

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET



Ksenija S. Mileski

“Fitohemijska analiza i biološka aktivnost *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer, *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. i *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)“

-Doktorska disertacija-

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY



Ksenija S. Mileski

“Phytochemical analysis and biological activity of
Ferulago macedonica Micevski et Mayer,
Echinophora sibthorpiana Guss., *Laserpitium*
ochridanum Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss.
and *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)“

-Doctoral dissertation-

Belgrade, 2017

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

dr Ana Džamić, vanredni profesor, mentor
Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

dr Petar Marin, redovni profesor, mentor
Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

dr Snežana Trifunović, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

dr Ana Ćirić, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu - Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

akademik Vlado Matevski, redovni profesor
Univerzitet „Sv. Kiril i Metodij“ - Prirodno-matematički fakultet

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Ovim putem želim da se zahvalim svim osobama koje su na bilo koji način pomogle u izradi ove doktorske disertacije. Pre svega, zahvaljujem se mentorima; prof. dr Ani Džamić, koja me je uvela u svet lekovitih i aromatičnih biljaka, pomogla u izboru teme, radu i realizaciji njenih ciljeva i prof. dr Petru Marinu na ukazanom poverenju da učestvujem na projektu, kao i na pomoći pri koncipiranju i izradi teme. Takođe, zahvaljujem dr Ani Ćirić na pomoći i savetima pri određivanju antimikrobne i anti-quorum sensing aktivnosti biljaka u okviru ovog rada. Veliko hvala dr Snežani Trifunović na stručnoj pomoći oko hemijskih analiza ekstrakata koje su doprinele kvalitetu ove disertacije. Iskrenu zahvalnost dugujem i kolegama sa Prirodno matematičkog fakulteta u Skoplju na pomoći pri sakupljanju biljnog materijala, a naročito akademiku prof. dr Vladi Matevskom na toploj dobrodošlici i pomoći oko determinacije biljaka. Zahvaljujem se dr Mihailu Ristiću bez koga analiza hemijskog sastava etarskih ulja u ovom radu ne bi bila moguća. Mr. Željani Šakić hvala na pomoći u eksperimentalnom radu i pisanju dela teze o hemijskom sastavu ekstrakata i Prof. dr Veletu Teševiću što mi je omogućio rad na Hemijskom fakultetu na Katedri za organsku hemiju. Hvala i kolegama sa Katedre za morfologiju i sistematiku biljaka, naročito prof. dr Sonji Duletić-Laušević, dr Slavici Grujić, Jasmini Gradojević, dr Ani Alimpić i Ivoni Veličković.

Zahvaljujem se Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije koje je finansiralo projekt br. 173029 u okviru kojeg je realizovana izrada ove disertacije. Deo istraživanja urađen je zahvaljujući projektima br. 172053 i 173021.

Posebno veliku zahvalnost dugujem svoj porodici i prijateljima za neizmernu podršku i nesebičnu pomoć i razumevanje tokom svih ovih godina.

Ksenija Mileski

Institucije u kojima je rađena doktorska disertacija:

- ▶ Katedra za morfolofiju i sistematiku biljaka, Institut za botaniku i Botanička bašta „Jevremovac“, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
- ▶ Mikološka laboratorija, Odeljenje za fiziologiju biljaka, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu
- ▶ Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Beograd
- ▶ Katedra za organsku hemiju, Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Fitohemijska analiza i biološka aktivnost *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer, *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. i *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)

REZIME

Osnovni cilj ove doktorske disertacije je karakterizacija hemijskog sastava etarskih ulja i ekstrakata retkih i endemičnih vrsta iz Republike Makedonije koje su delimično ili potpuno neistražene: *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer, *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. i *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae). Drugi deo ovog istraživanja odnosi se na utvrđivanje *in vitro* biološkog potencijala etarskih ulja, metanolnih, etanolnih i vodenih ekstrakata navedenih vrsta i to njihovog antioksidativnog, antimikrobnog i anti-quorum sensing dejstva. U ovom radu su prvi put predstavljeni rezultati hemijske analize etarskih ulja vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica* kao i metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena vrsta *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Do sada nije bilo ni literaturnih podataka o biološkim aktivnostima vrsta *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*. GC-FID i GC-MS analiza sastava etarskih ulja proučavanih vrsta pokazala je dominantno prisustvo monoterpenskih i seskviterpenskih ugljovodonika i njihovih oksidovanih formi. Ove analize su pokazale da su etarska ulja vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica* bogata α -pinenom (43,10%; 22,78%) i sabinenom (26,73%; 15,46%). Za etarsko ulje *E. sibthorpiana* karakteristično je prisustvo velike koncentracije metil eugenola (60,40%), *p*-cimena (11,18%) i α -felandrena (10,23%), a za etarsko ulje *L. ochridanum* veliki sadržaj sabinena (22,8%), viridiflorola (14,7%) i α -pinena (11,4%). U etarskom ulju *H. orphanidis* kao glavna jedinjenja identifikovani su *n*-oktanol (39,57%), *n*-oktil heksanoat (17,62%) i *n*-oktil acetat (14,12%), dok su bornil acetat (8,08%), *n*-oktanol (5,82%), kesan (4,26%) i β -selinen (4,25%) najzastupljenije komponente etarskog ulja *A. pancicii*. Rezultati tentativne analize sastava metanolnih ekstrakata odabranih vrsta, dobijenih pomoću HPLC-DAD/ESI-ToF-MS sistema, prvi put su predstavljeni i opisani u ovoj disertaciji. Identifikacija sekundarnih metabolita ekstrakata urađena je na osnovu molekulske formule dobijene korišćenjem Mass Hunter Workstation softvera za prikupljanje i

obradu podataka i na osnovu literaturnih podataka o hemijskom sastavu vrsta odgovarajućih rodova i predstavnika drugih rodova familije Apiaceae. U metanolnim ekstraktima *F. macedonica*, *E. sibthorpiana* i *L. ochridanum* identifikovan je mali broj komponenata ili identifikacija jedinjenja nije bila moguća zbog nedostatka literaturnih podataka. Preliminarnom analizom identifikovano je 18 jedinjenja u metanolnom ekstraktu nadzemnog dela *H. orphanidis* i 25 jedinjenja u korenu ove biljke, dok je u metanolnom ekstraktu nadzemnog dela *A. pancicii* identifikovano 52, a u korenu 53 metabolita. Kumarini su bili najzastupljenija klasa jedinjenja u analiziranim uzorcima. Iz korena vrste *A. pancicii* izolovano je 6 poznatih furanokumarina: *tert*-O-metil-oksipeucedanin hidrat, oksipeucedanin hidrat, oksipeucedanin, saksalin, ostrutol, izoimperatorin i prvi put je izolovan hormon acetilknidimol A.

Spektrofotometrijskim metodama najveći ukupan sadržaj fenola izmeren je u etanolnom ekstraktu nadzemnog dela *A. pancicii* (143,990 mg GA/g suvog ekstrakta), a flavonoida u etanolnom ekstraktu *L. ochridanum* (67,690 mg QE/g suvog ekstrakta). U ovom radu se pokazalo da je vršni deo *F. macedonica* bio bogatiji fenolnim jedinjenja od nadzemnog dela biljke, dok je kod ostalih vrsta koncentracija ovih metabolita bila veća u nadzemnom delu u odnosu na koren biljke. Etarska ulja i ekstrakti proučavanih vrsta su primenom tri različita antioksidativna testa pokazali doznno zavisnu sposobnost u neutralisanju slobodnih radikala. Najefikasniji u neutralizaciji slobodnih radikala u DPPH testu bili su ekstrakti vrste *L. ochridanum* (0,115-0,127 mg/mL), slično pokazanoj aktivnosti sintetičkih antioksidanasa BHA i BHT. Pregled rezultata dobijenih korišćenjem ABTS testa pokazao je da je etarsko ulje *E. sibthorpiana* ($c=0,1$ mg/mL) posedovalo najjaču antioksidativnu aktivnost (2,021 mg vit. C/g etarskog ulja), dok je od svih ispitivanih ekstrakata ($c=1$ mg/mL) najefikasniji bio vodeni ekstrakt nadzemnog dela *L. ochridanum* (2,172 mg vit. C/g suvog ekstrakta), slično dejstvu standarda kvercetin hidrata. Kao najefektivniji antioksidativni agens u β -karoten/linolna kiselina testu pokazao se metanolni ekstrakt nadzemnog dela *A. pancicii* ($IC_{50}=2,453$ mg/mL), dok je antioksidans BHA pokazao duplo jači efekat ($IC_{50}=1,216$ mg/mL). Metodom mikrodilucije određene su antimikrobne aktivnosti testiranih uzoraka protiv 16 vrsta patogenih mikroorganizama i determinisane su MIK, MBK/MFK koncentracije etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta. Testirani uzorci su ispoljili umerenu

antibakterijsku aktivnost u poređenju sa antibiotikom streptomycinom, a etarska ulja su imala jače dejstvo u odnosu na ekstrakte. Metanolni i etanolni ekstrakti korena *A. pancicii* i etarsko ulje *H. orphanidis* imali su jako inhibitorno dejstvo na rast bakterija, slično aktivnosti streptomicina. Najosetljivije bakterije u ovom radu bile su *B. cereus* i *S. aureus*, dok su najrezistentnije bile *M. flavus*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* i *E. coli*. Uporedni pregled rezultata antifungalne aktivnosti implicirao je slabo do umereno dejstvo testiranih ekstrakata i umerenu do jaku efikasnost etarskih ulja. Kao najjači antifungalni agensi izdvojili su se metanolni ekstrakti korena *H. orphanidis* i vršnog dela *F. macedonica* i etanolni ekstrakt korena *A. pancicii*, a među etarskim uljima je to bio uzorak ulja vrste *L. ochridanum*. Najsenzitivnije mikrogljive korišćene u ovom istraživanju bile su *P. ochrocloron*, *A. versicolor* i *T. viride*, a najotpornije *A. niger* i *A. ochraceus*. U okviru ovog istraživanja određena je i anti-quorum sensing aktivnost biljaka na odabrane virulentne faktore Gram negativne bakterije *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Pokazalo se da u prisustvu testiranih uzoraka dolazi do promena u izgledu kolonija i do promena u pojavi i dijametru flagela na površini ove bakterije. Najjači anti-quorum sensing uzorak u ovom radu bilo je etarsko ulje *E. sibthorpiana* u čijem prisustvu je došlo do slabije produkcije piocijanina, a s tim u vezi i promene boje kolonije od svetlo zelene u belu boju, kao i do smanjenja rasta kolonije (prečnika od 6,67 mm), bez prisustva flagela. Anti-biofilm aktivnost odabranih vrsta može se predstaviti u sledećem opadajućem nizu: *A. pancicii*, *H. orphanidis*, *L. ochridanum*, *E. sibthorpiana*, *F. macedonica*, a najefikasniji agens u ovom testu bio je etanolni ekstrakt korena *A. pancicii*. Testirani uzorci su bili najbolji u redukciji sinteze toksičnog pigmenta piocijanina, gde su se po efikasnosti izdvojili etarska ulja nadzemnog dela vrsta *F. macedonica* (5,22%) i *E. sibthorpiana* (10,69%). Opadajući efekat u inhibiciji sinteze ovog toksina predstavljen je za odabrane biljke sledećim nizom: *E. sibthorpiana*, *L. ochridanum*, *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*.

Dobijeni rezultati predstavljeni u ovoj doktorskoj disertaciji pružaju informaciju o hemijskom sastavu etarskih ulja pet proučavanih vrsta iz familije Apiaceae i daju prve podatke o hemijskom sastavu metanolnih ekstrakata vrsta *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Pokazalo se da su pojedini uzorci ispitivanih biljaka posedovali snažnu biološku aktivnost i

stoga se mogu smatrati potencijalnim prirodnim antioksidativnim, antimikrobnim i anti-quorum sensing agensima.

Ključne reči: Apiaceae, Makedonija, etarska ulja, ekstrakti, GC/FID/MS, HPLC, antioksidativna aktivnost, antimikrobna aktivnost, anti-quorum sensing aktivnost, *Pseudomonas aeruginosa*

Naučna oblast: Biologija.

Uža naučna oblast: Eksperimentalna i primenjena botanika.

UDK broj: 582.794.1:[581.135.5+[58:615.451.1]+615.28+615.279](497.7)(043.3)

Phytochemical analysis and biological activity of *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer, *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. and *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)

ABSTRACT

The main goal of this doctoral dissertation was chemical characterization of essential oils and methanolic extracts of rare and endemic unexplored or partially investigated species originating from Republic of Macedonia: *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer, *Echinophora sibthorpiana* Guss. *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. and *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae). Other part of this investigation was dedicated to determination of *in vitro* biological potential of essential oils, methanol, ethanol and aqueous extracts of selected species including antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing effects. To date, no published results are available on phytochemical investigation of essential oils of *F. macedonica* and *H. orphanidis* and methanolic extracts of *H. orphanidis* and *A. pancicii* aerial parts and roots. Additionally, there is no literature data about biological potential of *F. macedonica*, *H. orphanidis* and *A. pancicii* species. GC-FID and GC-MS analysis showed a dominant presence of monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons and their oxygenated forms in essential oils. This analysis showed that essential oils of *F. macedonica* apical and aerial parts were rich in α -pinene (43,10%; 22,78%) and sabinene (26,73%; 15,46%). *E. sibthorpiana* essential oil was characterised by dominant presence of methyl eugenol (60,40%), *p*-cymene (11,18%) and α -phellandrene (10,23%), while the most abundant compounds of *L. ochridanum* essential oil were sabinene (22,8%), viridiflorol (14,7%) and α -pinene (11,4%). As the main components of *H. orphanidis* essential oil were identified *n*-octanol (39,57%), *n*-octyl hexanoate (17,62%) and *n*-octyl acetate (14,12%), while bornyl acetate (8,08%), *n*-octanol (5,82%), kessane (4,26%) and β -selinene (4,25%) were present in the highest percentage in *A. pancicii* essential oil. The results of tentative analysis of methanol extracts of selected species, using HPLC-DAD/ESI-ToF-MS system, were described for the first time in this work. The identification of secondary metabolites of these samples was based on molecular formulas obtained by Mass Hunter Workstation

software and based on literature data on the composition of the respective genera and other species from Apiaceae family. In methanol extracts of *F. macedonica*, *E. sibthorpiana* and *L. ochridanum*, a small number of compounds were identified or the identification of the compounds was not possible due to lack of literature data. Preliminary analysis revealed total of 18 compounds in methanol extracts of *H. orphanidis* aerial parts and 25 compounds in the roots, while in methanol extract of *A. pancicii* aerial parts were identified 52 metabolites and 53 compound were identified in the roots. Coumarins were the main constituents in all analysed samples. In addition, six well-known furanocoumarins: *tert*-O-metil-oxypeucedanin hydrate, oxypeucedanin hydrate, oxypeucedanin, saxalin, ostruthol, isoimperatorin and one new chromone - acetilcnidimol A were isolated from *A. pancicii* roots.

Using spectrophotometric methods, the highest total phenolic content was measured in ethanol extract of *A. pancicii* aerial parts (GA 143,990 mg/g of dry extract), while the highest flavonoid content was detected in ethanol extract of *L. ochridanum* (67,690 mg QE/g of dry extract). It was shown that apical parts of *F. macedonica* had higher amounts of phenolic compounds than aerial part of the plant, while the concentrations of these metabolites were higher in aboveground parts than in roots of other species. The results of antioxidant activity, obtained by three different tests, suggested essential oils and extracts of investigated species neutralized free radicals in a dose-dependent manner in all applied assays. In DPPH test, the lowest IC₅₀ concentrations were observed for extracts of *L. ochridanum* (0,115-0,127 mg/mL) similar to the activity of antioxidants BHA and BHT. According to results obtained in ABTS assay, *E. sibthorpiana* essential oil (*c*=0,1 mg/mL) possessed the strongest antioxidant activity (2,021 mg Vit. C/mL of essential oil), while the strongest extract (*c*=1 mg/mL) was *L. ochridanum* aqueous extract of aerial parts (2,172 mg vit. C/g of dry extract), which activity was slightly lower in comparison to standard quercetin hydrate. *A. pancicii* ethanol extract of aerial parts (IC₅₀=2,453 mg/mL) revealed to be the most potent agent in β/carotene/linoleic acid assay, while antioxidant BHA had twice stronger effectiveness (IC₅₀=1,216 mg/mL). Determination of antimicrobial activity of tested samples against 16 pathogenic microorganisms was performed using micro-well dilution method and MIC/MBC/MFC values of essential oils and extracts were obtained. It was observed that tested samples exhibited moderate antibacterial activity compared to antibiotic streptomycin and that

essential oils had stronger inhibitory effects on bacterial growth than the extracts. Methanol and ethanol extracts of *A. panicii* roots and essential oil of *H. orphanidis* expressed high antimicrobial potential, similar to the activity of streptomycin. The most sensitive bacteria in this study were *B. cereus* and *S. aureus*, while *M. flavus*, *L. monocytigenes*, *P. aeruginosa* and *E. coli* were the most resistant strains. Obtained results for antifungal activity indicated weak to moderate activity of tested extracts and moderate to strong efficiency of essential oils. The methanol extracts of *H. orphanidis* roots, apical parts of *F. macedonica* and ethanol extract of *A. panicii* roots were the strongest antifungal agents in this work. *L. ochridanum* essential oil showed the strongest antifungal potency among tested essential oils. The most sensitive microfungi used in this investigation were *P. ochrocloron*, *A. versicolor* and *T. viride*, while *A. niger* and *A. ochraceus* were the most resistant strains. Determination of anti-quorum sensing activity of investigated plants was conducted against selected virulent factors of Gram negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. It was shown that in the presence of tested samples, the appearance of the colonies, twitching motility and diameter of flagella of these bacterium were modified. The strongest anti-quorum sensing sample was essential oil of *E. sibthorpiana* which reduced pyocyanin synthesis, the growth of the colony which coloration went from light green to white and no flagella were noticed. A significant difference of anti-biofilm activity of selected species was noted in the following order: *A. panicii*, *H. orphanidis*, *L. ochridanum*, *E. sibthorpiana*, *F. macedonica*, while the most effective in reduction of biofilm synthesis was ethanol extract of *A. panicii* roots. The samples were the most effective in reduction of pyocyanin synthesis where *F. macedonica* (5,22%) and *E. sibthorpiana* (10,69%) essential oils of aerial parts most efficiently reduced this toxic pigment's production. The effects of selected species in inhibition of pyocyanin synthesis decreased in the following order: *E. sibthorpiana*, *L. ochridanum*, *F. macedonica*, *H. orphanidis* and *A. panicii*.

Obtained results in this doctoral dissertation give an information about the chemical composition of essential oils of five selected species from family Apiaceae and provide first data on the composition of *H. orphanidis* and *A. panicii* methanol extracts. It was shown that some tested samples possessed strong biological activity and could be considered as potential natural antioxidant, antimicrobial and anti-QS agents.

Keywords: Apiaceae, Republic of Macedonia, essential oils, extracts, GC/FID/MS, HPLC, antioxidant activity, antimicrobial activity, anti-quorum sensing activity, *Pseudomonas aeruginosa*

Scientific field: Biology

Specific scientific field: Experimental and Applied Botany

UDK:582.794.1:[581.135.5+[58:615.451.1]+615.28+615.279](497.7)(043.3)

Sadržaj:

1. UVOD	1
1.1. Upotreba lekovitih i aromatičnih biljaka	1
1.2. Klasifikacija i opšte karakteristike vrsta porodice Apiaceae	2
1.3. Komercijalni predstavnici porodice Apiaceae i njihova primena	4
1.4. Sekundarni metaboliti vrsta porodice Apiaceae	5
1.4.1. Etarska ulja	6
1.4.1.1. Opšte karakteristike	6
1.4.1.2. Etarska ulja vrsta porodice Apiaceae	6
1.4.2. Fenolna jedinjenja	7
1.4.2.1. Opšte karakteristike	7
1.4.2.2. Fenolna jedinjenja vrsta porodice Apiaceae	8
1.4.3. Kumarini	9
1.4.4. Hromoni	12
1.4.5. Seskviterpenske laktoni	12
1.4.6. Ftalidi	14
1.4.7. Poliacetileni	15
1.4.8. Ostali sekundarni metaboliti	16
1.5. Antioksidativna aktivnost	17
1.5.1. Slobodni radikali	17
1.5.2. Antioksidansi	18
1.5.3. Antioksidativna aktivnost vrsta porodice Apiaceae	19
1.6. Antimikrobna aktivnost	22
1.6.1. Opšte karakteristike testiranih mikroorganizama	22
1.6.1.1. Opšte karakteristike bakterija	22
1.6.1.1.1. Opis testiranih bakterija	24
1.6.1.2. Opšte karakteristike gljiva	29
1.6.1.2.1. Opis testiranih gljiva	30
1.6.2. Antimikrobna aktivnost vrsta porodice Apiaceae	37
1.7. Anti-quorum sensing aktivnost	39

1.7.1. Quorum sensing mehanizam međućelijske komunikacije.....	39
1.7.2. Formiranje biofilma.....	42
1.7.3. Produkcija piocijanina.....	44
1.7.4. Anti-QS agensi.....	44
1.7.5. Anti-QS aktivnost vrsta familije Apiaceae.....	46
1.8. Opšte karakteristike odabranih vrsta familije Apiaceae.....	47
1.8.1. <i>Ferulago macedonica</i> Micevski et Mayer.....	47
1.8.2. <i>Echinophora sibthorpiana</i> L.	49
1.8.3. <i>Laserpitium ochridanum</i> Micevski.....	51
1.8.4. <i>Heracleum orphanidis</i> Boiss.	53
1.8.5. <i>Angelica pancicii</i> Vandas ex Velen.	55
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	58
3. MATERIJAL I METODE.....	59
3.1. Materijal.....	59
3.1.1. Biljni materijal.....	59
3.1.2. Hemikalije i reagensi.....	60
3.1.3. Hranljive podloge.....	61
3.1.4. Izolati testiranih mikrobioloških kultura.....	61
3.2. Metode.....	62
3.2.1. Izolovanje etarskih ulja odabranih vrsta.....	62
3.2.2. Priprema biljnih ekstrakata odabranih vrsta.....	63
3.2.2.1. <i>Ultrazvučna ekstrakcija biljnog materijala.....</i>	<i>63</i>
3.2.2.2. <i>Soxlet ekstrakcija korena Angelica pancicii.....</i>	<i>64</i>
3.2.3. Hemijska analiza etarskih ulja i metanolnih ekstrakata odabranih vrsta.....	65
3.2.3.1. <i>Analiza etarskih ulja gasnom hromatografijom (GC) sa plameno-</i> <i>jonizujućim detektorom (FID) i gasnom hromatografijom sa</i> <i>spektrometrijom masa (MS).....</i>	<i>65</i>
3.2.3.2. <i>Analiza metanolnih ekstrakata tečnom hromatografijom sa</i> <i>spektrometrijom masa (LC-DAD/ESI-TOF-MS).....</i>	<i>65</i>
3.2.3.3. <i>Hromatografsko razdvajanje ekstrakata i izolovanje jedinjenja iz</i> <i>korena Angelica pancicii.....</i>	<i>66</i>

3.2.3.3.1. Razdvajanje metanolnog ekstrakta.....	67
3.2.3.3.2. Razdvajanje ekstrakta dobijenog Soxhlet ekstrakcijom.....	70
3.2.3.4. <i>Spektroskopski podaci izolovanih jedinjenja</i>	71
3.2.4. Određivanje bioloških aktivnosti odabranih vrsta.....	72
3.2.4.1. <i>Određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja</i>	73
3.2.4.2. <i>Određivanje antioksidativne aktivnosti</i>	74
3.2.4.3. <i>Određivanje antimikrobne aktivnosti</i>	76
3.2.4.3.1. Priprema mikrobioloških kultura.....	76
3.2.4.3.2. Priprema početnih rastvora suvih ekstrakata.....	77
3.2.4.3.3. Metoda mikrodilucije.....	77
3.2.4.4. <i>Određivanje anti-QS aktivnosti</i>	79
3.2.4.4.1. Uslovi gajenja bakterijske kulture <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	79
3.2.4.4.2. Formiranje biofilma.....	79
3.2.4.4.3. Testovi pokretljivosti bakterija (Twitching i flagella test).....	80
3.2.4.4.4. Produkcija piocijanina.....	80
3.2.5. Statistička analiza.....	80
4. REZULTATI I DISKUSIJA	81
4.1. Analiza hemijskog sastava etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta	81
4.1.1. Uporedna analiza hemijskog sastava etarskih ulja.....	81
4.1.2. Uporedna diskusija rezultata hemijskog sastava etarskih ulja.....	90
4.1.3. Uporedna analiza i diskusija rezultata hemijskog sastava metanolnih ekstrakata.....	97
4.1.4. Izolovanje i određivanje strukture jedinjenja iz korena <i>A. panicii</i>	105
4.1.4.1. <i>Određivanje strukture acetilknidimola A - 5,7-dihidroksi-6-(2'-Z- butenil-5'-acetoksi)-2-metilhromona</i>	106
4.1.4.2. <i>Određivanje strukture izolovanog oksipeucedanina</i>	109

4.2. Rezultati i diskusija biološke aktivnosti analiziranih vrsta.....	111
4.2.1. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost uzoraka.....	111
4.2.1.1. Uporedna analiza rezultata ukupnog sadržaja fenola.....	111
4.2.1.2. Uporedna analiza rezultata ukupnog sadržaja flavonoida.....	113
4.2.1.3. Uporedna analiza rezultata antioksidativne aktivnosti odabranih vrsta.....	115
4.2.1.3.1. Uporedna analiza rezultata DPPH testa.....	115
4.2.1.3.2. Uporedna analiza rezultata ABTS testa.....	117
4.2.1.3.3. Uporedna analiza rezultata β-karoten/linolna kiselina testa.....	119
4.2.1.4. Uporedna diskusija rezultata ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti.....	122
4.2.2. Antimikrobna aktivnost ekstrakata i etarskih ulja.....	126
4.2.2.1. Uporedna analiza rezultata antibakterijske aktivnosti.....	126
4.2.2.2. Uporedna analiza rezultata antifungalne aktivnosti.....	135
4.2.2.3. Uporedna diskusija rezultata antimikrobne aktivnosti.....	143
4.2.3. Anti-QS aktivnost ekstrakata i etarskih ulja.....	149
4.2.3.1. Uporedna analiza rezultata inhibicije kretanja ćelija <i>P. aeruginosa</i>.....	149
4.2.3.2. Uporedna analiza rezultata formiranja biofilma <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	160
4.2.3.3. Uporedna analiza rezultata sinteze piocijanina <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	164
4.2.3.4. Uporedna diskusija rezultata anti-QS aktivnosti.....	170
5. ZAKLJUČCI.....	174
6. LITERATURA.....	178
7. PRILOG.....	225

Lista skraćenica:

ABTS - 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)

ACN - Acetonitril

AHL - N-acil-homoserinski lakton

APK-BU - Butanolna frakcija korena *Angelica pancicii*

APK-EA - Etil-acetatna frakcija korena *Angelica pancicii*

APK-MC - Metilen-hloridna frakcija korena *Angelica pancicii*

APK-V - Vodena frakcija korena *Angelica pancicii*

As - Apsorbancija slepe probe

ATCC - *eng. American Type Culture Collection*

ATP - Adenozin tri fosfat

Au - Apsorbancija uzorka

BHA - 3-Tert-butil-4-hidroksianizol

BHT - 3,5-Di-tert-butil-4-hidroksitoluen

CDCl₃ - Deuterisani hloroform

CH₂Cl₂ - Dihlormetan

CH₂Cl₂-MeOH - Dihlormetan - metanol

COSY - *eng. Correlation Spectroscopy*

CzA - Czapek Dox Agar

DAD - Višekanalni detektor (*eng. Diode Array Detector*)

DCM - Dihlorometan (metilenhlorid)

DDT - Dihloro-difenil-trihloroetan

DEPT - *eng. Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer*

DMSO - Dimetil sulfoksid

DPPH - 2,2-difenil, 1-pikril hidrazil

EE – Etanolni ekstrakt

Ei - Ekstrakti

ESI- Elektrosprej jonizacija (*eng. electrospray ionization*)

Et₂O - Dietil etar

Et₂O-CH₂Cl₂ - Dietil etar - dihlormetan

EU – Etarsko ulje

FID - Plameno jonizujući detektor (*eng.* Flame Ionisation Detector)

FK - Furanokumarin

FRAP - *eng.* Ferric Ion Reducing Antioxidant Power

GAE - Ekvivalent galne kiseline (*eng.* Gallic Acid Equivalent)

GC - Gasna hromatografija (*eng.* Gas Chromatography)

GC-MS - Gasna hromatografija sa spektrometrijom masa

GRAS - *eng.* Generally Recognized As Safe

H - Hromon

HMBC – *eng.* Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HPLC - Tečna hromatografija visokih performansi (*eng.* High Performance Liquid Chromatography)

HS-GC-MS – *eng.* Headspace Gas Chromatography Mass Spectrometry

HSQC - *eng.* Heteronuclear Single Quantum Correlation

IAM - IAM Culture Collection, Japan

IC₅₀ - Koncentracija koja dovodi do smanjenje apsorbcije za 50%

INT - *p*-Jodonitrotetrazolijum (2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-fenil tetrazolijum hlorid (*p*-jodonitrotetrazolijum violet boja)

IR - *eng.* Infrared

KIE - Eksperimentalno određen Kovačev (retencioni) indeks

KIL - Literaturni Kovačev (retencioni) indeks

LB - Luria-Bertani podloga

LC - Tečna hromatografija (*eng.* Liquid Chromatography)

MA - Malt Agar

MBK - Minimalna baktericidna koncentracija

ME – Metanolni ekstrakt

MeOH - Metanol

MFK - Minimalna fungicidna koncentracija

MH - Müller-Hinton agar

MIK - Minimalna inhibitorna koncentracija

MS - Masena spektrometrija

MSD - Maseno-spektrometrijski detektor

n.i. - Nije identifikovano

NMR - *eng.* Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy

NOESY - Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

p. o. - *lat. pro analysis*

PG - Propilgalat

pH- Aktivnost vodonikovih jona

QE - Ekvivalent kvercetin hidrata (*eng.* Quercetin hydrate Equivalent)

QS - *eng.* Quorum Sensing

r - Pirsonov koeficijent korelacije

RNS - Reaktivne azotne vrste (*eng.* Reaktive Nitrogen Species)

ROS - Reaktivne kiseonične vrste (*eng.* Reaktive Oxygen Species)

SD - Standardna devijacija

SDA - *eng.* Sabouraud Dextrose Agar

SE - Suvi ekstrakt

SEM - Skening elektronska mikroskopija

SPME – *eng.* Solid-phase microextraction

SV – Srednja vrednost

subMIK - Sub-inhibitorne koncentracije

TBHQ - *terc*-butilhidrohinon

TLC - Hromatografija na tankom sloju (*eng.* Thin Layer Chromatography)

ToF - *eng.* Time-of-Flight

t-OMe - *tert*-O-Metil

t_R - Retenciono vreme

TSB - *eng.* Tryptic Soy Broth podloga

UV - Ultraljubičasto svetlo (*eng.* ultraviolet)

VE - Vodeni ekstrakt

Lista tabela:

Tabela 1. Najčešći slobodni radikali.....	18
Tabela 2. Lokaliteti, vreme sakupljanja i vaučerski brojevi biljnog materijala.....	59
Tabela 3. Prinos etarkih ulja ispitivanih vrsta (%).....	62
Tabela 4. Ukupan prinos čvrstih ekstrakata ispitivanih vrsta (g).....	64
Tabela 5. Mase dobijenih frakcija uzorka 1 korena <i>A. pancicii</i> (mg).....	67
Tabela 6. Tok dry-column flash hromatografije.....	68
Tabela 7. HPLC metoda za razdvajanje frakcija uzorka <i>A. pancicii</i>	69
Tabela 8. Tok HPLC razdvajanja DCM ekstrakta <i>A. pancicii</i>	70
Tabela 9. Hemijski sastav etarskog ulja vršnog i nadzemnog dela <i>F. macedonica</i>	82
Tabela 10. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela <i>E. sibthorpiana</i>	83
Tabela 11. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela <i>L. ochridanum</i>	85
Tabela 12. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela <i>H. orphanidis</i>	86
Tabela 13. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela <i>A. pancicii</i>	88
Tabela 14. LC/MS analiza hemijskog sastava ME nadzemnog dela <i>H. orphanidis</i>	98
Tabela 15. LC-MS analiza hemijskog sastava ME korena <i>H. orphanidis</i>	99
Tabela 16. LC-MS analiza hemijskog sastava ME nadzemnog dela <i>A. pancicii</i>	102
Table 17. LC-MS analiza hemijskog sastava ME korena <i>A. pancicii</i>	104
Tabela 18. ¹ H (500 MHz, CDCl ₃ +par kapi MeOH) i ¹³ C NMR (125 MHz) podaci za acetilknidimol A.....	109
Tabela 19. ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) i ¹³ C NMR (125 MHz) podaci za oksipeucedanin.....	110
Tabela 20. Rezultati izmerenih ukupnih sadržaja fenola i flavonoida ekstrakata (mg/mL).....	114
Tabela 21. Rezultati DPPH, ABTS i β-karoten/linolna kiselina testa.....	121
Tabela 22. Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskih ulja <i>F. macedonica</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	130
Tabela 23. Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskog ulja <i>E. sibthorpiana</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	131
Tabela 24. Antibakterijska aktivnost ekstrakata <i>L. ochridanum</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	132

Tabela 25. Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskih ulja <i>H. orphanidis</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	133
Tabela 26. Antibakterijska aktivnost ekstrakata <i>A. pancicii</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	134
Tabela 27. Antifungalna aktivnost ekstrakata i etarskih ulja <i>F. macedonica</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	138
Tabela 28. Antifungalna aktivnost ekstrakata i etarskog ulja <i>E. sibthorpiana</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	139
Tabela 29. Antifungalna aktivnost ekstrakata i etarskog ulja <i>L. ochridanum</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	140
Tabela 30. Antifungalna aktivnost ekstrakata <i>H. orphanidis</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	141
Tabela 31. Antifungalna aktivnost ekstrakata <i>A. pancicii</i> određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).....	142
Tabela 32. Efekat ekstrakata i etarskog ulja <i>F. macedonica</i> na proces pokretljivosti kod <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	152
Tabela 33. Efekat ekstrakata i etarskog ulja <i>E. sibthorpiatum</i> na proces pokretljivosti kod <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	153
Tabela 34. Efekat ekstrakata <i>L. ochridanum</i> na proces pokretljivosti kod <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	153
Tabela 35. Efekat ekstrakata i etarskog ulja <i>H. orphanidis</i> na proces pokretljivosti kod <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	154
Tabela 36. Efekat ekstrakata <i>A. pancicii</i> na proces pokretljivosti kod <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	154
Tabela 37. Efekat ekstrakata i etarskog ulja <i>F. macedonica</i> na proces formiranja biofilma <i>P. aeruginosa</i> PAO1 (%).....	162
Tabela 38. Efekat ekstrakata i etarskog ulja <i>E. sibthorpiana</i> na proces formiranja biofilma <i>P. aeruginosa</i> PAO1 (%).....	163
Tabela 39. Efekat ekstrakata <i>L. ochridanum</i> na proces formiranja biofilma <i>P. aeruginosa</i> PAO1 (%).....	163

Tabela 40. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *H. orphanidis* na proces formiranja biofilma *P. aeruginosa* PAO1 (%).....164

Tabela 41. Efekat ekstrakata *A. pancicii* na proces formiranja biofilma *P. aeruginosa* PAO1 (%).....164

Lista slika:

Slika 1. Flavonoidi: (a) kvercetin; (b) kemferol.....	9
Slika 2. Flavoni: (a) apigenin; (b) luteolin.....	9
Slika 3. Furanokumarini: (a) bergapten; (b) ksantotoksin.....	11
Slika 4. Furanohromoni: (a) visnagin; (b) kelin.....	12
Slika 5. Osnovni tipovi skeleta seskviterpenskih laktona: (a) germakranolid; (b) gvajanolid; (c) eudeznanolid; (d) elemanolid.....	14
Slika 6. Ftalidi: (a) <i>cis</i> -butiliden ftalid; (b) <i>cis</i> -ligustilid.....	15
Slika 7. Poliacetileni: (a) falkarinol; (b) falkarindiol.....	16
Slika 8. <i>Bacillus cereus</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	24
Slika 9. <i>Listeria monocytogenes</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	25
Slika 10. <i>Staphylococcus aureus</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	26
Slika 11. <i>Micrococcus luteus</i> : (a) Izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) Bakterijske ćelije pod mikroskopom.....	26
Slika 12: <i>Escherichia coli</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	27
Slika 13. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	28
Slika 14. <i>Salmonella typhimurium</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi, (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	28
Slika 15. <i>Enterobacter cloacae</i> : (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi; (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom.....	29
Slika 16. <i>Aspergillus niger</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijuskog aparata.....	31
Slika 17. <i>Aspergillus versicolor</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijuskog aparata.....	32

Slika 18. <i>Aspergillus ochraceus</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijskog aparata.....	33
Slika 19. <i>Aspergillus fumigatus</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijskog aparata.....	33
Slika 20. <i>Penicillium ochrochloron</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijskog aparata.....	34
Slika 21. <i>Penicillium funiculosum</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijskog aparata.....	35
Slika 22. <i>Trichoderma viride</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijskog aparata.....	35
Slika 23. <i>Candida albicans</i> : (a) izgled kolonije na hranljivoj podlozi; (b) izgled konidijskog aparata.....	36
Slika 24. Međućelijska quorum sensing komunikacija kod <i>P. aeruginosa</i> : ključ aktivacije quorum sensing mehanizma je akumulacija sintetisanih autoinduktora u zatvorenom okruženju kao što je biofilm.....	40
Slika 25. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - skening elektronska (SK) mikrografija.....	41
Slika 26. (a) <i>Ferulago macedonica</i> Micevski & Mayer; (b) stanište vrste gde je sakupljen materijal - okolina grada Negotino.....	47
Slika 27. (a) <i>Echinophora sibthorpiana</i> (Guss.) Tutin; (b) lokalitet na kome je sakupljen materijal <i>E. sibthorpiana</i> - okolina grada Veles.....	50
Slika 28. (a) <i>Laserpitium ochridanum</i> Micevski; (b) prirodno stanište vrste <i>L. ochridanum</i> - nacionalni park pl. Galičica.....	52
Slika 29. (a) <i>Heracleum orphanidis</i> Boiss; (b) prirodno stanište vrste <i>H. orphanidis</i> odakle je sakupljen materijal - nacionalni park pl. Pelister.....	54
Slika 30. (a) <i>Angelica pancicii</i> Vandas ex Velen list; (b) koren; (c) prirodno stanište vrste <i>A. pancicii</i> odakle je sakupljen materijal - nacionalni park pl. Pelister.....	56
Slika 31. Egarsko ulje nadzemnog dela biljke: (a) <i>Angelica pancicii</i> Vandas; (b) <i>Laserpitium ochridanum</i> Micevski.....	63
Slika 32. Određivanje ukupnog sadržaja fenola ekstraktata nadzemnog dela <i>F. macedonica</i>	73

Slika 33. Određivanje antioksidativne aktivnosti: (a) <i>E. sibthorpiana</i> ekstrakata DPPH metodom; (b) <i>H. orphanidis</i> ekstrakata β -karoten/linolna kiselina testom.....	76
Slika 34. Određivanje: (a) antibakterijske aktivnosti etanolnih ekstrakata (b) antifungalne aktivnosti metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena <i>A. pancicii</i> metodom mikrodilucije.....	78
Slika 35. Izolovani furanokumarini (FK1-6) i novi hormon (H) iz ekstrakata korena <i>A. pancicii</i>	106
Slika 36. HMBC korelacije acetilknidimola A.....	108
Slika 37. NOESY korelacije acetilknidimola A.....	108
Slika 38. Ivice kolonija bakterije <i>P. aeruginosa</i> koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata i etarskog ulja <i>F. macedonica</i>	155
Slika 39. Ivice kolonija bakterije <i>P. aeruginosa</i> koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata i etarskog ulja <i>E. sibthorpiana</i>	156
Slika 40. Ivice kolonija bakterije <i>P. aeruginosa</i> koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata <i>L. ochridanum</i>	157
Slika 41. Ivice kolonija <i>P. aeruginosa</i> koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata i etarskog ulja <i>H. orphanidis</i>	158
Slika 42. Ivice kolonija bakterije <i>P. aeruginosa</i> koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata <i>A. pancicii</i>	159
Slika 43. Redukcija produkcije piocijanina <i>P. aeruginosa</i> PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka <i>F. macedonica</i> i antibiotika	167
Slika 44. Produkcija piocijanina <i>P. aeruginosa</i> PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka <i>E. sibthorpiana</i> i antibiotika	168
Slika 45. Produkcija piocijanina <i>P. aeruginosa</i> PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka <i>L. ochridanum</i> i antibiotika	168
Slika 46. Produkcija piocijanina <i>P. aeruginosa</i> PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka <i>H. orphanidis</i> i antibiotika	169
Slika 47. Produkcija piocijanina <i>P. aeruginosa</i> PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka <i>A. pancicii</i> i antibiotika.....	169

1. UVOD

1.1. Upotreba lekovitih i aromatičnih biljaka

Veština upotrebe biljaka i prirodnih proizvoda u lečenju datira još iz daleke prošlosti i razvila se kod svih naroda i kultura širom sveta. Smatra se da su počeci upotrebe lekovitih biljaka bili instinktivni. Tragajući za hranom u borbi za opstanak, probajući razne biljke na koje je nailazio, čovek je kroz vekove sticao dragoceno iskustvo koje i danas mnogo vredi. Cvetnice sa preko 300.000 opisanih vrsta, predstavljaju nepresušan izvor jedinjenja sa potencijalno lekovitim svojstvima. Mnoge biljke koje se danas koriste kao važne lekovite sirovine, dugo su se uspešno koristile u narodnoj medicini. Većina aktivnih jedinjenja biljnog porekla su sekundarni metaboliti koji se produkuju u biljkama najverovatnije kao rezultat uzajamne interakcije sa drugim biljkama, mikroorganizmima i životinjama (Reichling, 2010). Ogroman broj sekundarnih metabolita našao je primenu u farmaceutskoj industriji i savremenoj medicini zbog toga što je dokazano da ispoljavaju jaku farmakološku aktivnost. Naučnici imaju različita mišljenja o aplikativnoj vrednosti tradicionalne fitomedicine, međutim, neosporno je da se biljke i njihovi proizvodi mogu koristiti kao preventivno i dopunsko sredstvo u lečenju mnogobrojnih oboljenja zbog posedovanja velikog biološkog i farmakološkog potencijala. Takođe, pri upotrebi lekovitih biljaka neželjeni efekti se mnogo ređe javljaju (Della Logia, 2000). U današnje vreme od velike važnosti u medicini su sintetička jedinjenja i lekovi, ali pri njihovoj upotrebi često dolazi do pojave nusfekata zato što nije dovoljno vremena posvećeno otkrivanju dugoročnih mehanizama akcije ovih kompleksnih supstanci. Pored toga, prednost biljaka i njihovih jedinjenja je u tome što poseduju veći farmakološki kompleks i mogu uticati na više različitih oboljenja, dok su sintetički lekovi dizajnirani da inhibiraju ili stimulišu jedan od puteva farmakoloških efekata. Početkom XX-og veka došlo je do povećanja interesovanja i ponovnog izučavanja tradicionalne medicine, otkrića novih, potencijalno korisnih vrsta i izolovanja njihovih aktivnih jedinjenja. Primena etarskih ulja poznata je već hiljadama godina. Njihova upotreba u tradicionalnoj medicini zadržala se sve do danas (Marinković, 2000). Etarska ulja i ekstrakti lekovitih i jestivih biljaka sadrže klase veoma potentnih, prirodnih jedinjenja koja se koriste u kozmetičkoj, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. U okviru familije Apiaceae, vršena su mnoga ispitivanja kako hemijskog sastava, tako i biološke aktivnosti različitih ekstrakata. Zahvaljujući bogatom

hemijskom sastavu, biljni ekstrakti su pokazali brojne aktivnosti (Wang i sar., 2012). Za sada je iz viših biljaka izolovano više od 100000 biološki aktivnih supstanci (Graland, 2004; Evergetis i sar., 2009; Tucakov, 1986).

Veliki je broj familija koje obuhvataju vrste aromatičnih karakteristika: Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Cupressaceae, Pinaceae, Chenopodiaceae, Gentianaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Piperaceae, Rutaceae, Verbenaceae, Zingiberaceae i druge (Lahlou, 2004). Kosmopolitski rasprostranjene vrste familije Apiaceae često su bile predmet istraživanja naučnika. Biljke ove familije, kako samonikle tako i kultivisane, od davnina imaju svoje mesto u čovekovoj ishrani i tradicionalnoj medicini. Mnogi aromatični prestavnici ove familije proizvode veliki broj sekundarnih metabolita koji poseduju raznovrsne biološke funkcije i kao takvi, interesantni su za proučavanje farmakološkog potencijala i moguću terapijsku primenu. Dok su brojne vrste iz ove familije fitohemijski i farmakološki okarakterisane i imaju primenu u oficijalnoj medicini, o mnogim predstavnicima nema podataka ili su oni veoma oskudni (Orčić, 2010). Samonikle vrste čine bogat izvor za otkrivanje biološki aktivnih jedinjenja koja mogu poslužiti kao potencijalni modeli za sintezu novih lekovitih sredstava. U poslednje vreme, pored istraživanja retkih, endemičnih i neispitanih biljaka, intenzivan je i rad na proveru efikasnosti nekih biljnih lekova koji se već koriste u lečenju infektivnih oboljenja. Iako ova istraživanja pružaju vrlo važne podatke, najveći broj naučnih radova odnosi se na *in vitro* ispitivanja, što je daleko od zvanične potvrde njihove terapijske efikasnosti (Kovačević i Kundaković, 2007). Postoji potreba za intenzivnijim *in vivo* studijama o mehanizmima farmakodinamičkog delovanja biljaka, njihovih jedinjenja i fitoproduktiva koja bi potkrepila opravdanost njihove primene.

1.2. Klasifikacija i opšte karakteristike vrsta familije Apiaceae

Familija Apiaceae Lindl. 1836 (Umbelliferae Juss. 1789) obuhvata oko 300 rodova i 3.000-3.500 vrsta. Duga taksonomska istorija ove familije datira još iz XVI veka kada ju je Cesalpini izdvojio kao prirodnu celinu. To su uglavnom aromatične biljke kosmopolitske distribucije, pretežno rasprostranjene u severnoj, umerenoj zoni planete, sa centrom diverziteta u Mediteranskom i Iransko-turanskom regionu. Flora Balkanskog poluostrva obuhvata 82 roda. U Republici Srbiji, familija Apiaceae je zastupljena sa 53 roda, dok se u R. Makedoniji nalazi 68 rodova ove familije (Josifović, 1973; Micevski, 2005; Tatić i Blečić, 2002).

Apiaceae je familija angiospermi poznata po karakterističnoj građi cvasti i plodova, mnogim sekundarnim metabolitima, pogotovo etarskim uljima. Predstavnici ove familije su jednogodišnje, dvogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, u retkim slučajevima polužbunovi. Stablo je šuple, prečnika do 5 cm, a zbog jače razvijenog kolenhima dostižu visinu i do 3 m. Listovi naizmenično, ređe naspramno raspoređeni, obično krupni, naročito prizemni, celi ili usečeni, jednom ili više puta perasto deljeni, nekada končasti; u osnovi lisne drške je lisni rukavac koji obuhvata stabljiku (Josifović, 1973). Listovi aromatični ili fetidni (tačkasto raspoređene žlezdane trihome) sa sekretornim šupljinama koje sadrže etarsko ulje, smolu ili mucin ili ređe su bez mirisa. Cvetovi su sitni, dvopolni, retko jednopolni, uglavnom aktinomorfni, ponekad zigomorfni po obodu štita, grupisani u proste glavice i mnogo češće u složene štitove gde se grane prvog reda završavaju prostim štitovima. Cvasti mogu imati razvijene priperke ispod glavnog štita - involukrum i ispod štitića - involucelum. Cvetovi se sastoje se od 5 čašičnih, 5 kruničnih listića, 5 prašnika i 2 oplodna listića (*K₅C₅A₅G₂). Čašica najčešće slabo razvijena, krunični listići slobodni, po obodu dvorežnjeviti ili usečeni, ređe celi, vrlo često su vrhovi kruničnih listića prema unutrašnjosti povijeni, bele, žute ili crvene boje. Kod zigomorfnih cvetova krunični listići orijentisani ka spoljašnjoj strani cvasti su veći. Prašnici slobodni, tučak sa dvookim, retko jednookim, podcvetnim plodnikom i po jednim semenim zametkom u svakom okcu. Na plodniku se često nalaze nektarije u obliku mesnatog jastučića (*discus*) ili manje-više istaknutog proširenja (*stylopodium*), iz kojih se izdižu dva stubića, često sa lepljivim žigovima (Josifović, 1973). Plod je šizokarpijum i kada je zreo raspada se u dva jednosemena merikarpijuma, koji su izvesno vreme vezani za karpofor. Plodovi su sa unutrašnje, ventralne strane uglavnom pljosnati, a sa suprotne, dorzalne strane ispupčeni. Na svakom plodu nalazi se obično 5 glavnih uzdužnih rebara (*juga primaria*) sa provodnim snopićima, 3 leđna i 2 bočna, kao i sporedna rebra (*juga secundaria*). Seme je veoma različitog oblika i građe i često prirasta za zid plodnika (Josifović, 1973). Karakterističan miris ovih biljaka potiče od isparljivih jedinjenja etraskih ulja koji se nalaze u sekretornim šupljinama - uljanim kanalima svih organa, pogotovo ploda šizokarpijuma.

Familija Apiaceae obuhvata tri podfamilije (prema: Pimenov i Leonov, 1993):

1. Hydrocotiloideae
2. Saniculoideae
3. Apioideae

Pimenov i Leonov (1993) objavili su noviju klasifikaciju u kojoj podfamilija Hydrocotiloideae ima 42 roda sa oko 470-490 vrsta, podfamilija Saniculoideae 9 rodova i 300-325 vrsta, dok Apioideae obuhvata više od 400 rodova i 3.000 vrsta. Predstavnici podfamilije Apioideae ekonomski su najznačajniji i od druge dve grupe razlikuju po posedovanju složenih štitova, dobro razvijenih rebara (sekretornih kanala) i slobodnih karpofora (Downie i sar., 1998). Podela je okvirna jer je teško razdvojiti vrste, pa čak i rodove. Apiaceae su veoma srodne familiji Araliaceae i Cornaceae sa čijim predstavnicima po Engleru formiraju grupu Umbellales ili Umbeliflorae, ali precizne granice između ovih grupa nisu tačno utvrđene. Viguiet je zaključio da Araliaceae i Apiaceae čine kontinuiranu morfološku celinu, a da su Cornaceae usko povezane sa Araliaceae. Wangerin i Warming sa druge strane, razdvajaju Cornaceae od Umbellales zbog prirode semenih zametaka (Jurica, 2012; Nikolić, 1973). I pored mnogih dosadašnjih pokušaja, ova familija još uvek čeka modernu klasifikaciju koja bi bila opšte prihvaćena.

1.3. Komercijalni predstavnici familije Apiaceae i njihova primena

Mnoge vrste ove familije koriste se od davnina u ishrani i prehrambenoj industriji i to kao začini za aromatizaciju hrane i kao korigenski mirisa i ukusa. Primenuju se i kao tradicionalna lekovita sredstva sa širokim spektrom delovanja u lečenju raznih gastrointestinalnih i kardiovaskularnih oboljenja, a pored toga deluju i kao stimulansi i sedativi. Neke vrste iz rodova *Eryngium*, *Angelica*, *Heracleum*, *Trachymene* koriste se kao ukrasne biljke. Familija obuhvata široko rasprostranjene korovske i otrovne predstavnike, od kojih je najpoznatiji *Conium maculatum* L. (kukuta) kojom je navodno otrovan Sokrat u staroj Grčkoj, a sadrži alkaloid konijum koji se koristi kao sedativ, antispazmolitik i ima anti-inflamatorno dejstvo (Graland, 2004).

Neke od ekonomski veoma značajnih vrsta su *Daucus carota* L. (šargarepa), *Pastinaca sativa* L. (paškanat), *Apium graveolens* L. (celer), *Petroselinum crispum* L. (peršun), *Pimpinella anisum* L. (anis), *Carum carvi* L. (kim), *Anethum graveolens* L. (mirođija), *Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm. (krbuljica), *Foeniculum vulgare* Mill. (morač), *Coriandrum sativum* L. (korijander) i druge. *Aegopodium podagraria* L. (sedmolist) koristi se u lečenju bolnih zglobova, reumatizma, gihta i ispoljava blago sedativno dejstvo. *Anethum graveolens* L. (mirođija) se prvi put spominje pre oko 5.000 godina u egipatskim spisima kao lek protiv štucanja. Zbog

aromatičnosti ima široku primenu u kulinarstvu kao digestiv i karminativ i za smirivanje grčeva. Semena ispoljavaju blago sedativno dejstvo. *Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm. (kربولjica) je kultivisana vrsta u Aziji i Evropi, pogotovo u Francuskoj gde se smatra neophodnim kulinarskim začinom. Koristi se kao digestiv, dijaforetik kod prehlada i groznica i kao hipertenziv kod sniženog krvnog pritiska. *Apium graveolens* var. *dulce* L. (celer) je povrtarska vrsta koja se upotrebljava u ishrani kao začin, digestiv, stimulans, snižava krvni pritisak i koristi se kod reumatizma. *Carum carvi* L. (kim) se širom sveta koristi kao začin i digestiv. Ranije se smatralo da ima magične moći, pa se koristio kao sastojak za izradu ljubavnih napitaka. *Cuminum cymium* L. (kumin) pokazuje digestivno, karminativno i rubefacijentno dejstvo. *Eryngium maritimum* L. (kotrljan) primenjuje se kao aromatični stimulans, nervni tonik i antitusik. Smatralo se da poboljšava opšte zdravlje, energiju i da deluje kao afrodizijak. Neke *Eryngium* L. vrste služe kao ekspektoransi i emetici. *Levisticum officinale* W.D.J. Koch. (selen) ima digestivnu, karminativnu, rubefacijentnu i antiseptičku aktivnost. *Myrrhis odorata* (L.) Scopoli (čehulja) primenjuje se kao prirodni zaslađivač i začin u ishrani dijabetičara zbog izuzetno slatkog ukusa, za stimulaciju apetita kao i kod prehlada i upale pluća. Semena ove vrste imaju laksativni efekat. *Petroselinum crispum* L. (peršun) je poznati korigens mirisa, tonik za jačanje, antiseptik kod uganuća, modrica, rana. Stimuliše digestivni sistem, rad bubrega, olakšava menstrualne bolove i koristi se protiv anemije. *Pimpinella anisum* L. (anis) ima široku kulinarsku primenu, ublažava kašalj, glavobolju i upalu sluzokože nosa. Zbog antiseptičkih osobina koristi se u izradi zubnih pasta i kao repelent protiv insekata (Graland, 2004).

1.4. Sekundarni metaboliti vrsta familije Apiaceae

Aromatični predstavnici familije štitonoša produkuju sekundarne metabolite u svim biljnim organima. Prisustvo etarskih ulja, fenilpropanoida, flavonoida, prostih kumarina, furanokumarina, seskviterpenskih laktona, poliacetilena, ftalida, hromona kao i odsustvo proantocijanidina, elagitanina i iridoida, predstavljaju glavne hemijske karakteristike ovog taksona. Neki hemijski markeri kao što su piperidinski alkaloidi (koniin, konijum) smatraju se izuzecima u familiji (Holub i sar., 1987).

1.4.1. Etarska ulja

1.4.1.1. Opšte karakteristike

Etarska ulja predstavljaju kompleksne smeše aromatičnih, isparljivih komponenti koje se sintetišu i skladište u specijalnim sekretornim strukturama. Najčešće su biljnog porekla (skvalen i abrein se sintetišu u životinjskim organizmima) i nastaju aktivnošću endogenih i egzogenih sekretornih tkiva. Količina i sastav etarskih ulja variraju tokom životnog ciklusa biljke i zavise od mnogih unutrašnjih (faza ontogenetskog razvića, vrsta biljnog organa, dnevno-noćna dinamika) i spoljašnjih (ekoloških, klimatskih, geoloških) činilaca. Etarska ulja kao produkti metabolizma biljke imaju niz značajnih funkcija kao što su zaštita biljke od preteranog zagrevanja (isparavanjem ulja sa površine listova), privlačenje insekata radi oprašivanja, zaštita od patogena (fitoaleksini), odbijanje herbivora (antifidna aktivnost), u autopatskim i alelopatskim odnosima (sprečavanje klijanja semena iste ili drugih vrsta u neposrednoj okolini).

Primena etarskih ulja u tradicionalnoj medicini poznata je od davnina i zadržala se sve do danas. Kao najaktivniji sastojci etarskih ulja pokazali su se terpenki fenoli, aldehidi, ketoni i alkoholi. Najslabije delovanje ispoljavaju terpenki ugljovodonici. Farmakološki značaj etarskih ulja zasniva se na činjenici da su njihove komponente uglavnom netoksične sa retkim izuzecima (eugenol - citotoksičan, miristicin - halucinogen itd.). Etarska ulja su veoma isparljiva i odlikuju se intenzivnim i karakterističnim mirisima što je njihovo glavno svojstvo (aktivacija organa za disanje, stimulacija srca, opuštanje glatke muskulature) i predstavljaju prirodne antioksidanse. Zbog svih svojih osobina primenjuju se za parfimisanje kozmetičkih proizvoda i izradu parfema u kozmetičkoj industriji. Od velikog su značaja za prehrambenu industriju, industriju alkoholnih i bezalkoholnih pića, za medicinu i farmaciju, a koriste se i u proizvodnji boja i lakova (Jančić, 1995; Marin, 2003).

1.4.1.2. Etarska ulja vrsta familje *Apiaceae*

Aromatična etarska ulja su najznačajniji produkti metabolizma velikog broja predstavnika familje *Apiaceae*. Sintetišu se u šizogenim, sekretornim kanalima svih biljnih organa (koren, stablo, cvet, list i plod), ali su najzastupljeniji u plodovima i korenovima ovih

biljaka (Nemeth, 2005). Analitički podaci pokazali su da se etarska ulja ovih vrsta sastoje uglavnom od cikličnih, ređe alifatičkih monoterpena (Evergetis i sar., 2009; Orojalian i sar., 2010). Kapetanos i sar. (2008) su analizirajući etarska ulja 23 samonikle vrste ove familije sa područja Centralnog Balkana, utvrdili da su to bile mešavine od preko 100 jedinjenja i da je zastupljenost glavne komponente svih taksona bila preko 25% ukupnog sadržaja ulja. U ovom istraživanju su se seskviterpensi ugljovodonici pokazali kao dominantna grupa jedinjenja, sa izuzetkom vrsta roda *Peucedanum* gde su glavni bili monoterpensi ugljovodonici. Evergetis i sar. (2014) su analiziranjem velikog broja vrsta ove familije zaključili da etarska ulja nekih od njih mogu poslužiti kao potencijalni izvori za dobijanje aktivnih komponenti kao što su saturisani i nesaturisani monoterpeni i seskviterpeni, aldehidi, razna aromatična i druga jedinjenja. Etarska ulja ove familije ispoljavaju niz bioloških aktivnosti kao što su antimikrobna, antiviralna, analgetička, antinociceptivna, antiinflamatorna, antiedematozna, antiproliferativna, antikancerogena aktivnost, a dokazano je i da poboljšavaju apsorpciju pojedinih lekova (Bohusch, 2014).

1.4.2. Fenolna jedinjenja

1.4.2.1. Opšte karakteristike

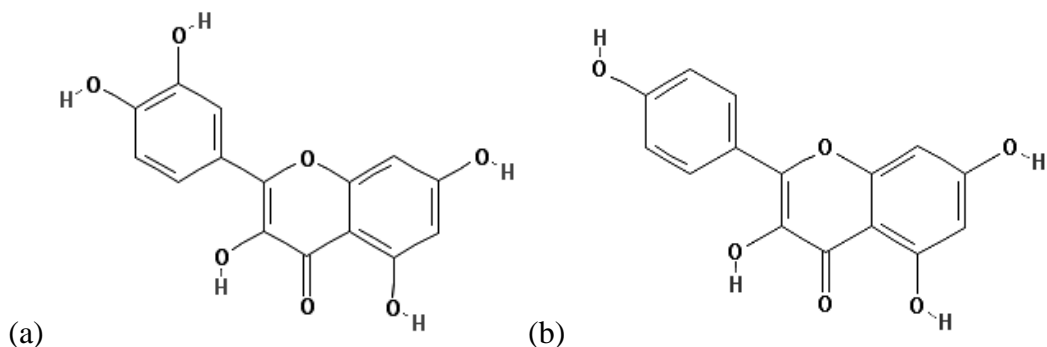
Fenolna jedinjenja su najrasprostranjeniji sekundarni metaboliti biljaka koji pripadaju grupi aromatičnih jedinjenja i sreću se kako u podzemnim tako i u nadzemnim delovima biljaka. Zbog široke rasprostranjenosti u biljnom svetu i mnogobrojnih funkcija, privlačili su pažnju istraživača i do sada su najbolje proučeni sekundarni metaboliti. Karakterišu se hidroksilovanim benzenovim prstenom pri čemu ih veći broj hidroksilnih grupa čini manje toksičnim. U prirodi se najčešće javljaju u vidu polimernih kiselina i glikozilovanih estrara sa taninskim kiselinama. Ispoljavaju različite funkcije, ali najvažnije uloga ovih jedinjenja je učešće u odbrambenom mehanizmu biljke, u formiranju boje cvetova i plodova, samim tim u oprašivanju i rasejavanu, u interakcijama sa drugim organizmima jer predstavljaju signalne molekule itd. Dokazano je da se u uslovima stresa kao što su prekomerno UV zračenje, oštećenje tkiva i infekcije u biljkama indukuje pojačana sinteza fenolnih jedinjenja (Britton, 1983; Dashek, 2006; Dixon i Paiva, 1995; Harborne, 1994; Harborne i Williams, 2000). Flavonoidi deluju kao katalizatori u svetloj fazi

fotosinteze i regulatori ciklusa gvožđa uključenog u fosforilaciju. Takođe, učestvuju u zaštiti biljnih ćelija od stresa uključujući ROS (Reactive Oxygen Species) i RNS (Reactive Nitrogen Species) proizvode fotosinteze (Iwashina, 2003; Marin, 2003).

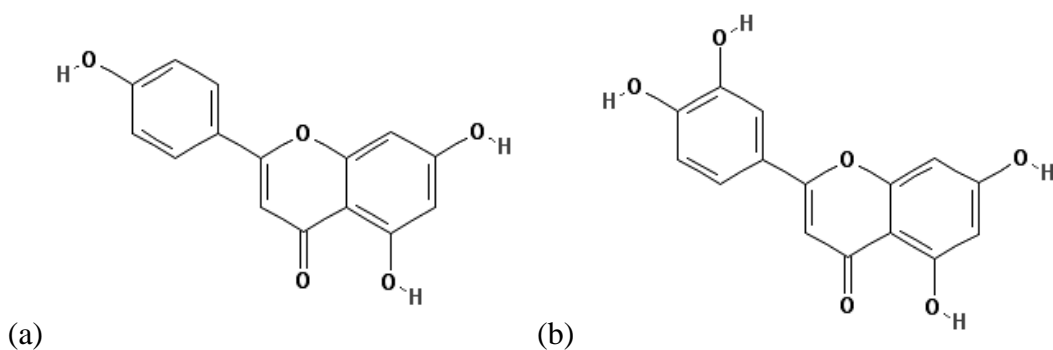
1.4.2.2. Fenolna jedinjenja vrsta porodice *Apiaceae*

Mnoge industrijski važne biljke porodice *Apiaceae* poseduju fenolna jedinjenja koja su kao integralni deo ljudske ishrane veoma značajna u sprečavanju nastanka različitih oboljenja. Poznato je da predstavnici štitoonoša akumuliraju fenolna jedinjenja iz grupe flavona, flavonola i flavonoida. Flavoni i flavonoli nalaze se u vidu aglikona koji nastaju posle kiselinske hidrolize u svežim biljkama (Miean i Mohamed, 2001). Podfamilija *Apioidae* proizvodi flavonske glikozide koji se ne sintetišu kod druge dve porodice, pri čemu se flavoni nalaze kod visoko izvedenih vrsta kao što je *Daucus carota*, dok su flavonoli karakteristični za manje specijalizovane vrste. Brojne *in vivo* studije ukazuju da polifenoli i njihovi proizvodi razgradnje poseduju anti-inflamatorno, antikancerogeno, antimutageno, antibakterijsko i antivirusno dejstvo (Gebhardt i sar., 2005; Hu, 2007). Dobro je poznato da ova jedinjenja imaju sposobnost da neutrališu slobodne radikale, pa se zbog toga neki predstavnici ove porodice kao što su *H. lasiopetalum*, *E. platyloba*, *K. odoratissima* itd. koriste za konzerviranje hrane i poboljšanje njenog ukusa i mirisa (Pirbalouti i sar. 2013). Miliuskas i sar. (2004) su zaključili da je ukupan sadržaj fenola u većoj korelaciji sa jačinom antioksidativne aktivnosti od ukupnog sadržaja flavonoida. Flavonoidi su kao značajni biljni pigmenti, izolovani iz mnogih biljaka ove porodice, a do sada je iz biljaka izolovano i proučeno preko 3000 flavonoida (Iwashina, 2003; Marin, 2003). Eksperimentalno je dokazano da se mnogi flavonoidi u organizmu razgrađuju do fenolnih kiselina od kojih su mnoge efikasne u uklanjanju slobodnih radikala (Iwashina, 2003; Marin, 2003). Crowden i sar. (1969) su vršili ispitivanje sadržaja fenolnih jedinjenja na površini listova herbarskih uzoraka većeg broja vrsta iz porodice *Apiaceae*. Ovi autori su došli do zaključka da se na listovima većine vrsta nalaze flavonoidi, sa izuzetkom nekih vrsta iz rodova *Angelica* i *Seseli* koje su imale veću koncentraciju drugih fenolnih jedinjenja (kumarini). Pokazalo se da su najzastupljeniji flavonoidi ove porodice flavonoli kemferol i kvercetin (**Slika 1**). Luteolin i apigenin (**Slika 2**) su bili najčešće detektovani flavoni. Luteolin je bio prisutan kao 7-glukozid, a kvercetin u obliku 3-glukozida i 3-rutinozida. Sa retkim izuzecima kao što su neke vrste rodova

Daucus i *Laserpitium*, predstavnici ove familije imaju ili samo flavonole ili samo flavone, ali ne i jedne i druge metabolite. Pored flavonoida, od fenolnih jedinjenja konstatovani su i hidrokso-kumarini umbeliferon i eskuletin, dobro poznati konstituenti plodova i korenova ove familije, dok su furanokumarini bili locirani na listovima vrsta rodova *Angelica*, *Peucedanum* i *Seseli* (Crowden i sar., 1969).



Slika 1. Flavonoidi: (a) kvercetin; (b) kemferol (izvor: www.pubchem.com)



Slika 2. Flavoni: (a) apigenin; (b) luteolin (izvor: www.pubchem.com)

1.4.3. Kumarini

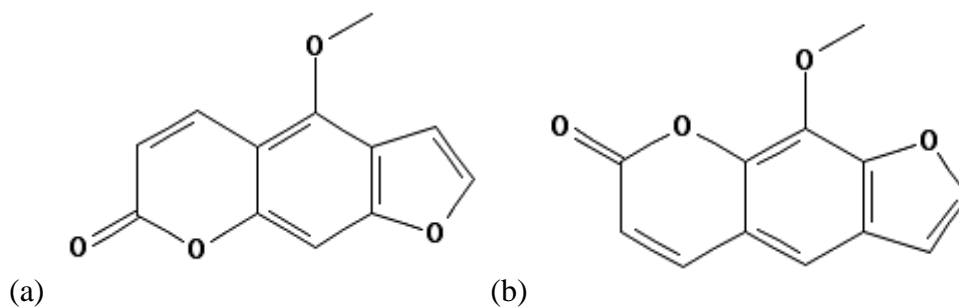
Kumarini su široko rasprostranjeni sekundarni metaboliti u biljnom svetu koji daju specifičan miris biljkama koje ih sadrže (miris pokošene trave ili sena). Do sada je izolovano preko 1.000 različitih jedinjenja iz ove grupe. To je velika klasa fenolnih jedinjenja koja se sastoji iz kondenzovanog benzenovog prstena i α -piranovog prstena. Slobodni ili u obliku

heterozida, lokalizovani su u svim nadzemnim i podzemnim organima biljaka. Dele se na jednostavne i heterociklične kumarine, a u okviru heterocikličnih javljaju se furano- i piranokumarini. Furanokumarini se dele na linearne psoralene i angularne angelicine. Jednostavni kumarini su karakteristični za biljke iz porodice Asteraceae i Fabaceae, dok se heterociklični kumarini javljaju u okviru porodice Apiaceae i Rutaceae, pri čemu je distribucija angularnih furanokumarina daleko manja od linearnih u porodici Apiaceae (Kovačević, 2004). Najznačajniji i najzastupljeniji su psoralen, ksantotoksin, bergapten i izopimpinelin, a kumarin marmesin je ključni prekursor za biosintezu linearnih furanokumarina. On je izolovan iz nekih vrsta porodice Apiaceae. Pokazalo se da igra ključnu ulogu u zaštiti celera i peršuna od patogena u periodu nakon branja (Crozier i sar., 2006). Neki od potencijalno najefektivnijih bioaktivnih molekula izolovanih iz biljaka potiču iz klase kumarina (Venugopala i sar. 2013).

Furanokumarini predstavljaju veliku strukturno raznoliku grupu farmakološki aktivnih metabolita. To su toksična jedinjenja koja se javljaju kao kompleksne mešavine u mnogim biljnim vrstama, uključujući one koje se koriste u ishrani. Najveći sadržaj ovih konstituenata nalazi se kod predstavnika porodice štitonoša i to kod komercijalnih vrsta poput *Anethum graveolens*, *Pastinaca sativa* i *P. crispum*. Furanokumarini se najčešće javljaju u listovima i zelenim delovima biljke, dok je njihova količina u plodovima i korenovima uglavnom značajno niža. Ova jedinjenja su pronađena u semenima 130 različitih vrsta ove porodice, kao i u listovima vrsta rodova *Angelica*, *Seseli* i *Peucedanum*. Prisustvo furanokumarina bergaptena i ksantotoksina i njihovih izoprenoidnih derivata detektovano je u korenovima i plodovima velikog broja vrsta ove porodice (Crowden, 1969; Peroutka i sar., 2007; Sieniawska i Glowniak, 2011).

Biološka aktivnost kumarina je višestruka. Kumarini i furanokumarini su poznati po širokom spektru farmakoloških aktivnosti kao što su antioksidativna, antimikrobna, antiviralna, anti-inflamatorna i citotoksična (Venugopala i sar., 2013). Furanokumarini se široko primenjuju u farmaceutskoj industriji kao efektivni dermalni, fotosenzitivni agensi, pošto poseduju potencijalni stimulatívni efekat na melanogenezu i značajno uvećavaju ćelijsku proliferaciju, pa se koriste u terapiji vitiliga, psorijaze i ekcema. Za terapiju ovih oboljenja prepisuje se oko 40 mg psoralena u kombinaciji sa UVA svetlom, a u tu svrhu se često koristi i ksantotoksin (Crozier i sar., 2006). Ovaj efekat je u kozmetici iskorišćen za podsticanje pigmentacije kože i dobijanje tamnijeg tena. Međutim, postoje studije koje ukazuju da su terapijske doze furanokumarina

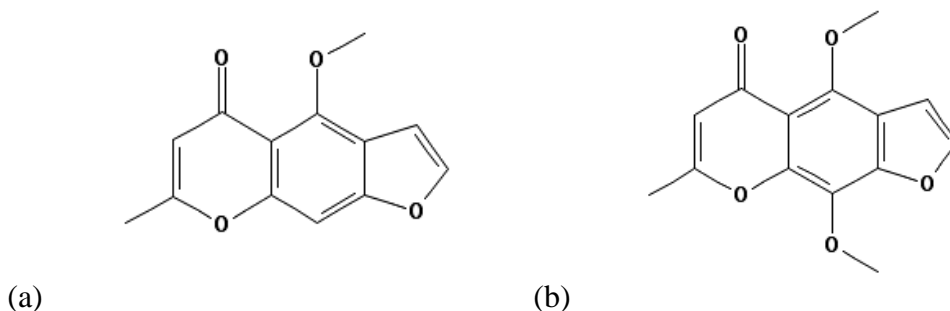
mutagene i kancerogene, te je njihova primena moguća u strogo kontrolisanim dozama i uslovima. Linearni furanokumarini kod ljudi mogu dovesti do fotosenzitizacije uzrokujući opekotine i plikove pri izlaganju UV zracima. Furanokumarini deluju kao fitoaleksini i imaju antifungalno i antibakterijsko dejstvo. Derivati heraklenola, izoimperatorina, imperatorina, felopterina, biakangelicina, skopoletina i psoralena predstavljaju aktivna antimikrobna jedinjenja. Pokazano je da dihidrobergamotin i bergamotin inhibiraju stvaranje biofilмова kod patogenih mikroorganizama. Kumarini deluju kao antikoagulansi, a najpoznatiji među njima je dikumarol iz *Melilotus officinalis* (L.) Lam. (kokotac) koji se primenjuje u terapiji oboljenja koronarnih arterija i sličnih stanja zarad prevencije tromboze (Jain i Joshi, 2012). Jedinjenja kao što su 8-hidroksibergapten i aloizoimperatorin pokazuju visok stepen antioksidativne aktivnosti. Imperatorin deluje hepatoprotektivno, dok kumarin ostol pokazuje antiproliferativni, anti-inflamatorni, antimikrobni i antialergijski efekat (Sieniawska i Glowniak, 2011). Linearni bergamotin i epoksibergamotin imaju snažan uticaj na povećanje koncentracije nekih lekova u cirkulaciji kao što su antibiotik ciklosporin i sedativ diazepam, do nivoa koji dovodi do neželjenih efekata. Pokazalo se da bergapten i ksantotoksin (**Slika 3**) *in vivo* ispoljavaju toksičan efekat na reprodukciju ženki pacova. Za predstavnike podfamilije Apioideae karakteristična je pojava fotodinamički aktivnih furanokumarina i dimetil-piranokumarina koji u prisustvu svetlosti velikih talasnih dužina formiraju proizvode sposobne da intereaguju sa DNK. Sposobnost ovih jedinjenja da izazivaju mutagene i kancerogene efekte je demonstriran i *in vivo*, pa ih zato treba smatrati potencijalno opasnim za zdravlje ukoliko se koriste u ishrani. Dokazano je da vreme i uslovi skladištenja sakupljenog materijala utiču na nivo i promenu strukture samih furanokumarina (Nemeth, 2005; Peroutka i sar., 2007).



Slika 3. Furanokumarini: (a) bergapten; (b) ksantotoksin (izvor: www.pubchem.com)

1.4.4. Hromoni

Naziv ove grupe jedinjenja izveden je iz grčke reči *chroma* što znači boja, ukazujući na obojenost mnogih hromona i njihovih derivata. Hromoni su heterociklična jedinjenja koja sadrže kondenzovani benzenovov prsten i γ -piranozni prsten. Ova jedinjenja predstavljaju strukturne izomere kumarina kod kojih se karbonilna grupa nalazi u α položaju piranoznog prstena. Hromonski strukturni element je značajna farmakofora biološki aktivnih molekula. Mnoge derivate hromona odlikuju brojne biološke aktivnosti od kojih su antimikrobna, antivirusna i antikancerogena aktivnost najznačajnije. Dokazano je da mogu inhibirati enzime iz klasa oksidaza i kinaza. Neki od najpoznatijih hromona su furanohromoni kelin, visnagin (**Slika 4**) i kelol, izolovani iz semena *Ammi visnaga* L. (Apiaceae). Kelin je među prvim hromonima koji je našao primenu u kliničkoj praksi i koristi se za lečenje vitiliga, kao diuretik i vazodilatator (Chopra i sar., 2015). Visnagin je vazodilatator glatke muskulature koji inhibira aktivaciju Ca^{2+} jona kao i njegove kanale. Snižava krvni pritisak tako što smanjuje kontrakciju krvnih sudova inhibiranjem ulaska Ca^{2+} jona u ćeliju (Lee i sar., 2010). Neki hromoni su izolovani iz vrsta roda *Angelica* kao što su *A. japonica* (hamaudol, visamidol, cimifugin i angelikain) i *A. genuflexa* (hamaudol, *sec*-O-glukozilhamaudol i *prim*-O-glukozilcimifugin) (Ren i sar. 2005a).



Slika 4. Furanohromoni: (a) visnagin; (b) kelin (izvor: www.pubchem.com)

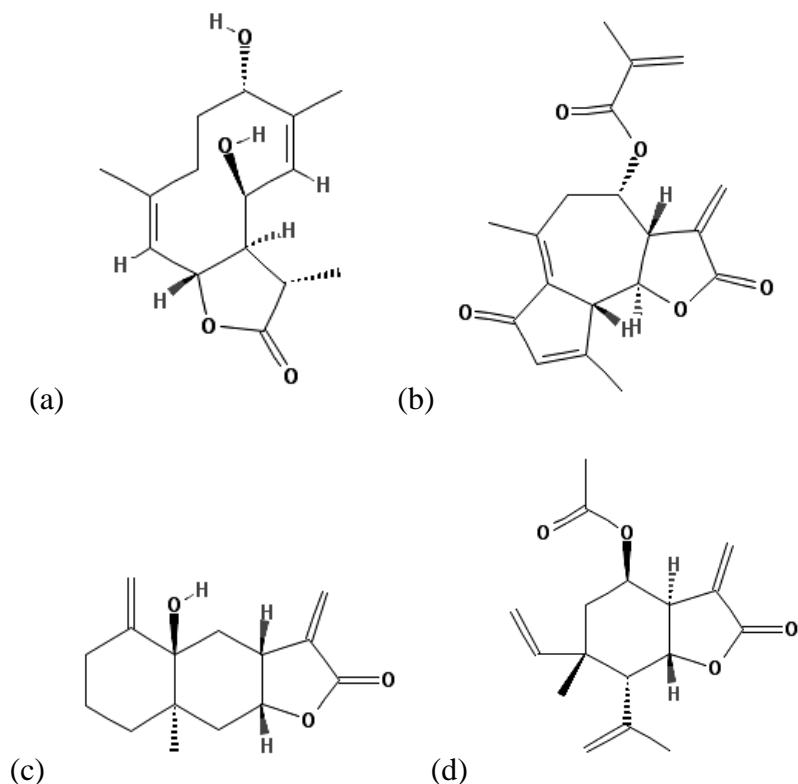
1.4.5. Seskviterpenski laktoni

Seskviterpenski laktoni predstavljaju grupu metabolita od velike ekološke važnosti za samu biljku. To su bezbojne, obično uljaste supstance koje imaju hemotaksonomski značaj u

sistematici biljka. Od oko 5.000 seskviterpenskih laktona koji se javljaju u prirodi, približno 95% ovih jedinjenja izolovano je iz biljaka familije Asteraceae. Druga familija po zastupljenosti ovih metabolita je Apiaceae gde su seskviterpenski laktoni pretežno hidroksilovani i esterifikovani (Holub i sar., 1987). Ova jedinjenja se nalaze uglavnom u nadzemnim delovima biljke, pre svega listovima, cvetovima, a retko u korenu (Picman, 1986).

Biosintetski put seskviterpenskih laktona u vrstama familije Apiaceae nije još uvek sa sigurnošću utvrđen. Po hemijskoj strukturi pripadaju terpenoidima ili izoprenoidima i u svom molekulu sadrže jedan γ -laktonski prsten. Zahvaljujući postojanju γ -laktonske grupe, pripadnici ove klasa jedinjenja pokazuju veoma jako farmakološko dejstvo koje se odvija po principu Michael-ove reakcije (sa -SH tiolnom grupom). Prema strukturi se mogu podeliti u više od trideset klasa, ali je za familiju Apiaceae karakteristično prisustvo seskviterpenskih laktona sa osnovnim tipovima skeleta iz grupe germakranolida, eudezmanolida, eremofilanolida, elemanolida, gvajanolida i pseudogvajanolida (**Slika 5**) (Drew i sal. 2009). Od toga, germakranolidi čine najveću grupu sa oko 300 predstavnika. U nekim vrstama roda *Laserpitium* utvrđeno je prisustvo laktona eudezmanolidnog tipa kao i prisustvo gvajanolida najjednostavnije strukture (slovanolida) (Đermanović, 1990; Milosavljević i sar., 1999; Nemeth, 2005).

Ova jedinjenja poseduju različite biološke aktivnosti kao što su antitumorska, antialergijska, fitotoksična, antimikrobna, insekticidna, a mnogi deluju antiinflamatorno, antiproliferativno i citotoksično. Za dobru antimikrobnu aktivnost pojedinih laktona kao što su germakranolidi odgovorna je njihova visoka lipofilnost. Neki seskviterpenski laktoni pokazali su i antimalarijsko, neurotoksično i antilaksativno dejstvo (Klayman, 1985; Rees i Harborne, 1985; Robles i sar., 1995). Mnoge biljke koje poseduju ovu grupu jedinjenja izazivaju nelokalni, akutni dermatitis, a među njima su i jestive (povrće), lekovite i ukrasne vrste (Bruneton, 1996; Trease i Evans, 1989). I pored obećavajućih lekovitih svojstava, postoje teškoće u pogledu proizvodnje ovih jedinjenja kao terapijskih agenasa (Drew i sal. 2009; Merfort, 2011; Tadić i sar., 2009).

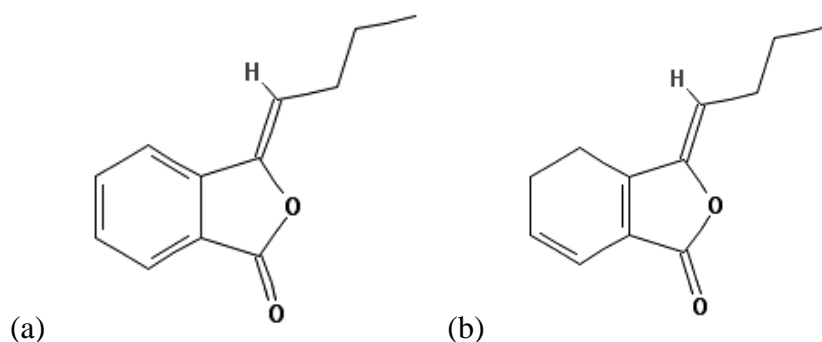


Slika 5. Osnovni tipovi skeleta seskviterpenskih laktona: (a) germakranolid; (b) gvajanolid; (c) eudezmanolid; (d) elemanolid (izvor: www.pubchem.com)

1.4.6. Ftalidi

Iz klase jedinjenja ftalida poznato je 71 jedinjenja, njihovih dihidro- i tetrahidro- analoga koji su izolovani iz 40 vrsta familje *Apiaceae* i 4 vrste iz drugih familija. Za mnoge od tih biljaka nađeno je da ispoljavaju širok opseg farmakoloških aktivnosti kod pojedinih oboljenja i fizioloških stanja, uključujući viralne i mikrobiološke infekcije, infarkt, tuberkulozu i vazokonstrikcije. U tradicionalnoj medicini nekih azijskih zemalja postoji bogata istorija upotrebe pojedinih vrsta roda *Angelica* kao što je *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels i nekih vrsta roda *Ligusticum* L. To su poznate lekovite biljke sa velikim brojem i visokom koncentracijom različitih ftalida koje se koriste kao tradicionalni lekovi protiv oboljenja krvih sudova, ateroskleroze, anemije, infarkta. Izolovana jedinjenja iz grupe ftalida pokazala su aktivnost kod spazma, angine, ishemijskog moždanog udara, astme i agregacije trombocita. Ftalidi koji su

najviše ispitivani na posedovanje biološke aktivnosti su *cis*-butiliden ftalid i *cis*-ligustilid (**Slika 6**) (Beck i Chous, 2007). Ovi i drugi istraženi ftalidi poseduju antiholinergično, antimikrobno, anti-inflamatorno, insekticidno, fitotoksično, vazodilatatorno, miorelaksantno, nematocidalno i antihipertenzivno dejstvo. Uprkos brojnim izveštajima o aktivnosti ftalida, istraživanja koja se bave načinom njihovog delovanja manjkaju, tako da je sam mehanizam delovanja ostao nejasan i nerazjašnjen do danas (Beck i Chou, 2007).

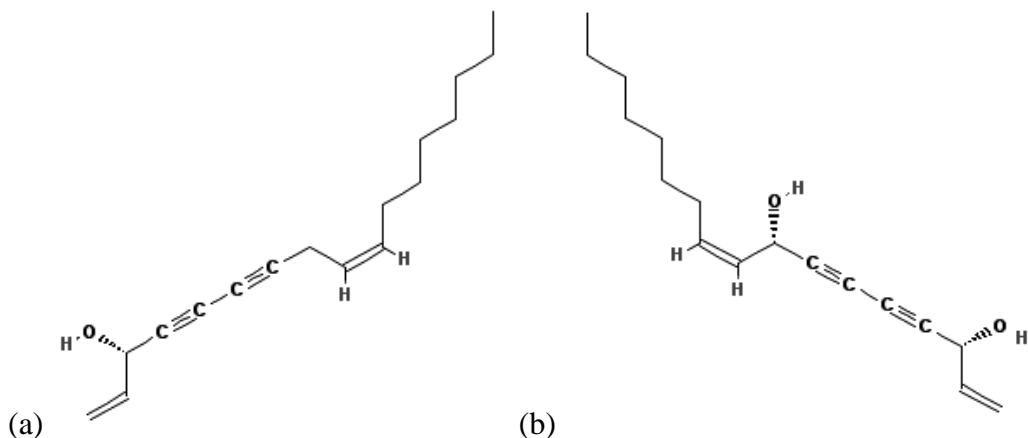


Slika 6. Ftalidi: (a) *cis* -butiliden ftalid; (b) *cis*-ligustilid (izvor: www.pubchem.com)

1.4.7. Poliacetileni

Poliacetileni su strukturno raznoliki i hemijski reaktivni prirodni proizvodi. Većina poliacetilena se sintetiše iz oleinske, linolne, krepenske kiseline i njihovih dehidro-derivata kao prekursora. Iz viših biljaka izolovano je oko 1.400 bioaktivnih, alifatičnih jedinjenja iz klase poliacetilena. Neki od najpotentnijih C-17 poliacetilena mogu se naći u porodici Apiaceae i Araliaceae. U dobro poznatim predstavnicima porodice Apiaceae koji se koriste u svakodnevnoj ishrani (*D. carota*, *C. carvi*, *A. graveolens* var. *rapaceum*, *F. vulgare*, *P. sativa*), u lekovitim i otrovnim biljkama, široko su zastupljeni alifatični acetileni falkarinol tipa (Crozier i sar., 2006). Najpoznatiji među njima su falkarinol i falkarindiol (**Slika 7**). Ova jedinjenja i drugi poliacetileni predstavljaju jake antifungalne agense, a svi poliacetileni falkarinol tipa deluju kao dobri fitoaleksini. Pokazalo se da ispoljavaju neurotoksičnu i anti-inflamatornu aktivnost i da sprečavaju agregaciju trombocita. Njihov efekat na ćelije humanog kancera i sposobnost da *in vivo* redukuju formiranje tumora kod ispitivanih sisara, ukazuju na potencijalnu primenu u

lečenju malignih oboljenja. Za mnoge vrste koje sadrže poliacetilene pokazalo se da izazivaju alergijske reakcije kože i kontaktni dermatitis i da je često uzročnik tih reakcija falkarinol za razliku od falkarindiola koji ne ispoljava takve dermalne efekte.



Slika 7. Poliacetileni: (a) falkarinol; (b) falkarindiol (izvor: www.pubchem.com)

Neurotoksično dejstvo nekih acetilena je poznato odavno. Veoma toksična jedinjenja enantotoksin i cikutoksin iz vrsta *Cicuta virosa* L., *C. maculata* L. i *Oenanthe crocata* L. kod ljudi uzrokuju simptome neurotoksičnosti koji se manifestuju pojavom mučnine, povraćanja, abdominalnih bolova, tremora, konvulzije, akutnih grčeva i smrti (Christensen i Brandt, 2006; Nemeth, 2005). Ovi otrovni acetileni su srodni acetilenima prisutnim u mirođiji *A. graveolnes* i ajovanu *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague, ali još uvek nije poznato da li i oni pokazuju toksične efekte kao enantotoksin i cikutoksin (Crozier i sar., 2006). Poliacetileni i furanokumarini su bioaktivni sekundarni metaboliti koji su zbog toksičnih efekata nepoželjni u biljkama koje se koriste u ishrani. Iako su mnogi poliacetileni i furanokumarini toksični kada se unose u velikim količinama, oni mogu imati korisne efekte u niskim koncentracijama što doprinosi benefitu upotrebe biljaka koje ih sadrže (Crozier i sar., 2006).

1.4.8. Ostali sekundarni metaboliti

Dobro poznata otrovna vrsta *C. maculatum* sadrži derivate piperidin alkaloida. Saponini su češći kod podfamilija Saniculoideae i Hydrocotiloideae nego kod Apioideae. Od masnih ulja

najčešće se javlja petroselinska kiselina. Neuobičajeni oligosaharid umbeliferoza pronađen je kod 13 vrsta porodice Apiaceae, a redak pentozni šećer apioza prisutan je u slobodnom obliku ili u vidu polisaharida sporadično, tako da nema taksonomski značaj. Ova porodica ne sadrži prave tanine (Crowden, 1969; Nemeth, 2005).

1.5. Antioksidativna aktivnost

1.5.1. Slobodni radikali

Slobodni radikali predstavljaju reaktivne molekule koji poseduju jedan nesparen elektron u spoljašnjoj elektronskoj ljusci. Oni nastaju endogeno tokom ćelijskog metabolizma kao deo regulatornog biohemijskog funkcionisanja u procesu stvaranja energije neophodne za život i imaju pozitivne fiziološke funkcije. Problem u organizmu nastaje ukoliko se poremeti redoks ravnoteža i oslabe prirodni mehanizmi odbrane, pa nivo slobodnih radikala počne da prevazilazi oksidativni kapacitet. Tada se organizam nalazi u stanju povećanog oksidativnog stresa i dolazi do reakcije slobodnih radikala sa mnogim okolnim molekulima (lipidi, amino kiseline i nukleinske kiseline), pri čemu nastaju toksične supstance koje oštećuju ćeliju. Akumuliranje ovih oštećenja dovodi do starenja i nastanka mnogobrojnih oboljenja. Pored toga, stvaranje slobodnih radikala izazivaju i mnogi egzogeni, spoljašnji uticaji kao što su duvanski dim, upotreba lekova, način ishrane, terapijska i spoljašnja zračenja, kao i prekomerna fizička aktivnost. Smatra se da su slobodni radikali odgovorni za nastanak 60-ak akutnih i hroničnih poremećaja koji se manifestuju kao zapaljenski procesi, neurološki i kardiovaskularni poremećaji, maligne bolesti (Bošković, 2009). Slobodni radikali su uzročnici lipidne peroksidacije u aerobnim ćelijama. U ovom procesu dolazi do interakcije molekula kiseonika i polinezasićene masne kiseline što dovodi do kvarenja hrane, ali i starenja organizma i nastanka kancera.

Najznačajniji slobodni radikali u organizmu su derivati kiseonika i azota (**Tabela 1**), poznati kao reaktivne kiseonične - ROS (Reactive Oxygen Species) i reaktivne azotove vrste (Reactive Nitrogen Species) koji predstavljaju značajne izazivače starenja, primarne ili sekundarne uzročnike mnogih humanih poremećaja i/ili oboljenja kao što su astma, upala, artritis, neurodegenerativna oboljenja, Parkinsonova bolest, mongolizam i demencija (Šeatović, 2005; Štefan i sar., 2007).

Tabela 1. Najčešći slobodni radikali

Naziv	Formula
Superoksidni anjon	$-O_2\bullet$
Hidroksilni anjon	$-HO\bullet$
Hidroperoksilni radikal	$-HO_2\bullet$
Hidrogen peroksid	$-H_2O_2$
Alkoksil radikal	$-RO\bullet$
Alkildioksil, alkilperoksil	$-ROO\bullet$
Alkil hidroperoksid	$-ROOH$
Peroksinitriti	$-ONOO-$
Peroksinitritna kiselina	$-ONOOH$
Azot monoksid	$-NO\bullet$

1.5.2. Antioksidansi

Antioksidansi su jedinjenja koja štite organizam od potencijalno štetnih efekata i bolesti prouzrokovanih viškom slobodnih radikala (oksidanasa) redukujući njihovu količinu u organizmu i inhibirajući patološke procese kao što je lipidna peroksidacija. Oni reaguju sa slobodnim radikalima i neutrališu njihova dejstva konvertujući ih u stabilne, netoksične metabolite, pri čemu se doniranjem elektrona sami oksiduju. Na taj način prekidaju lančane reakcije i stoga je neophodno konstantno nadoknađivati antioksidativne rezerve (Šeatović, 2005; Štefan i sar., 2007).

Danas je poznat veliki broj jedinjenja za koje se pokazalo da imaju antioksidativna svojstva. Na osnovu hemijske strukture antioksidansi se mogu klasifikovati na enzimске i neenzimске. U enzimске antioksidanse spadaju: superoksid dismutaza, koja razgrađuje superoksidni radikal (rezultati dobijeni u poslednjih nekoliko godina ukazuju na pozitivno dejstvo superoksid dismutaze u terapiji različitih vrsta karcinoma), katalaza i glutation peroksidaza, koje uklanjaju vodonik peroksid. Spisak neenzimskih antioksidanasa je znatno duži i tu spadaju: minerali (Se, Cu, Zn, Mn, kao kofaktori antioksidativnih enzima), vitamini C i E, karotenoidi (prvenstveno β karoten, luten i lutein) koenzim Q_{10} , cistein, glutation, polifenoli i albumin (Šeatović, 2005).

Antioksidansi u organizmu ne deluju samostalno već u vidu antioksidativne mreže. Tako je *in vivo* ispitivanjima konstatovano da postoji značajan antioksidativni sinergizam između enzimskih i neenzimskih antioksidanasa. U lečenju mnogih bolesti uspešno se mogu koristiti različiti delovi biljaka (koren, list, cvet, plod, stablo, kora), koji svojim antioksidativnim delovanjem utiču na mnoge fiziološke procese u organizmu, te ih na taj način štite od slobodnih radikala (Pavičić i sar., 2009). Veliki broj sekundarnih metabolita biljaka su jedinjenja značajnog antioksidativnog potencijala:

- ▶ derivati fenola (fenolne kiseline, flavonoidi, hinoni, kumarini, lignini, tanini)
- ▶ jedinjenja azota (alkaloidi, amini)
- ▶ vitamini
- ▶ terpenoidi (uključujući karotenoide)

Na osnovu epidemiološke studije nađeno je da mnoga jedinjenja sa antioksidativnim potencijalom poseduju antiinflamatorno, antikancerogeno, antimutageno, antibakterijsko i antivirusno dejstvo (Mladenović, 2006). Prvi antioksidansi koji su se koristili u konzervisanju hrane bili su začini. Kasnije su zamenjeni jeftinijim sintetičkim jedinjenjima, utvrđene čistoće sa ujednačenim antioksidativnim svojstvima. Najčešće korišćeni sintetički antioksidanti koji se primenjuju za konzervisanje prehrambenih proizvoda su butilovani hidroksianizol (BHA), butilovani hidroksitoluen (BHT), propilgalat (PG) i *terc*-butilhidrohinon (TBHQ). Prekomerna upotreba sintetskih antioksidanata dovodi do toksikoloških efekata a zahtevi potrošača su usmereni ka korišćenju prirodnih antioksidanata (Moure i sar., 2001).

1.5.3. Antioksidativna aktivnost vrsta familije Apiaceae

Pokazalo se da su sintetički antioksidansi BHA i BHT koji se koriste u prehrambenoj industriji isparljivi i da se lako razgrađuju na visokim temperaturama, kao i da je njihova upotreba kancerogena. Aromatične biljke su od davnina bile korišćene kao prirodni antioksidansi, a u poslednje vreme je zbog negativnih efekata BHA i BHT, interes za pronalaženjem antioksidativne aktivnosti prirodnih komponenata u porastu (Amakura i sar., 2002; Hinneburg i sar., 2006; Orhan i sar., 2003). Etarska ulja i ekstrakti različitih delova biljaka

mnogih vrsta porodice Apiaceae poseduju antioksidativnu aktivnost koja je dokazana upotrebom različitih metoda u brojnim studijama. Etarska ulja se zbog svoje lipofilne prirode mogu koristiti u prevenciji oksidativnih procesa koji izazivaju oštećenja u ljudskom telu, kao što su lipidna peroksidacija koja je u vezi sa procesom starenja i nekih oboljenja kao što su kancer, ateroskleroza, dijabetes, što ukazuje na to da se mogu smatrati antioksidansima (Romeilah i sar., 2010). Biljke i njihova etarska ulja najviše se koriste u prehrambenoj, parfimerijskoj i farmaceutskoj industriji. Komercijalno dostupni konzervansi novijeg datuma sadrže etarska ulja u svom sastavu kao što su „DMC Base Natural“ - konzervans za hranu (proizvodi DOMCA S.A., Alhendin, Granada, Španija), koji sadrži 50% etarskog ulja ruzmarina, žalfije i limuna i 50% glicerola. Kao konzervansi u prehrambenoj industriji koriste se i biljni ekstrakti „Protecta One“ i „Protecta Two“ (proizvodi Bavaria Corp. Apopka, FL, USA) i svrstavaju se u GRAS grupu namirnica (Generally Recognized As Safe) (Burt, 2004).

Preporučuje se upotreba začinske vrste *Petroselinum crispum* u ishrani, jer je dokazano je da postoji pozitivna korelacija između njenog korišćenja i porasta aktivnosti superoksid dizmutaze i katalaze kao i smanjenja oksidacije proteina (Nielsen i sar. 1999). Za druge vrste ove porodice kao što su *P. sativum* i *Coriandrum sativum*, takođe je potvrđena *in vitro* antioksidantna aktivnost njihovih metanolnih i vodenih ekstrakata i etarskih ulja (Wong i Kits 2006). Skorašnja istraživanja naučnika iz Turske pokazala da navedeni taksoni iz porodice Apiaceae: *Apium nodiflorum* (L.) Lag., *Bunium paucifolium* DC. var. *junceum* (Boiss.) Hedge & Lamond, *Eryngium campestre* L. var. *virens* Link., *Ferula longipedunculata* Peşmen, *Ferulago cassia* Boiss., *Laser trilobum* (L.) Borkh., *Lecokia cretica* (Lam.) DC., *Smyrniium connatum* Boiss & Kotschy, pored tradicionalne upotrebe kao aditiva i u lekovite svrhe, imaju značajan antioksidativni potencijal. Najefikasniji sa aspekta antioksidativne aktivnosti su vrste *L. trilobum* i *S. connatum* (Demirci i Özkan, 2014). Etarsko ulje nadzemnog dela *Pimpinella anisetum* pokazalo je bolju aktivnost u DPPH testu, dok je etarsko ulje nadzemnog dela *P. flabellifolia* bilo efikasnije u β -karoten/linolna kiselina testu (Tepe i sar., 2006). Etarsko ulje dobijeno destilacijom cvasti *Seseli rigidum* sa α -pinenom kao glavnom komponentom (48,5%), pokazalo je niži antioksidativni kapacitet (24,5 μ L/mL) od askorbinske (4,1 μ L/mL) i galne kiseline (1,5 μ L/mL) (Stojković i sar., 2009). Etarska ulja *C. sativum*, *C. cymianum* i *P. sativum* su takođe pokazala nižu sposobnost neutralisanja DPPH radikala u odnosu na standard vitamin C (Romeilah i sar., 2010). Heksanski ekstrakti listova mediteranskih vrsta *Conium maculatum* i

Ferula communis pokazali su jaču anti-radikalnu aktivnost u odnosu na metanolne ekstrakte (Chevolleau i sar., 1992). U studiji Dash i sar. (2005), metanolni ekstrakt (69,25%) i etil-acetatna frakcija (72,38%) korena *Heracleum nepalense* pokazali su značajnu aktivnost u sprečavanju lipidne peroksidacije (u nivou referentnog vitamina E). Takođe, njihov kapacitet u uklanjanju slobodnih DPPH radikala je bio u nivou standarda (80,49%, 72,38% i 76,38% za vit. E, metanolni ekstrakt i etil acetatnu frakciju, redom). U radu Pirbaliuti i sar. (2013) ispitivana je antioksidativna aktivnost metanolnih ekstrakata endemičnih iranskih vrsta *Heracleum lasiopetalum* Boiss, *Echinophora platyloba* DC. i *Kelussia odoratissima* Mozaff koje se koriste u ishrani. Prema dobijenim rezultatima u svim testovima tog rada, pokazalo se da je najefikasniji ekstrakt bio *E. platyloba* gde je bila izmerena i najviša koncentracija flavonoida, dok je najveći sadržaj fenola bio prisutan u metanolnom ekstraktu *H. lasiopetalum*. Wojdyło i sar. (2007) su istraživali antioksidantni potencijal 39 lekovitih i začinskih biljaka i utvrdili su da vodeni ekstrakti plodova *C. carvi*, korena *P. sativum*, nadzemnog dela *Levisticum officinale* i listova *Archangelica officinalis* poseduju značajnu antioksidantnu aktivnost. Pomoću DPPH i FRAP metoda određen je potencijal neutralisanja slobodnih radikala metanolnih i vodenih ekstrakata nadzemnog dela i korena *Anthriscus sylvestris*, *A. cerefolium*, *Chaerophyllum bulbosum*, *C. hirsutum*, *C. temulentum* i *Scandix pecten-veneris*. Aktivnost ekstrakata nadzemnih delova tih biljaka i sintetičkog antioksidansa BHT je bila približna, pri čemu su ekstrakti *A. sylvestris* pokazali najbolje dejstvo. Ekstrakti dobijeni ekstrakcijom korenova imali su slabiji efekat, što se može objasniti nižom koncentracijom fenolnih jedinjenja (flavonoidnih glikozida i hlorogenskih kiselina) u njima (Orčić, 2010). Sposobnost neutralisanja slobodnih radikala konstatovana je i za ekstrakte vrsta koje imaju komercijalnu upotrebu (*P. anisum*, *P. sativum*, *F. vulgare*). Najbolju aktivnost su imali ekstrakti *P. sativum* (Hinneburg i sar., 2006). Za antioksidativnu aktivnost ekstrakata i etarskih ulja biljaka odgovoran je njihov hemijski sastav. Tako su Zhang i sar. (2006) doveli u vezu antioksidativnu aktivnost etarskog ulja *P. petroselinum* sa visokim sadržajem apiola. Antiradikalni potencijal metanolnog i vodenog ekstrakta korena *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels povezan je sa prisustvom vanilina, *p*-krezola, ferulne kiseline, a dejstvo korena *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. povezano je sa kvercetinom, rutinom i izokvercetinom, dok je aktivnost ploda *Foeniculum vulgare* Mill. povezana sa etarskim uljem, cinamičnom i vaniličnom kiselinom, derivatima hidroksicinamičke kiseline, flavonolima, flavonima i njihovim glikozidima i 6,7-dihidroksikumarinima. Hinneburg i sar. (2006) su

povezali visoku aktivnost *C. carvi* sa sadržajem kvercetina i kemferol-glikozida koji su u ekstraktu bili prisutni u značajnoj količini. U plodovima *Cuminum cyminum* L. nalaze se etarsko ulje (kumin aldehyd, kuminal, β -pinen, c -terpinen, šafranal), isparljive fenolne komponente, hlorogenska kiselina, flavanoidi i kumarini koji se smatraju nosiocima njihovog antioksidativnog kapaciteta. Plodovi *Carum copticum* (L.) Benth. & Hook. sadrže etarsko ulje (bogato timolom, cis -terpinenom, β -pinenom, p -cimenom), fenolne glukozide, hlorogensku kiselinu, kumarine, a plodovi *Anethum sowa* Roxb. etarsko ulje (karvon, limonen, dilapiol), bifenil derivate, karvakrol, estragol, p -hidroksibenzoičnu, hlorogensku kiselinu i flavonolne glikozide kojima se pripisuje antiradikalna sposobnost (Caia i sar., 2004; Surveswaran i sar., 2007).

Antioksidativni potencijal dokazan je za seme i koren *Angelica sylvestris* L. (Sarker i sar., 2003), nadzemni deo i koren *Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm. (Elmastaş i sar., 2006) i *A. sylvestris* (L.) Hoffm. (Milovanović i sar. 1996), plod *Carum carvi* L. (Hinneburg i sar., 2006), koren *Daucus carota* L. (Sun i sar., 2009), nadzemni deo *Eryngium campestre* L. (Küpeli i sar., 2006) i *Sanicula europaea* L. (Le Claire i sar., 2005) i druge samonikle vrste.

1.6. Antimikrobna aktivnost

1.6.1. Opšte karakteristike testiranih mikroorganizama

Mikroorganizmi predstavljaju veoma heterogenu grupu organizama koja obuhvata bakterije, mikrogljive, viruse, mikroalge i protozoe (Batzing, 2001). Patogenost mikroorganizama se u širem smislu može definisati kao njihova sposobnost da prodiru u organizam domaćina, da se u njemu održavaju, razmnožavaju i da izazivaju bolesti. U užem smislu, patogenost označava sposobnost infektivnog agensa da izaziva oboljenje. Toksičnost patogenih mikroorganizama je bazirana na njihovoj sposobnosti da sintetišu različite toksine (Jawetz i sar., 2007).

1.6.1.1. Opšte karakteristike bakterija

Bakterije se smatraju najstarijim (oko 3,4 milijardi godina) i najbrojnijim organizmima na Zemlji. Značaj i uloge bakterija su mnogostruke i obuhvataju skoro sve sfere života na našoj

planeti. Bile su nepoznate do XX veka kada su Luj Paster i Robert Koh potvrdili ulogu bakterija u kvarenju hrane i mnogim bolestima ljudi i životinja (Whitman i sar., 1998). Strukturna jedinica bakterija je prokariotska ćelija (plazma membrana, citoplazma u kojoj su ribozomi i nukleotidi). Često poseduju ćelijski zid, ali ga nemaju sve bakterije (mikoplazme, rikecije). Flagele, pili, kapsule i dr. su tvorevine koje su prisutne samo kod nekih bakterija i predstavljaju bitan taksonomski karakter (Simić, 1998). Bakterijske ćelije poseduju tri osnovna morfološka tipa: bacili, koke i spirale. Neke bakterije nakon ćelijske deobe ostaju zajedno, obrazujući kolonije u obliku lanaca ili grozdova (Schulz i Jorgensen, 2001).

Biološka uspešnost bakterija (velika brojnost, sposobnost da žive u svim vrstama staništa itd.) rezultat je njihovog specifičnog metabolizma, male veličine, brzog razmnožavanja i sposobnosti da obrazuju kapsule. Organske materije dobijaju autotrofnom ili heterotrofnom ishranom. Proces razlaganja organskih materija do krajnjih proizvoda ugljen-dioksida, vode i energije (ATP-a) naziva se ćelijsko disanje i razlikuju se anaerobni i aerobni tip respiracije. Toksični sojevi često produkuju različite toksine. U zavisnosti od toga da li ih izlučuju u spoljašnju sredinu ili ih čuvaju u ćeliji, toksini bakterija se dele na egzotoksine i endotoksine.

Egzotoksine sintetišu i izlučuju žive i fiziološki normalne patogene bakterije. Po svojoj hemijskoj prirodi to su proteini i dezintegrišu ih svi faktori koji vrše denaturaciju proteina: visoka temperatura, UV zračenje, soli teških metala, proteolitički enzimi, jake kiseline ili baze.

Endotoksini su sastavni delovi ćelija nekih bakterija. Njih bakterije oslobađaju tek nakon lize bakterijskih ćelija. To su kompleksna jedinjenja velikih molekula (kod Gram - (-) bakterija su glicidolipidopolipeptidski kompleksi) koji su otporni na faktore denaturacije proteina (Karaklašević, 1977).

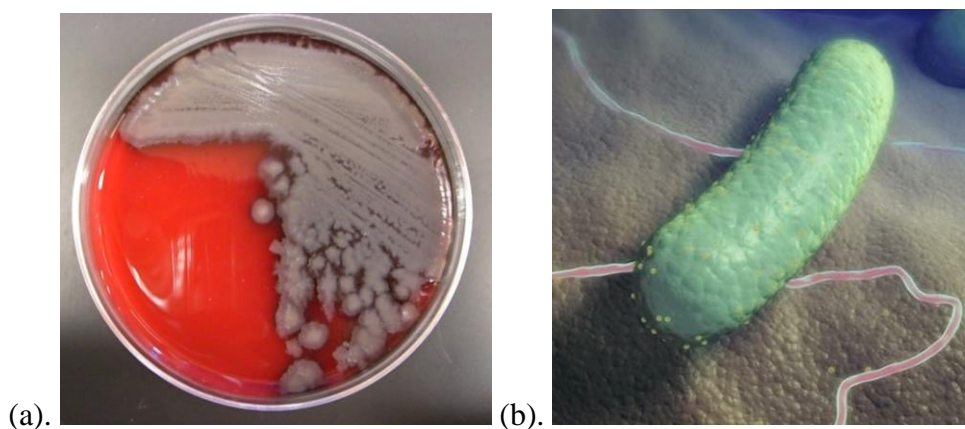
Prema sastavu ćelijskog zida i bojenju postupkom po Gramu (metoda koju je 1884. godine predložio naučnik Hans Kristijan Gram), bakterije se dele na Gram - (+) i Gram - (-). Gram-(-) bakterije imaju jedan sloj lipopolisaharida preko ćelijskog zida, usled čega se one boje crveno, dok se Gram - (+) bakterije koje nemaju taj sloj, boje ljubičasto. Utvrđeno je da su Gram - (+) vrste osetljivije na antibiotike u odnosu na otpornije Gram - (-) bakterije.

1.6.1.1.1. Opis testiranih bakterija

Test organizmi koji se koriste u istraživanjima su bakterije i gljive koji predstavljaju patogene koji izazivaju brojna oboljenja biljaka, životinja i čoveka, kontaminatore hrane, producente toksina itd.

Gram - (+) bakterije

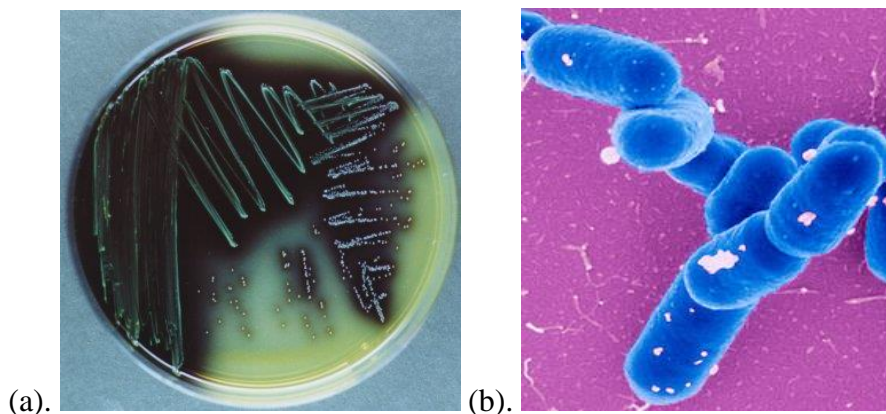
Bacillus cereus Frankland & Frankland: Pokretljiva štapičasta bakterija dimenzija 1,0-1,2 x 3,0-5,0 μm . Spore su elipsoidne, rastu u kratkim lancima (**Slika 8**). Dobro uspeva na svim podlogama u aerobnim uslovima. Boja kolonija se kreće od bele do bleđožute (Mihajlović, 1983). Široko rasprostranjena bakterija koja se nalazi u zemljištu i prašini, u senu i slami kao i raznim svežim i konzerviranim namirnicama. Produkuje dve vrste snažnog enterotoksina koji izazivaju klinički i epidemiološki različite forme alimentarne intoksikacije (Karaklašević, 1989).



Slika 8. *Bacillus cereus*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: www.flickr.com); (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: footage.framepool.com)

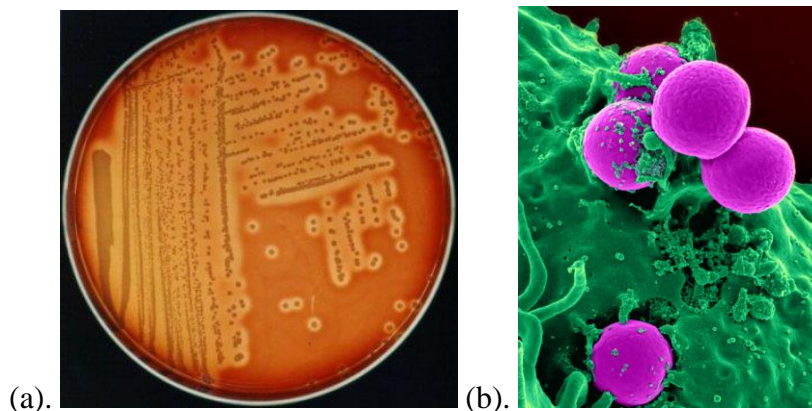
Listeria monocytogenes (Murray) Pirie: To je mala štapičasta bakterija, dimenzija 0,4-0,5 i 0,5-2,0 μm , koja nema kapsulu i ne stvara spore (**Slika 9**). Raste na većini hranljivih podloga u aerobnim ili mikroaerofilnim uslovima. *L. monocytogenes* je izolovana iz sveže hrane i prehrambenih proizvoda, mesa, povrća, morskih plodova i raste i na temperaturi od 4 °C, što

znači da čuvanje hrane u frižideru nema značajno dejstvo na sprečavanju rasta ove bakterije. Kod čoveka može da izazove meningitis, encefalitis ili septikemije kod novorođenčadi (Bille i Doyle, 1991).



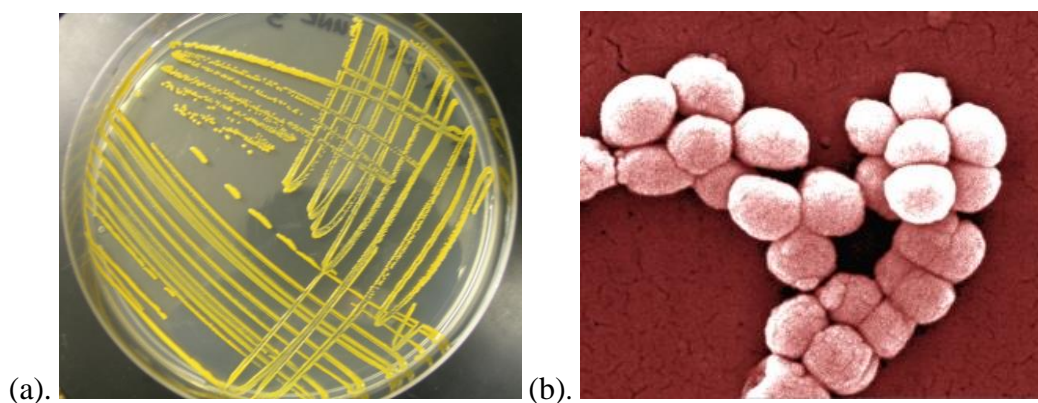
Slika 9. *Listeria monocytogenes*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: atlas.sund.ku.dk); (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: visualsunlimited.photoshelter.com)

Staphylococcus aureus Rosenbach: Stafilokoke su loptastog ili jajolikog oblika, \varnothing 0,8-1,0 μm (Slika 10), raspoređene u nepravilne, grozdaste gomilice. Nepoktete su, ne stvaraju ni spore, ni kapsule. *S. aureus* je aerob ili fakultativni anaerob i obilno se razmnožava na mnogim podlogama. Boja kolonija potiče od pigmenta i obično je zlatno-žuta, ali u tečnim podlogama ne proizvodi pigment već je osrednje zamućuje (Karaklašević, 1989; Mihajlović, 1983). Izolovan je iz nosnih i sluznih kanala i sa kože čoveka i životinja. Medicinski, ovo je najvažnija stafilokoka jer je patogen i izaziva niz kliničkih oboljenja nazvanih jednim imenom stafilokokoze. Tonzilofaringitis, sinusitis, stafilokokni akutni enteritis ili razne epidemiološke bolesti su neke koje su prouzrokovane ovom bakterijom. Relativno su otporne na antibiotike (Karaklašević, 1989).



Slika 10. *Staphylococcus aureus*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: microbitos.wordpress.com); (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: en.wikipedia.org)

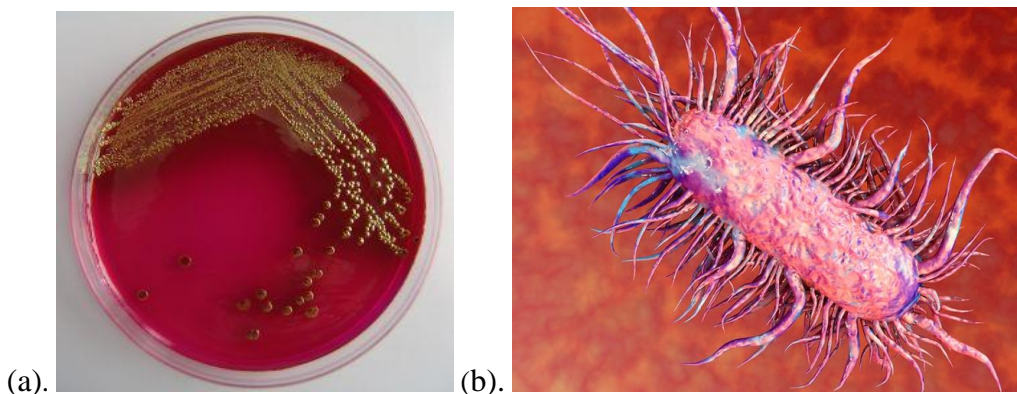
Micrococcus flavus Trevisan: *M. flavus* je asporogena, loptasta bakterija (**Slika 11**), Ø 0,8-0,9 µm. Mikrokoke su u obliku tertada. Kolonija je žute do žuto-braon boje. Raste u aerobnim uslovima, a optimalna temperatura za rast je 25 °C. Može se izolovati sa ljudske kože, sa mesta lučenja žlezda, iz mleka i iz mlečnih proizvoda. Ova vrsta nije patogena za čoveka i životinje, ali je po svojim karakteristikama slična *M. luteus* i zato se dosta koristi u eksperimentima (Breed i sar., 1957).



Slika 11. *Micrococcus luteus*: (a) Izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: betacrumb.com); (b) Bakterijske ćelije pod mikroskopom (izvor: www.gettyimages.com)

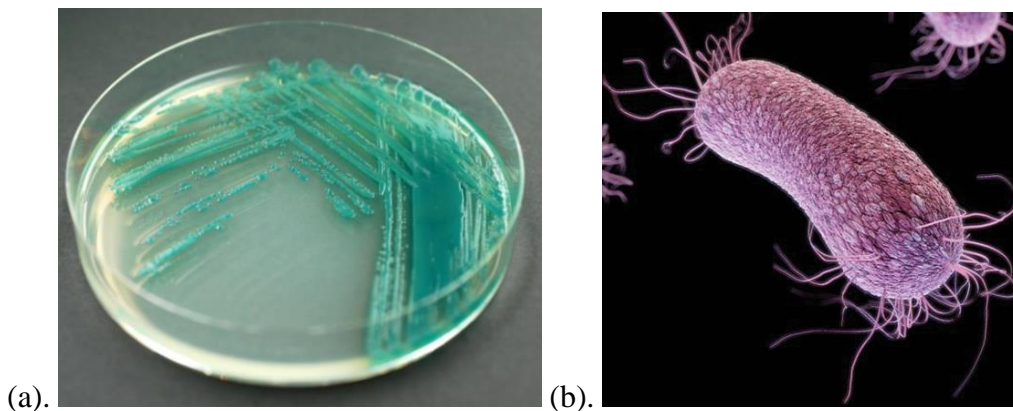
Gram - (-) bakterije

Escherichia coli (Migula) Castellani & Chalmers: To je aerobna i fakultativno anaerobna štapičasta bakterija dimenzija 0,5 x 1,0-3,0 μm . Štapići mogu biti razmešteni pojedinačno, u parovima i nepravilnim skupovima (**Slika 12**). Neki sojevi mogu imati tanku kapsulu. Većina ima peritrihijalne flagele i pokretne su, a mnogi sojevi imaju fimbrije. Kolonije su obično bele ili svetlo-žute boje (Karaklašević, 1989). *E. coli* je univerzalan stanovnik intestinalnog trakta čoveka i toplokrvnih životinja, tj. čini normalnu floru creva u kojima dominira i učestvuje u sintezi vitamina. Sojevi su retko patogeni, uglavnom u situacijama smanjene otpornosti organizma čoveka, tada izazivaju infekcije urinarnog trakta kod starijih osoba i dijareje kod dece i odraslih. *E. coli* je poznata i kao indikator zagađenja namirnica (Breed i sar., 1957; Simić, 1998).



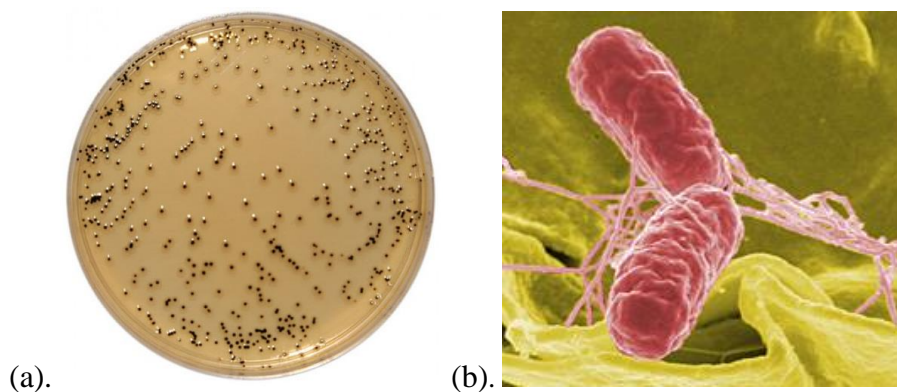
Slika 12: *Escherichia coli*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: www.pinterest.com);
(b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: inhabitat.com)

Pseudomonas aeruginosa (Schroeter) Migula: Striktni aerob, asporogen bacil dukačak 1,5-3,0 μm . Brzo se kreće pomoću monopolarno raspoređenih flagela. Dobro uspeva na svim podlogama (**Slika 13**), a neki sojevi proizvode pigmente koji difunduju u podlogu i njihove boje okružuju kolonije. *P. aeruginosa* je u spoljnoj sredini široko rasprostranjena i izrazito otporna bakterija. Ima brojne faktore virulencije, uključujući celularne komponente, toksine i enzime. Kod čoveka može da izazove različita oboljenja - pseudomonijaza (Breed i sar., 1957; Karaklašević, 1989).



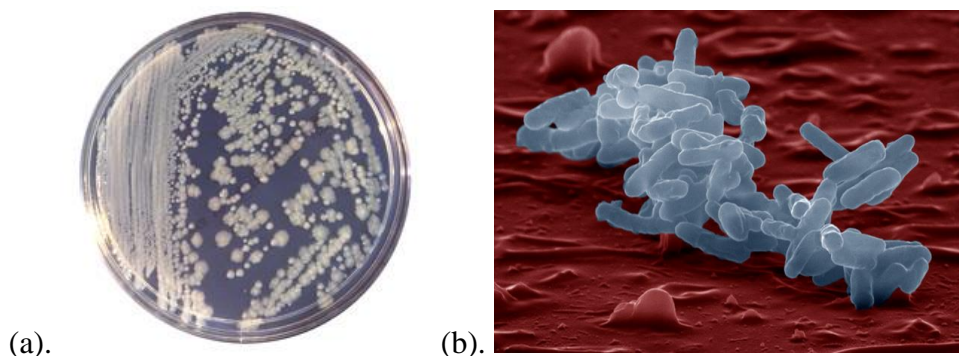
Slika 13. *Pseudomonas aeruginosa*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: www.bilgenltd.com.tr); (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: www.sciencenews.org)

Salmonella typhimurium (Loeffler) Castellani & Chalmers: Štapičasta bakterija dimenzija $0,5 \times 1,0-1,5 \mu\text{m}$, štapići pojedinačno grupisani. Štapići imaju peritrihijalne flagele što ih čini pokretnim. Ne stvaraju spore, ni kapsule. Kolonije su obično sivo-bele, sivkaste ili plavičaste boje (**Slika 14**). Može da opstane u aerobnim i anaerobnim uslovima i na svim podlogama (Breed i sar., 1957). Prirodni je patogen kod svih toplokrvnih životinja, pa i čoveka. Prvi put je izolovana u vreme epidemije mišije groznice. Može da izazove oboljenja među domaćim i divljim životinjama, a i trovanje hranom koja je kontaminirana ovom bakterijom (Breed i sar., 1957; Karakašević, 1989).



Slika 14. *Salmonella typhimurium*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: www.medical-labs.net); (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: enfo.agt.bme.hu)

Enterobacter cloacae Jordan: To su pokretni Gram-negativni štapići, koji imaju peritrihe flagele i kapsulu (**Slika 15**). Ne stvaraju spore. Fakultativni su anaerobi, rastu u jednostavnim medijumima kao što je hranjivi agar, fermentuju glukozu i stvaraju kiselinu i gas. Raste na temperaturi od 30 °C i nalazi se u zemlji, vodi, otpadnom vodama i deo je normalne flore digestivnog trakta ljudi i životinja. Ova bakterija je odgovorna za oboljenja respiratornog i urinarnog trakta, zbog čega se koristi gentamicin kao antibiotska terapija. Najčešće se izoluje iz briseva rana i opekotina kod hospitalizovanih pacijenata (Barnes i sar., 2003; John i sar., 1982).



Slika 15. *Enterobacter cloacae*: (a) izgled kulture na hranljivoj podlozi (izvor: www.gastroscan.ru); (b) bakterijska ćelija pod mikroskopom (izvor: www.motherjones.com)

1.6.1.2. Opšte karakteristike gljiva

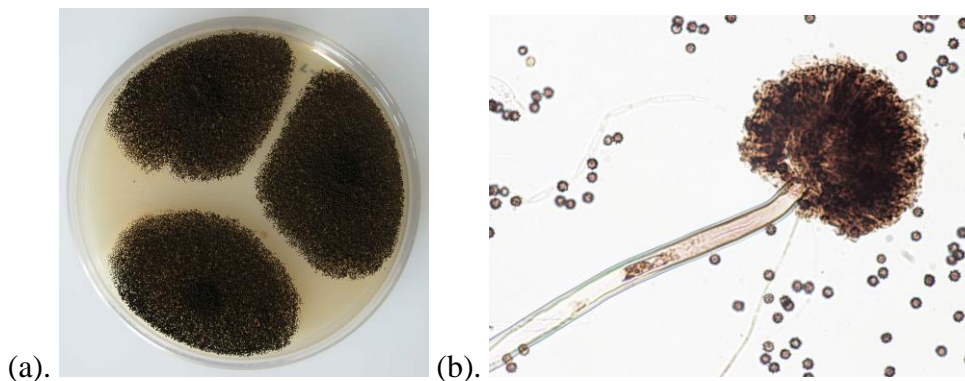
Gljive su bile tretirane kao deo biljnog carstva i kao takve su se izučavale u okviru "nižih biljaka". One se od zelenih biljaka razlikuju nizom karakteristika, počevši od načina ishrane, sastava ćelijskog zida, do hormonalnih sistema i mehanizama reagovanja na svetlost. Tako su gljive sada svrstane u posebno carstvo – carstvo Fungi (latinski) ili Mycota (grčki). Heterotrofni su organizmi, mada ima i malobrojnih hemotrofa. Procenjuje se da postoji oko 1,6 miliona vrsta, a do sada je opisano oko 72.000 vrsta. Radi se o jednoćelijskim ili višećelijskim organizmima, čija vegetativna tela mogu da budu vrlo redukovana, nemicelijska, loptasta (kao kod kvasca) ili končasta tj. micelijska (kao kod plesni). Gljive su tipično nepokretne, ali postoje i pokretne forme (zoospore) kod nekih predstavnika (*Oomycetes*). Kosmopoliti su i mogu da žive kao saprobi i paraziti, a neretko stupaju u simbiotsku zajednicu sa biljkama gde oba učesnika imaju uzajamnu korist. Takođe je značajna njihova uloga u kruženju materije u prirodi tj. razlaganju

organskih jedinjenja. Ćelijski zid gljiva je građen od aminopolisaharida hitina i β -glukana (kod *Oomycetes* ćelijski zid je celulozne prirode). Kod nekih predstavnika zabeleženo je prisustvo pigmenta melanina. Miceliju ili telo gljive grade končasti filamentni ili hife koje se izdužuju apikalnim rastom i granaju se u svim pravcima prekrivajući ili prožimajući supstrat. Hife mogu biti haploidne, dikariotske ili diploidne (Muntanola-Cvetković, 1990; Vukojević, 2000). Optimalan pH za rast i razmnožavanje gljiva je najčešće između 4 i 7 i vrlo često dovode do promena pH vrednosti supstrata. Kada su uslovi nepovoljni, gljive preživljavaju prelaskom u stanje mirovanja ili produkuju spore otporne na sušu. Poseduju aseksualni (somatski tip reprodukcije značajan za brzu kolonizaciju, bez fuzije jedara, kariogamije i mejoze) i seksualni (spajanje jedara i mejoza i nastajanje oospora, zigospora, askospora, bazidiospora) tip reprodukcije. Najčešći vid aseksualnog razmnožavanja je konidijama. Mogu se naći na kopnu, u slatkim, ređe slanim vodama.

Mnogi predstavnici rodova *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* su potencijalni producenti sekundarnih metabolita koji imaju toksično dejstvo na ljude, životinje (mikotoksini) i na biljke (fitotoksini). Opadanje kose, listanje noktiju i druge bolesti su posledica mikoza (dermatomikoza) - bolesti izazvane gljivama (Vukojević, 2000). Smatra da postoji oko 100 vrsta patogenih gljiva za čoveka (Peters i Gilles, 1995) koje izazivaju površinske (superficialne) i sistemske (mikoze unutrašnjih organa) mikoze. Na osnovu kliničke slike, za površinske infekcije je karakteristično da su dugotrajne, nalaze se na površini kože ili u području oko dlaka ili noktiju. Sistemske mikoze nastupaju akutno, ali su po prirodi hronične bolesti celog tela. Izazivaju ih endogeni i egzogeni sojevi gljiva i retke su u Evropi (Muntanola-Cvetković, 1990).

1.6.1.2.1. Opis testiranih gljiva

Aspergillus niger van Tiseghem: Brzorastuća kolonija na različitim supstratima. Na CZA podlozi, na temperaturi 25 °C, kolonija je bela ili žuta sa kompaktnim slojem glavica, koje daju karakterističan izgled koloniji. Konidijalne glavice su mrke, okrugle, radijalne (**Slika 16**).

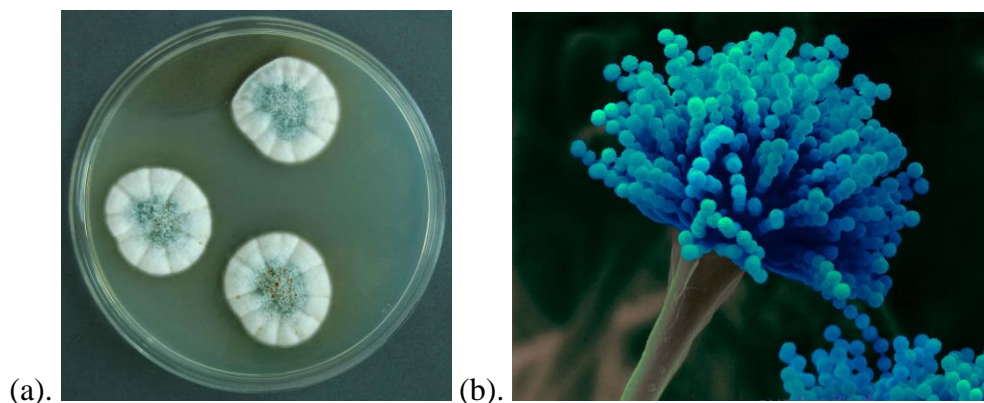


Slika 16. *Aspergillus niger*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: fungi.myspecies.info); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: www.inspq.qc.ca)

Konidiofori dugački, dugi do 3 mm. Sklerocije su kremaste boje. Vrsta je kosmopolitska, veoma se često nalazi u kućnoj prašini, vazduhu, suvim semenima, plodovima, tekstu. Temperaturni opseg za rast je 20-40 °C, optimum razvića je na 37 °C. U produkciji različitih enzima - amilaze i amiloglukozidaze; u produkciji oksalne i fumarične kiseline. Koristi se i prilikom degradacije kompleksnih organskih materijala i otpadaka. Industrijski je veoma važan zato što može da vrši razgradnju plastike i celuloze (Muntanola-Cvetković, 1987). Čest je uzročnik kvarenja hrane, vrlo često inficira meso i jaja. Izazivač infekcija očiju kod ljudi, ako i pojave alergijske reakcije usled inhalacije spora. Produkuje mikotoksine, malformin C, naftokinon koji su veoma toksični (Gravesen i sar., 1994).

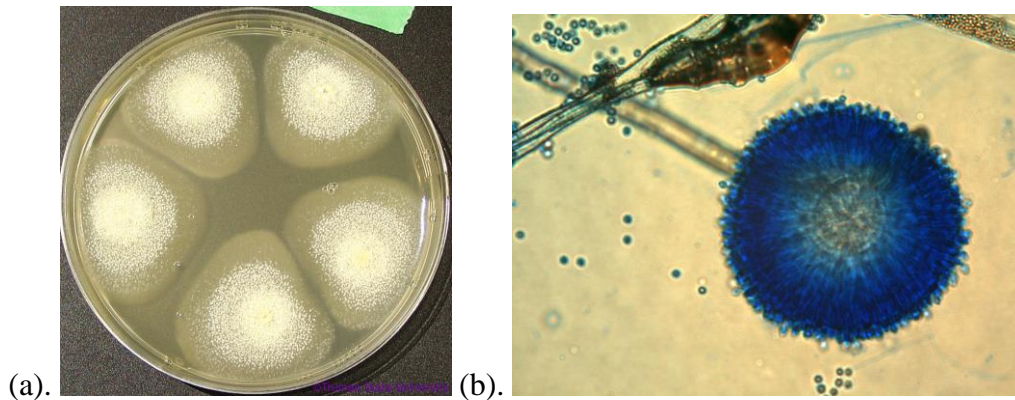
Aspergillus versicolor (Vuill) Tiraboschi: Kolonija na CzA podlozi sporo raste, samo 1-1,5 cm u prečniku za 7 dana pri temperaturi do 25 °C. Boja kolonije je u početku bela, zatim žućkasto-orandž do žuto-zelena, sa ružičastim sektorima, radijalno zonirana. Konidije su okruglaste, bodljaste, 2-3,5 µm u prečniku (**Slika 17**). Sreće se u umerenim i toplim regionima, halofilna je vrsta. Izolovana je sa konzervirane šunke, vlažnog brašna, poliranog i nepoliranog pirinča, a najviše sa sira. Konidije kličaju na minimalnoj vlažnosti vazduha 78% na temperaturi od 4-5 °C. Optimalna temperatura za rast je 22-26 °C, a maksimalna je 40 °C. Može da koristi ugljovodonike iz pogonskog goriva. Produkuje enzime za razgradnju skroba, celuloze, lipida, proteina. Takođe može da transformiše progesteron u testosteron i druge srodne ketone (Muntanola-Cvetković, 1987). Pored drugih vrste mikromiceta indikator je vlage u kućama,

često je izolovana sa vodom oštećenog građevinskog materijala, tapeta. Ova vrsta je odgovorna za biodegradativna oštećenja vojne opreme. Metabolit koji proizvodi, geosmin, je gorkog, oporog mirisa i povezan je sa vlagom u kući, iritira oči i nos. Proizvodi i kancerogene supstance, kao što je npr. sterigmatocistin koji može izazvati ozbiljna oboljenja kod stoke (Gravesen i sar., 1994).



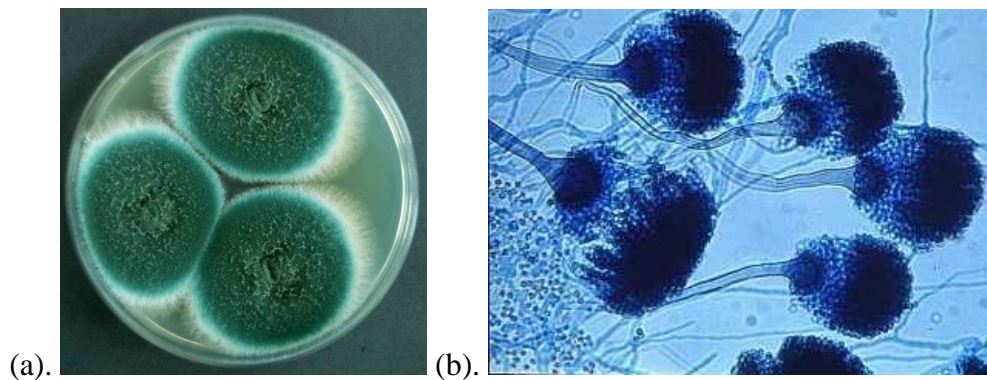
Slika 17. *Aspergillus versicolor*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: fungi.myspecies.info); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: visualsunlimited.photoshelter.com)

Aspergillus ochraceus Wilhelm: Na CzA podlozi kolonija dostiže dijаметar prečnika 2,5-3,5 cm za 7 dana na temperaturi od 25 °C. Konidijalne glavice su oker-žute boje, konidije su okrugle ili eliptične, sa glatkim zidovima (**Slika 18**). Široko je raširena vrsta u tropskim i subtropskim regionima, ali se može naći i u Evropi na različitim tipovima zemljišta. Izolovana je iz vazduha i kućne prašine. Temperaturni opseg za rast je 12-27 °C, a optimum je 27 °C. Koristi se za biološku kontrolu vrsta rodova *Fusarium* i *Verticillium*, degradaciju *n*-alkana i transformaciju sterola. Uzročnik je flekavosti i truljenja drveta, duvana i pamuka. Napada insekte (svilenu bubu). Od mikotoksina proizvodi ohratoksin A koji izaziva kvarenje hrane, oštećenje jetre kod domaćih životinja i ljudi, ksantomignen koji oštećuje bubrege i jetru (Gravesen i sar., 1994; Muntanola-Cvetković, 1987).



Slika 18. *Aspergillus ochraceus*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: show.wnmu.edu); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: www.lookfordiagnosis.com)

Aspergillus fumigatus Fresenius: Kolonije su sivo-plave do zeleno-plave boje, a naličje je belo do svetlo žuto. Konidiofori su od 55-125 μm visine, blago savijeni i završavaju se kupulastom vezikulom koje su samo na gornjoj strani fertile (Slika 19).

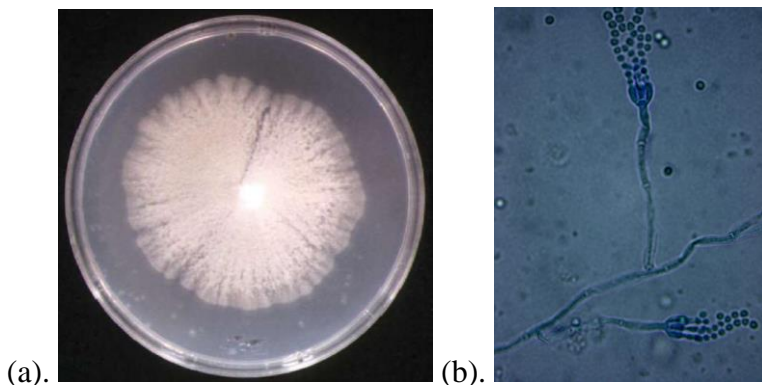


Slika 19. *Aspergillus fumigatus*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: fungi.myspecies.info); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: bioweb.uwlax.edu)

Poseduju samo fjalide, sa obojenim glatkim konidijama, prečnika 2,4-2,7 μm (De Vries i Cormane, 1969). Termofilna je vrsta, raste na 20-50 $^{\circ}\text{C}$. Spore se mogu naći na tlu i u vazduhu tokom cele godine. *A. fumigatus* najčešće izaziva aspergiloze kod ljudi i životinja. Konidije su im alergeni koji izazivaju alergijske reakcije kože i alergijsku astmu. Osobe sa leukemijom i transplantovanom koštanom srži su naročito podložne infekciji ovom gljivom (Washington,

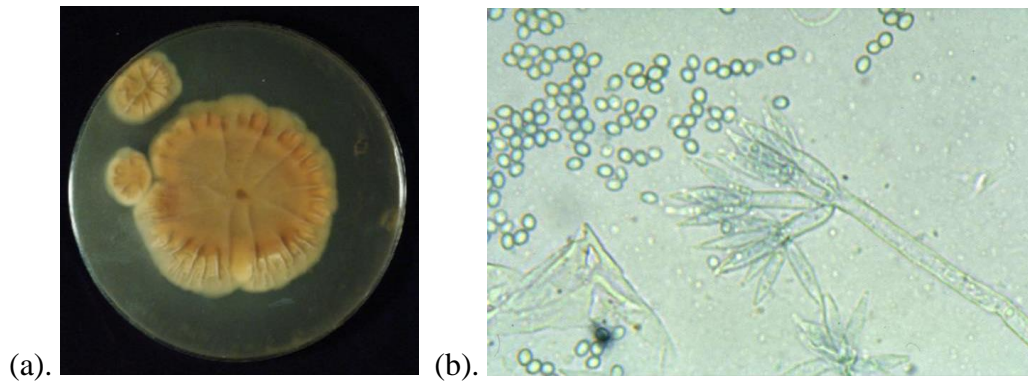
1996). Brzo raste na materijalima nadzvučnih aviona i izaziva njihovu koroziju (Muntanola-Cvetković, 1990).

Penicillium ochrochloron Biourge: Brzo-rastuća kolonija na MA. Micelija je rastresita i somotasta, hife su submerzne. Boja kolonije potiče od konidija koje se razvijaju u ograničenom broju i obično je beličasta do zelenkasto-siva (**Slika 20**). Široko je rasprostranjena vrsta koja je izolovana iz rastvora bakra i poseduje visoku toleranciju na ovaj metal; zatim iz zemljišta i iz fuksinske kiseline sa niskim pH vrednostima. Oštećuje različite materijale, naročito plastiku i tekstil, otporna je prema solima bakra (Muntanola-Cvetković, 1987).



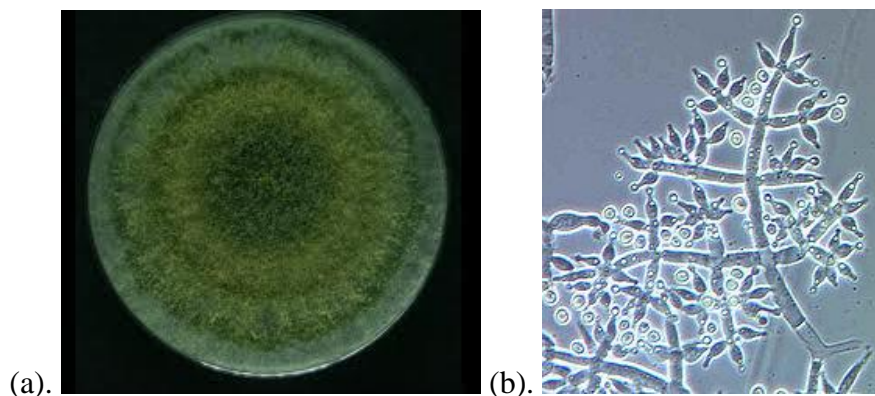
Slika 20. *Penicillium ochrochloron*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: mycota-crcc.mnhn.fr); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: commons.wikimedia.org)

Penicillium funiculosum Thom: Na sobnoj temperaturi kolonija veoma brzo raste na svim podlogama. Boja kolonije varira u zavisnosti od količine vazdušne micelije koja je somotasta, obično je žuto-narandžasta ili crvenkasta sa eksudacijom u vidu bezbojnih ili svetlo obojenih kapi. Naličje kolonije je narandžasto, crvenkasto ili narandžasto-smeđe boje. Konidiofore su uglavnom negranate. Konidije su eliptične ili okrugle, obrazuju dugačke lance (**Slika 21**). Široko je rasprostranjena. Često je izolovana iz zemljišta. Iz ekstrakta ove vrste su izolovana antiviralna jedinjenja - statolon i helenin. Vršiti sintezu celulitičkih enzima. Napada mnoge materijale, naročito tekstil. Produkuje mikotoksine luteoskatin i ciklohlrorin, odgovorne za oštećenje jetre kod eksperimentalnih životinja (Muntanola-Cvetković, 1987).



Slika 21. *Penicillium funiculosum*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: mycota-crcc.mnhn.fr); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: mycota-crcc.mnhn.fr)

Trichoderma viride Pers, ex Fr.: Kolonija široko raste i vrlo brzo, do 7 cm u prečniku, za 5 dana na 25 °C. Boja kolonije je od beličaste, svetlo zelene do tamno-zelene. Konidiofore su uspravne, bezbojne, veoma razgranate (**Slika 22**).

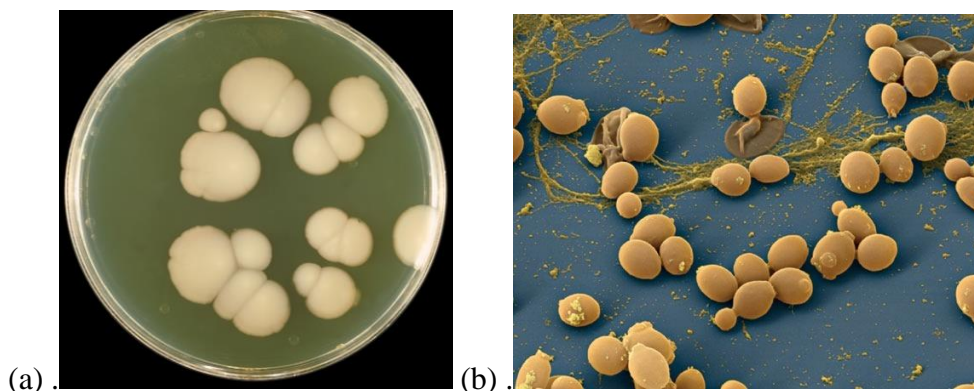


Slika 22. *Trichoderma viride*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor:www.indiamart.com); (b) izgled konidijskog aparata (izvor: en.wikipedia.org)

Konidije su jednoćelijske, loptaste. Rasprostranjena je u zemljištu, panjevima, oborenom drveću. Jedan je od prvih kolonizatora stelje, poseduje veoma jaku celulitičku aktivnost. Nalazi se u vlažnim kućama, na zidovima, pločicama u kuhinji. Izolovana je iz vazduha i kućne prašine. Temperaturni opseg za rast je 6-32 °C, a optimum je 20-28 °C. Otporna je na mnoge antibiotike. Koristi se za proizvodnju celuloze i hemiceluloze. Može da akumulira DDT. Sintetiše supstance

sa antibiotskom aktivnošću, ali su one toksične za sisare. Izaziva nekrozu korena graška, limuna, paradajza i dr. Građevinski materijal oštećen vlagom, celulozni tekstil, plastika i dr. mogu biti kolonizovani ovom vrstom. *Trichoderma viride* izaziva alergiju **tipa 1**. Produkuje mikotoksine trikodermin i trikotoksin A (Gravesen i sar., 1994; Muntanola-Cvetković, 1987).

Candida albicans (Robin) Berhout: *C. albicans* predstavlja najčešću vrstu roda *Candida* koja je izolovana iz usne duplje kako zdravih, tako i bolesnih individua (60-80% slučajeva) (da Silva-Rocha i sar., 2014). Može se naći u kvasolikom obliku (ovalne ćelije – blastospore koje se razmnožavaju pupljenjem), kao izdužene elipsoidne ćelije (pseudohife) i u vidu micelijske forme tj. pravih hifa sa paralelnim zidovima (Jacobsen i sar., 2012) (**Slika 23**). Prelaz iz kvasolike u micelijsku formu i obrnuto (dimorfizam), regulisan je kompleksnom mrežom puteva i prenosom signala kao odgovor na stimuluse iz životne sredine. Većina histoloških preparata pokazuje da je micelijska forma invazivna, dok su izveštaju o invaziji kvasolikih ćelija retki. Dimorfizam je od suštinskog značaja za formiranja biofilma sa drugim vrstama mikroorganizama koji je veoma otporan na tretman antimikrobnim agensima (Molero i sar., 1998).



Slika 23. *Candida albicans*: (a) izgled kolonije na hranjivoj podlozi (izvor: en.wikipedia.org);
(b) izgled konidijskog aparata (izvor: en.wikinoticia.com)

1.6.2. Antimikrobna aktivnost vrsta familje Apiaceae

Poslednjih godina sintetisan je veliki broj različitih antimikrobnih agenasa u cilju lečenja infektivnih bolesti, ali su u razvijenim zemljama brojni sintetički baktericidi i fungicidi zabranjeni zbog visoke toksičnosti, neselektivnog delovanja, dugog perioda degradacije i akumulacije u lancima ishrane (Reddy i sar., 1998; Strange, 1993). Zbog nabrojanih neželjenih efekata kao i zbog razvoja rezistencije mikroorganizama koji su izazivači raznih oboljenja na sintetičke lekove, raste potreba za pronalaženjem novih prirodnih i neškodljivih antimikrobnih agenasa (Dorman i Deans, 2000). Brojne bakterije i gljive su česti uzročnici kvarenja hrane kao i bolesti koje se prenose konzumiranjem inficiranih hranljivih namirnica. Iz tog razloga se poklanja sve veća pažnja primeni prirodnih konzervanasa biljnog porekla u procesu proizvodnje hrane (Pavlović i sar., 2011).

Lekovite i aromatične biljke se najčešće koriste u ishrani zbog poboljšanja arome hrane i kao antimikrobni agensi (Nevas i sar., 2004). U tom kontekstu veoma su važni sekundarni metaboliti biljaka, naročito etarska ulja koja pokazuju antimikrobnu aktivnost. Jačina antimikrobne aktivnosti biljaka zavisi od vrste biljke, biljnog dela ili organa i od vrste mikroorganizma koji se koriste, dok aktivnost etarskih ulja i ekstrakata dodatno zavisi i od njihovog hemijskog sastava kao i primenjene koncentracije (Kalemba i Kunicka, 2003; Ojala, 2001). Jedinjenja izolovana iz biljaka u kombinaciji sa antibioticima često pojačavaju ukupni inhibicioni efekat na testirane mikroorganizme. Mehanizam njihovog zajedničkog delovanja još uvek nije sasvim razjašnjen, ali se veruje da biološki aktivne supstance narušavaju propustljivost citoplazmatičnih membrana i na taj način olakšavaju ulazak antibiotika u lizu ćelije (Stefanović i sar., 2009). Razni kumarini izolovani iz biljaka familje Apiaceae zaslužni su za inhibiciju rasta mikroorganizama. Furanokumarini psoralen i ksantotoksin poseduju antibakterijsko dejstvo u odsustvu UV svetlosti, dok bergapten i izopimpinelin ispoljavaju antimikrobni efekat samo u njegovom prisustvu (Crozier i sar., 2006). U radu Ojala (2001), kumarini izolovani iz vrsta *Aegopodium podagraria*, *Anethum graveolens*, *Angelica archangelica*, *Levisticum officinalis*, *Petroselinum crispum* i *P. palustre* imali su najbolji inhibicioni efekat na rast gljive *Fusarium culmorum*, a jedinjenja skopoletin, umbeliferon, ksantotoksin i hernarin su među njima pokazali najjače dejstvo (Ojala, 2001). U istom radu etanolni ekstrakt *Aegopodium podagraria* L. bio je efektivniji od vodenog i etil-acetatnog ekstrakta protiv 6 bakterija, a bakterija *E. cloaceae* bila je

najosetljivija na njihovo dejstvo. U studiji Dash i sar. (2005), metanolni ekstrakt korena *Heracleum nepalense* je pokazao dobro antibakterijsko dejstvo na 257 Gram - (+) i Gram - (-) bakterija. Sve bakterije bile su osjetljive na dejstvo metanolnog ekstrakta u koncentraciji od 1 mg/mL. Vodeni ekstrakti korena i listova *Alepidea natalensis* i *A. amatymica* ispoljili su visoki antimikrobni efekat na *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* i *C. albicans* (Mulaudzi i sar., 2009). U ispitivanju antibakterijskog potencijala vodenih, etanolnih i etil-acetanih ekstrakata 12 vrsta iz familije Apiaceae, 62,27% ekstrakata inhibiralo je rast bakterija, među kojima su najaktivniji bili ekstrakti vrsta *Torilis anthriscus*, *Heracleum sphondylium*, *Daucus carota* (Brković i sar., 2006).

Antimikrobna aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije štitonoša uglavnom se bazira na fenolnim jedinjenjima koja su kod većine ulja prisutna u velikom procentu (Hu, 2007). Za antimikrobni potencijal fenolnih jedinjenja od najvećeg značaja je lipofilni karakter ugljovodoničnog skeleta i hidrofilni karakter funkcionalnih grupa. Razlika u antimikrobnoj aktivnosti pojedinih komponenata etarskih ulja može se predstaviti na sledeći način: fenoli > aldehidi > ketoni > alkoholi > etri > ugljovodonici (Dorman i Deans, 2000). Etarsko ulje *Carum montanum* koje je bogat izvor notoapiola, pokazalo je jaču antimikrobnu aktivnost u odnosu na ovo fenilpropanoido jedinjenje, a najrezistentnija je bila Gram - (-) bakterija *P. aeruginosa* (Laouer i sar., 2009). U radu Lo Cantore i sar. (2004), etarsko ulje *Coriandrum sativum* imalo je snažnije dejstvo od ulja *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* na sojeve koji su rezistentni na streptomycin među kojima i nekoliko vrsta iz roda *Pseudomonas*. Stojković i sar. (2009) su objavili da je etarsko ulje cvetova vrste *Seseli rigidum* pokazalo jak antimikrobni efekat, pogotovo na *B. subtilis*. Umereno antimikrobno dejstvo imala su etarska ulja *Pimpinella anisetum* i *P. flabellifolia*, a nešto jaču aktivnost pokazalo je etarsko ulje vrste *P. anisetum* (Tepe i sar., 2006). Etarsko ulje *Trachyspermum ammi* (L.) Spraguen i njegove komponente su u količini do 6 μ L pokazali fungicidni efekat na rast gljiva *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme* i *Curvularia lunata*. Zabeležena je jaka inhibitorna aktivnost etarskog ulja vrste *Cuminum cyminum* L. na gljive iz roda *Aspergillus*. Ovo ulje imalo je visoku koncentraciju γ -terpinena i β -pinena za koje je dokazano da poseduju jaku antimikrobnu aktivnost. Etarsko ulje nadzemnog dela *Bupleurum gibraltanicum* Lamarck, koje je bogato sabinenom, α -pinenom i 2,3,4-trimetilbenzaldehydom, ispoljilo je jak antifungalni efekat na *Plasmopara halstedii* (Tabassum i Vidyasagar, 2013). Etarska ulja biljaka *Anethum graveolens* i *Foeniculum vulgare*

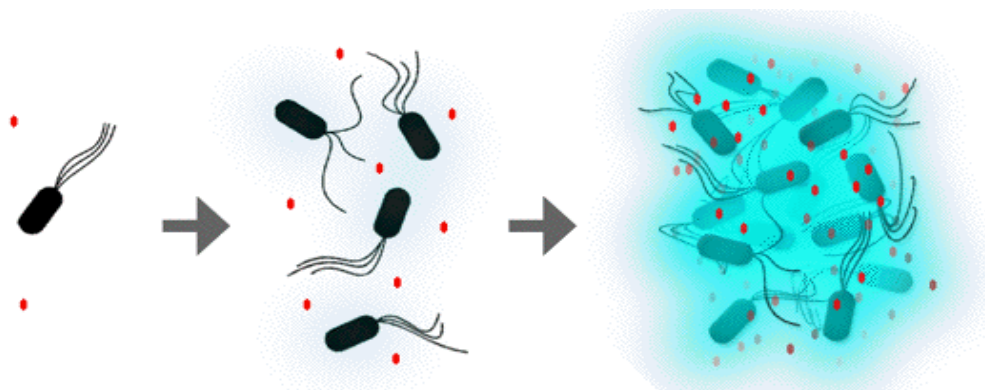
pokazala su značajne antifungalne osobine, s tim da je ulje vrste *F. vulgare* sa velikim udelom *trans*-anetola imalo jače dejstvo na gljive koje su česti izazivači infekcija: *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ustus*, *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium canis*, *M. audouini*, *M. nanum*, *M. gypseum*, *Rhizopus nigricans*, *Trichophyton tonsurans* i *T. violaceum*. U istom radu je etarsko ulje semena *F. vulgare* pokazalo inhibitornu aktivnost na *C. albicans* i *C. tropicalis*, dok etarska ulja korena, listova i stabla nisu imali antifungalno dejstvo.

1.7. Anti-quorum sensing aktivnost

1.7.1. Quorum sensing mehanizam međucelijske komunikacije

Zbog rastuće rezistencije mnogih oportunističkih patogena na sintetičke antibiotike i antimikotike, poslednjih godina javila se potreba za alternativnim načinom suzbijanja infekcija izazvanih ovim mikroorganizmima. Obećavajući pristup u lečenju infektivnih oboljenja temelji se na sposobnosti antimikrobnih agenasa da ograniče ili potpuno blokiraju međucelijski mehanizam quorum sensing (QS) komunikacije infektivnih patogena. Patogenost i veliki broj drugih osobina mikroorganizama koji poseduju ovaj tim komunikacije, nalazi se pod kontrolom ovog sistema. QS komunikacija vrši se pomoću malih signalnih molekula - autoinduktora, a uključuje i regulatorne gene koji kontrolišu bakterijsko ponašanje (rast i otpornost bakterije na stres), ekspresiju virulentnosti (odgovor na promenljive uslove spoljašnje sredine) i povećavaju verovatnoću njenog preživljavanja. Ovaj vid komunikacije zavisi od gustine bakterijske populacije, pri čemu se sinteza i koncentracija autoinduktora povećava sa rastom gustine ćelija u populaciji (Raffa i sar., 2005) (**Slika 24**). Za Gram negativne bakterije kao što je *P. aeruginosa*, karakteristično je da za međucelijsku komunikaciju unutar kolonije koriste N-acil-homoserinske laktone (AHL) kao autoinduktore. Oni se sintetišu pomoću enzima autoinduktor-sintetaze, difunduju u spoljašnju sredinu i vezuju se za receptore na površini ćelije formirajući autoinduktor-receptor kompleks. To pokreće seriju fosforilacija kojima se aktiviraju regulatorni proteini kao transkripcioni faktori za ekspresiju određenih target gena. Gram pozitivne bakterije najčešće poseduju autoinduktore koji su po hemijskom sastavu aminokiseline ili oligopeptidi (AIP) (Koh i sar., 2013; Ng i Bassler, 2009; Schertzer i sar., 2009).

Sve je veća potraga za pronalaženjem jedinjenja, ekstrakata i etarskih ulja biljaka koja poseduju anti-quorum sensing (anti-QS) aktivnost. Smatra se da ovaj pristup ima veliki potencijal jer se blokiranjem signalizacije među bakterijskim ćelijama i slabljenjem njihove virulentnosti, ne nameće selektivni pritisak i razvoj rezistencije (Koh i sar., 2013). Od prvih publikovanih studija o QS sistemu komunikacije (Dong i sar., 2000; Manefield i sar., 1999), načinjeni su znatni koraci u pronalaženju novih QS inhibitornih agenasa izolovanih iz različitih organizama i sredina (Kalia, 2013; Kalia i Purohit, 2011; Koh i sar., 2013).



Slika 24. Međucelijska quorum sensing komunikacija *P. aeruginosa*: ključ aktivacije quorum sensing mehanizma je akumulacija sintetisanih autoinduktora u zatvorenom okruženju kao što je biofilm (Lin i Meighen, 2009)

Kao biomonitoring test-organizami za ispitivanje antikvorum sensing dejstva najčešće se koriste bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i *Chromobacterium violaceum*. *P. aeruginosa* (**Slika 25**) je Gram-negativna oportunistička bakterija koja je, kao uslovni patogen, štetna za domaćina tek nakon dostizanja određene koncentracije ćelija u organizmu koja prevazilazi jačinu imunog sistema domaćina. Ova bakterija se često javlja na raznim površinama u bolnicama i rizičana je za pacijente sa slabim imunitetom (Driscoll i sar., 2007). Poznata je kao intestinalni kolonizator ljudi nakon hospitalizacije, imunosupresije, terapije antibioticima, operacija i teških trauma. Prema epidemiološkim podacima, intestinalna kolonizacija i infekcije ovim bacilom su češće i letalnije kod operisanih pacijenata i pacijenata sa kancerom (Damte i sar., 2013; Markou i Apidianakis, 2014; Sepahi i sar., 2015). *P. aeruginosa* je uzročnik masivnih upala, bronhopneumonije, ulcerativnog keratitisa, septičkog šoka, urinarne, plućne, nozokomijalne,

infekcije rana i mekih tkiva (Lewis i sar., 2002; Markou i Apidianakis, 2014) i koristi brojne virulentne faktore za zaštitu od imunog sistema domaćina (Soković i sar., 2014). Neke od virulentnih determinanti ove bakterije predstavljaju sposobnost formiranja biofilma, pokretljivost, pigmentacija, bioluminiscencija, produkcija toksina, degradativnih enzima i drugih metabolita (Rocha-Estrada i sar., 2010; Singh i sar., 2009; Truchado i sar., 2009). Visoko virulentni sojevi bakterije kao što je PAO1 mogu oštetiti epitelne ćelije i probiti intestinalnu barijeru zahvaljujući sposobnosti kretanja i zahvaljujući adhezivima, virulentnim enzimima i toksinima (Damte i sar., 2013; Markou i Apidianakis, 2014; Sepahi i sar., 2015). Multi-rezistentni sojevi su otporni na terapiju brojnim vrstama antibiotika (Amadi i sar., 2013). Infekcije izazvane *P. aeruginosa* najčešće se tretiraju aminoglikozidnim antibioticima gentamicinom, tobramicinom, monobaktamom i nekim flourokinolonima, dok je lečenje tetraciklinima neuspešno jer je ova bakterija otporna na njihovo dejstvo (Driscoll i sar., 2007).



Slika 25. *Pseudomonas aeruginosa* - skening elektronska (SK) mikrografija (Kunkel, 2007)

C. violaceum je Gram-negativna, fakultativno anaerobna bakterija koja proizvodi antibiotike među kojima je i ljubičasti pigment violacein kao i enzime koji utiču na viruse, bakterijske i eukariotske ćelije. Ova bakterija je kao saprofit, čest stanovnik zemljišta i vode tropskih i subtropskih predela, ali povremeno može postati agresivni oportunistički patogen za ljude i životinje, izazivajući ozbiljne infekcije sa visokom stopom smrtnošću kod imunodeficientnih individua. Po ovakvom ponašanju *C. violaceum* podseća na bacil *P. aeruginosa* (Zinger-Yosovich i sar., 2006). Infekcije ovom bakterijom kod ljudi su vrlo retke, a

glavne kliničke slike su gnojni čirevi jetre kao i sepsa sa čestim fatalnim ishodom. *C. violaceum* je osetljiva na antibiotike karbenicilin, mezlocilin, gentamicin, netilmicin, hloramfenikol, tetraciklin i kotrimoksazol, a otporna na penicilin, ampicilin, cefalosporine, amikacin, tobramicin, kolistin i polimiksin B (Kaufman i sar., 1986). Pošto je produkcija violaceina pod kontrolom QS mehanizma, *C. violaceum* je bitna za testiranje QS signalnih puteva pomoću AHL autoinduktora. Kao indikator organizam, najčešće se koristi mutant *C. violaceum* CV026. Ovi testovi su bitni jer su AHL molekule iz klase furanonskih derivata odgovorne za međuceljsku signalizaciju Gram negativih bakterija i uključene su u produkciju antibiotika, hidrolitičkih egzoenzima, virulentnih faktora i lektina koji doprinose patogenosti ove bakterije. Nezavisno od njihovog kliničkog i farmakološkog značaja, bakterije *P. aeruginosa* i *C. violaceum* doprinose bioremedijaciji životne sredine (Zinger-Yosovich i sar., 2006).

1.7.2. Formiranje biofilma

Poznato je da neke bakterije rastu i razvijaju se u gusto oformljenim zajednicama na biotičkim i abiotičkim površinama formirajući biofilme koji predstavljaju finalni mehanizam zaštite bakterije od imunog sistema domaćina i dejstva antibiotika. Biofilmovi predstavljaju populacije bakterija koje su uronjene u samogenerišući egzopolisaharidni matriks i vezane su za određeni supstrat (Costerton i sar., 1995; Davey i O'Toole, 2000). Tako veći deo biofilma čini voda (95%) i mikroorganizmi koji su uronjeni u biofilm (2-5%), a ostatak je gelasti ekstracelularni polisaharidni matriks (1-2%). Morfološke osobine biofilma omogućavaju bakterijskoj zajednici da poveća sposobnost adhezije za površinu, da formira klastere (grozdove) unutar biofilma, planktonske ćelije, zatim tanak polisaharidni matriks kao i dugačke, dobro hidrirane kanale za neometani protok tečnosti, hranljivih materija i nusproizvoda (Costerton i sar., 1994). Formiranje biofilma mikroorganizama inicirano je stvaranjem mikrokolonija na supstratu (vezivanje), sazrevanjem i daljim širenjem kolonija (disperzija) što ih čini otpornijim infektivnim patogenima (Gutiérrez-Barranquero i sar., 2015). Čitav proces obuhvata nekoliko faza gde prvo dolazi do reverzibilnog pripajanja bakterija za podlogu, pa do ireverzibilne adhezije bakterija pomoću specifičnih adhezina (pili, flagele i površinski proteini), nakon čega sledi faza sazrevanja uz intenzivno umnožavanje i stvaranje ekstracelularnog polisaharidnog matriksa. Na kraju se vrši disperzija izdvajanjem planktonskih ćelija koje napuštaju klastera,

nastanjuju novu podlogu formirajući nove kolonije (žarišta) i na taj način doprinose širenju infekcije (Costerton i sar., 1994; Sauer i sar., 2007).

Formiranje biofilma doprinosi otpornosti bakterije na uobičajene antibiotike i sredstva za dezinfekciju, pa stoga uzrokuje veliki broj problema u lečenju pacijenata i u prehrambenoj industriji (Chmielewski i Frank, 2003; Flemming i Wingender, 2010; Langsrud i sar., 2003; Simoes i sar., 2006; Simoes i Vieira, 2009). Zahvaljujući formiranju biofilma u bolnicama se putem zaraženih uređaja prenose razne infekcije što rezultuje pojavom endokarditisa, cistične fibroze i drugih oboljenja kod pacijenata (Costerton i sar., 1999). Prema Nacionalnom Institutu za zdravlje, 60% humanih infekcija je kod pacijenata povezano sa razvojem biofilma mikroorganizama (Lewis, 2001). Infekcije uzrokovane biofilmom su često asimptomatske ili sa umerenim simptomima, a uzročnik rezistentan na uobičajenu terapiju. Radi smanjenja stope infekcija izazvanih bakterijom *P. aeruginosa*, pacijentima se pripisuje terapija profilaktičkim antibioticima (Reid, 1999). Biofilmovi toliko efikasno štite mikroorganizme da koncentracije antibiotika koje se primenjuju treba uvećati od 100 do 1.000 puta da bi bile efikasne (Costerton i sar., 1994; Høiby i sar., 2011). Uobičajene doze antibiotika nisu delotvorne jer se otpornost višeslojnog biofilma bazira na postojanju ekstracelularnog matriksa kao fizičke barijere, koji redukuje količinu antibiotika koja može da prođe u bakterijsku koloniju, a dodatne prepreke predstavljaju klasteri unutar biofilma kolonije. Takođe, mogu se aktivirati geni čija ekspersija dovodi do sinteze virulentnih faktora koji su pod kontrolom QS sistema (Bassler, 1999; Camara i sar., 2002; Costerton, 1999; Lewis, 2001), kao što su fenazini koji igraju bitnu ulogu u formiranju biofilma i kolonizaciji podloge od strane bakterije *P. aeruginosa* (Lau i sar., 2004; Price-Whelan i sar., 2006) i sposobnost pokretljivosti kolonije što predstavlja multicelularni virulentni marker (Shrout i sar., 2006).

Kao što je dokazano za antibiotike (Goh i sar., 2002; Tsui i sar., 2004; Yim i sar., 2011), tako i metaboliti biljaka u subinhibitornim koncentracijama (subMIK, koncentracije koje ne inhibiraju rast mikroba) imaju sposobnost da modifikuju gensku transkripciju kod bakterija (Amalaradjou i Venkitanarayanan, 2011; Kollanoor-Johny i sar., 2012; Upadhyay i sar., 2012; Upadhyay i sar., 2013; Qiu i sar., 2010), što može biti ključni faktor njihove anti-biofilm aktivnosti. Tako je dokazano da su neka jedinjenja biljnog porekla efikasna u regulaciji formiranja biofilma bakterija *P. aeruginosa* (Chang i sar., 2009; Wu i sar., 2011), *Listeria monocytogenes* (Upadhyay i sar., 2013), *Staphylococcus aureus* (Al-Bakri i sar., 2010; Nostro i

sar., 2007; Nostro i sar., 2009; Nostro i sar., 2012; Walencka i sar., 2007), *Escherichia coli* (Grudniak i sar., 2011; Ren i sar., 2005b) i *Klebsiella pneumoniae* (Derakhshan i sar., 2010). Jedinjenje *trans*-cinamaldehyd smanjuje sintezu biofilma bakterije *P. aeruginosa* bez inhibitornog uticaja na njen rast (Jakobsen i sar., 2012), a isto dejstvo ovog jedinjenja je zabeleženo i na bakterije roda *Salmonella* (Zou i sar., 2012). Slični modulatorni efekti na transkripciju gena, tj. redukciju sinteze biofilma imali su i karvakrol i cinam-aldehyd (Nostro i sar., 2012). Antibiofilm potencijal pokazala su i jedinjenja eugenol (Gomes i sar., 2011) i resveratrol (Sanna i sar., 2012).

1.7.3. Produkcija piocijanina

Bakterija *P. aeruginosa* sintetiše nekoliko pigmenata koji su po strukturi derivati redoks-aktivnog pigmenta fenazina. Među njima su 1-hidroksifenazin, fenazin-1-karboksi-amid, 5-metilfenazin-1-betain karboksilne kiseline, aeroginozin A, kao i značajan plavičasto-zeleni pigment piocijanin. Ovo toksično jedinjenje igra ulogu virulentnog faktora i najodgovorniji je za *in vivo* početak kolonizacije supstrata od strane *P. aeruginosa* kao i nastanka i širenja infekcije uzrokovane ovim patogenom (Dietrich i sar., 2006; El-Fouly i sar., 2015; Stanković-Nedeljković i sar., 2011). Dosadašnja istraživanja su pokazala da su redukcija/potpuna inhibicija biosinteze ovog pigmenta ključne za smanjenje patogenosti bakterije i poboljšanje efikasnosti odbrambenog sistema domaćina (O'Toole et al., 1998b). Toksičnost ovog pigmenta potiče od visokog redoks potencijala koji poseduje, a ćelije *P. aeruginosa* u toku procesa respiracije stvaraju superoksid radikale koji imaju dodatno toksično dejstvo na organizam, pogotovo na epitelne ćelije pluća domaćina (Chin-A-Woeng i sar., 2013; O'Malley i sar., 2003).

1.7.4. Anti-QS agensi

Poslednjih godina otkriće QS antagonista biljnog porekla pokazuje rastući trend. Smatra se da su biljke evolucijom stekle sposobnost sinteze anti-QS molekula kao poseban sistem odbrane od patogenih mikroorganizama. Anti-QS agensi različitim mehanizmima ispoljavaju svoju aktivnost koja podrazumeva remećenje ili prekidanje formiranja biofilma, inhibiciju produkcije toksina i/ili aktivnost na ostale virulentne faktore. Konačan rezultat delovanja agensa

je da je patogen osetljiviji i podložniji dejstvu antibiotika (Khan i sar., 2009; Koh i sar., 2013). Pored brojnih istraživanja o anti-QS aktivnosti različitih aromatičnih, jestivih i lekovitih biljaka, njihovih etarskih ulja i fitojedinjenja, još uvek nije tačno poznat mehanizam njihovog delovanja i traga se za novim delotvornim agensima biljnog porekla.

Poznato je da kumarini kao sekundarni metaboliti iz grupe fenolnih jedinjenja predstavljaju hemijske markere vrsta porodice Apiaceae. Gutiérrez-Barranquero i sar. (2015) su testirali inhibitorno dejstvo jedinjenja kumarina na različite QS fenotipove 10 vrsta bakterija, koji su se međusobno razlikovali u načinu regulisanja QS mehanizma, a najviše je ispitana sposobnost kumarina da inhibira QS signalizaciju putem N-acil-homoserin laktona. U tom radu kumarin je bio aktivan protiv kratkih, srednjih i dugačkih lanaca N-acil-homoserinskih laktona kod različitih biosenzora, a u skladu sa suzbijanjem QS komunikacije, inhibirao je i formiranje biofilma, produkciju fenazina i kretanje bakterije *P. aeruginosa*. Ovo jedinjenje je ispoljilo i inhibitorni efekat na aktivnost enzima proteaze kod drugih patogena i na bioluminiscenciju Gram - (-) bakterije *Aliivibrio fischeri*.

Neka istraživanja su pokazala da biljke mogu da sintetišu enzime koji izazivaju degradaciju autoinduktora (Daniels i sar., 2002), dok druge biljke proizvode jedinjenja koja mogu da oponašaju njihovu aktivnost (Teplitski i sar., 2000). Brojni biljni ekstrakti ispitivani su na posedovanje anti-QS aktivnosti (Adonizio i sar., 2006; Rasmussen i sar., 2005). Persson i sar. (2005) su objavili da toluenski ekstrakt *Allium sativum* L. sadrži jedinjenja sa različitim nivoom inhibitorne QS aktivnosti. Iz vrste *Myristica cinnamomea* King izolovano je jedinjenje malabirakon C koje inhibira QS sistem bakterije *P. aeruginosa* PAO1, dok ekstrakti propolisa redukuju sintezu pigmenta violaceina kao značajnog faktora virulentnosti bakterije *C. violaceum* (Teplitski i sar., 2000). Metanolni ekstrakt *Phyllanthus amarus* L. inhibirao je selektovane QS markere *P. aeruginosa* PAO1 u značajnoj meri. Rastuće koncentracije ovog ekstrakta redukovale su pokretljivost i produkciju piocijanina ove bakterije (Priya i sar., 2013). Neke studije su pokazale da postoji sinergističko dejstvo čvrstih ekstrakata i antibiotika protiv različitih rezistentnih mikroorganizama (Nascimento i sar., 2000; Rasmussen i sar., 2005). Tako je metanolni ekstrakt *Euphorbia macroclada* Boiss antagonista penicilina G i nalidiksične kiseline čija kombinacija pospešuje bakterijski rast preko 100% u odnosu na kontrolu. Nasuprot, inhibicija QS sistema je bila povećana u kombinaciji ovog ekstrakta sa tetraciklinom i opaženo je samo 26,9 % bakterijskog rasta. Ekstrakt *Mentha piperita* L. je takođe suprimirao dejstvo

gentamicina i eritromicina, gde je rast bakterije bio preko 100% u odnosu na kontrolu, ali je u kombinaciji sa tetraciklinom raslo svega 26,1 % bakterijske populacije. Pored ekstrakata i etarska ulja biljaka, poznata po svojoj antimikrobnoj aktivnosti, pokazala su u novijim ispitivanjima ulogu u regulisanju komunikacije među mikroorganizmima (Koh i sar., 2013). Različiti hemotipovi etarskih ulja mogu ispoljiti različito dejstvo kao QS inhibitori. U radu Olivero-Verbel i sar. (2014) se pokazalo da su hemotipovi etarskog ulja *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown bogati geranialom i neralom, odnosno limonenom i karvonom, bili najefikasniji QS inhibitori biosenzora *S. aureus* ATCC 25923 od ukupno pet testiranih hemotipova ulja ove vrste.

1.7.5. Anti-QS aktivnost vrsta familije Apiaceae

Iako je ispitivanje anti-QS osobina biljaka i prirodnih proizvoda doživelo procvat u poslednje vreme, mali je broj radova u kojima su testirane QS inhibitorne sposobnosti predstavnika iz familije Apiaceae. Koh i sar. (2013) su pokazali da furanokumarini kao glavne komponente biljaka iz familije Apiaceae sprečavaju formiranje biofilma bakterija *P. aeruginosa*, *E. coli* i *S. typhimurium*. Fitojedinjenja koja su bila izolovana iz metanolnog ekstrakta semena *Carum copticum* (L.) C. B. Clarke, pokazala su anti-QS potencijal inhibirajući sintezu violaceina *C. violaceum* CV026 (Mohammadrezaei i Ketabchi, 2014). Rezultati koji su dobijeni u prethodnom radu za anti-QS aktivnost 97 metanolnih ekstrakata različitih biljnih vrsta, pokazali su da je metanolni ekstrakt korena *Angelica dahurica* (Fisch.) Benth. & Hook.f. bio među 16 ekstrakata koji su ispoljili aktivnost na *P. aeruginosa* PAO1 i među 4 ekstrakta koji su uticali na *C. violaceum* CV12472 (Damte i sar., 2013). Ova otkrića su potvrđena rezultatima istraživanja autora Chong i sar. (2013) koji su objavili da su ekstrakti *A. dahurica* korena imali anti-QS osobine i inhibirali selektovane *P. aeruginosa* virulentne determinante. Vodeni ekstrakt korena vrste *A. sinensis* ispoljio je anti-QS aktivnost na *P. aeruginosa* PAO1 i *C. violaceum* CV026 bakterije prema rezultatima autora Yeo i Tham (2012). Umereno anti-QS dejstvo opisano je za etanolne ekstrakte korena *Eryngium aquaticum* i *Foeniculum vulgare* Mill (Nagy, 2010). Etarska ulja *Ferula asafoetida* L. i *Dorema aucheri* Boiss. pokazala su aktivnost na *P. aeruginosa*, ali sinteza piocianina i produkcija biofilma nisu bili pod uticajem ulja *D. aucherica* (Sepahi i sar., 2015). U radu Bai i Rai (2014) je pokazano da subinhibitorne koncentracije etarskog ulja *Cuminum cymium* redukuju produkciju pigmenta, pokretljivosti i formiranja biofilma biosenzora

C. violaceum (12472 i CV026) i *P. aeruginosa* PAO1. Svi ova podaci zajedno potkrepljuju upotrebu biljaka kao bogatih izvora anti-QS jedinjenja koja mogu smanjiti virulentnost bakterije i učestalost infekcija izazvanih ovim patogenima.

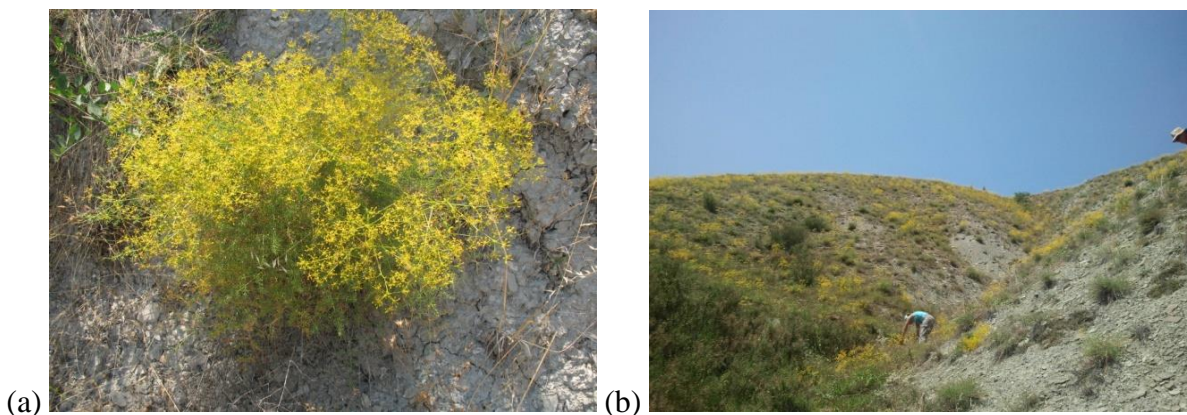
1.8. Opšte karakteristike odabranih vrsta familije Apiaceae

1.8.1. *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer

Morfološke karakteristike: *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer (**Slika 26**) je višegodišnja, zeljasta biljka sa tankim korenom, vertikalnim stablom koje je pršljenasto razgranato, glatko, sa plitkim brazdama, u osnovi sa ostacima uvelih listova. Bazalni listovi su goli, tamno zeleni, sa dugim drškama, trouglasti ili rombični, kožasti i debeli. Terminalni složeni štitovi imaju 8-15 prostih štitova, 5-6 brakteja, širokih i povijenih na dole. Štitici su sa glatkim drškama, sa 5-6 lancetastih brakteola i 10-17 cvetova. Čašični zupci su mali i trouglasti, krunični listići žuti. Plod obrnuto jajast sa tri tanka rebra na leđnoj strani.

Stanište: krečnjačke površine.

Lokalitet: može se naći samo u R. Makedoniji u okolini grada Negotino (**Slika 26**) (Micevski, 2005).



Slika 26. (a) *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer; (b) stanište vrste gde je sakupljen materijal - okolina grada Negotino (foto: K. S. Mileski)

Rod *Ferulago* **W. Koch** obuhvata oko 50 višegodišnjih, zeljastih, široko rasprostranjenih vrsta u Iranu, Turkestanu i oko Jadranskog mora (Cannon, 1968). U R. Makedoniji rastu 4 vrste: *F. galbanifera* (Miller) Koch, *F. sylvatica* (Besser) Reichenb., *F. confusa* Velen., i endemična *F. macedonica* Micevski & Mayer (Micevski, 2005).

Dosadašnja istraživanja: vrste roda *Ferulago* od davnina se koriste kao sredstva za aromatizaciju i kao digestivi; dodaju se kao začini jelima i topljenim mastima radi aromatizacije i sprečavanja njihovog kvarenja i propadanja.

U narodnoj medicini primenjuju se kao sedativi, tonici i u tretmanu intestinalnih rana zbog antiparazitskog dejstva, protiv čireva, ujeda zmija, kod glavobolja i oboljena slezine (Khalighi-Sigaroodi i sar., 2005). U nekim zemljama kao što su Turska i Iran, ekstrakti korenova nekih vrsta roda *Ferulago* koriste se kao afrodizijaci. Njihov miris veoma se ceni u parfimerijskoj industriji, te se koriste u proizvodnji kozmetike, parfema i u medicini kao dezinfekciono sredstvo (Taran i sar., 2010).

Hemijske analize vrsta roda *Ferulago* pokazale su da sadrže kumarine, furanokumarine, poliacetilene, flavonoide, monoterpene, seskviterpene i različita aromatična jedinjenja kao što su fenilpropanoidi (Demirci i Özkan, 2014; Razavi i sar., 2015; Roberto i sar., 1994). Zahvaljujući navedenim sekundarnim metabolitima, vrste ovog roda ispoljavaju veliki broj bioloških aktivnosti. Izolovani kumarini pokazuju antibakterijsku i antioksidativnu aktivnost (Basile sar., 2009). Nađena fenolna jedinjenja (*cis*-, *trans*- β -ocimen, α -, β -pinen, β -germakren, biciklogermakren, germakren D, σ -terpinen, limonen, bornil acetat, mircen, kamfen) mogu preventivno da pomognu kod oboljenja kao što su kancer, kardiovaskularne i nervne bolesti zbog posedovanja antioksidativnih osobina. Takođe mogu da smanje bol kod perfuzijske ishemije (Mirzapour i sar., 2015).

Vrste *F. campestris* (Cecchini i sar., 2010; Maggi i sar., 2009), *F. sandrasica* (Celik i sar., 2013), *F. angulata* (Ameen i sar., 2014; Rafieian-Kopaei i sar., 2014) i *F. galbanifera* (Demirci i sar., 2000) pokazale su značajan antioksidativni efekat i umerenu ili jaku antimikrobnu aktivnost. Etarska ulja vrsta ovog roda ispitivana su sa aspekta antimikrobnog delovanja (Cecchini i sar., 2010; Taran i sar., 2010; Özkan i sar., 2008). Etarsko ulje *F. campestris* se izdvojilo kao agens sa izuzetno jakim delovanjem na klinički izolovane sojeve *C. albicans*, *C. tropicalis* i *C. glabrata*, čime se opravdala istorijska upotreba ove biljke kod kandidijaza i potkrepila upotreba etarskog ulja kao anti-*Candida* agensa na rezistentnije kliničke izolate (Cecchini i sar., 2010).

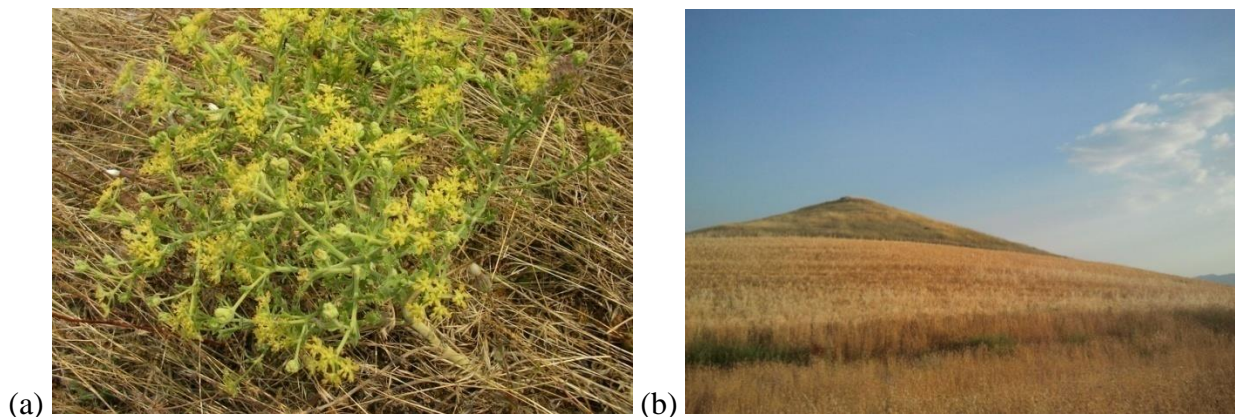
Ekstrakti i izolovana jedinjenja (kumarini, daukan estri, fenolna jedinjenja, poliacetileni) vrsta *F. angulata*, *F. subvelutina* i *F. campestris* pokazali su izvestan stepen sposobnosti inhibicije acetil-holin esterase, što je značajan podatak koji bi mogao doprineti u lečenju Alchajmerove bolesti (Dall'Acqua i sar., 2010; Hajimehdipoor i sar., 2014). Ekstrakti i furanokumarini vrste *F. angulata* mogu se smatrati potencijalnim hemopreventivnim agensima zbog posedovanja citotoksične aktivnosti (Ameen, 2014; Shahneh i sar., 2013a). Slični rezultati dobijeni su za *F. carduchorum*, gde je pored citotoksične, potvrđena i antikandidna i larvicidalna aktivnost (Golfakhrabadi i sar., 2015).

1.8.2. *Echinophora sibthorpiana* L.

Morfološke karakteristike: *Echinophora sibthorpiana* (Guss.) Tutin (**Slika 27**) je višegodišnja zeljasta biljka, visine do 60 cm, sivkasto zelene boje, gusto obrasla kratkim trihomama, sa dugačim i jakim vertikalnim korenom. Stablo je okruglasto, jako, sa uzdužnim brazdama i veoma razgranato. Bazalni listovi imaju kratke drške, jajasti su, asimetrični, nepravilno nazubljeni ili usečeni i sivkasto zeleni. Vršni listovi naizgled eliptični, perasto usečeni, nepravilno nazubljeni. Složeni štitovi sa 4-6 prostih štitova, brakteje kojih ima 4-6 su lancetaste, celog oboda ili sa 2-3 zupca na vrhu. Štitići su sa 10-12 cvetova. Brakteole su različitih veličina, lancetaste, ima ih 6 i po sazrevanju plodova zadebljavaju, spajaju se sa vrhom drške štitića i postaju bodljikavi. Unutrašnji cvet je dvopolan, a spoljašni su muški. Kod spoljašnjih cvetova, dva spoljašnja čašična listića su veći, lancetasti, dok su tri unutrašnja jako mala, skoro neprimetna. Krunični listići su žuti i dlakavi. Plod je loptast, obrastao dlakama i do polovine je srastao sa razraslom cvetnom ložom.

Stanište: može se naći na brdskim livadama, međama i zaslanjenim površinama.

Lokalitet: u R. Makedoniji može se naći na teritoriju i u okolini gradova Veles (**Slika 27**), Štip, Radoviš i Gevgelija (Micevski, 2005).



Slika 27. (a) *Echinophora sibthorpiana* (Guss.) Tutin; (b) lokalitet na kome je sakupljen materijal *E. sibthorpiana* - okolina grada Veles (foto: K. S. Mileski)

U Evropi rod *Echinophora* L. obuhvata dve vrste: *E. spinosa* L. i *E. tenuifolia* L., rasprostranjene od Mediteranskog regiona do Krita i Krima. *E. tenuifolia* ima dve podvrste: subsp. *tenuifolia* i subsp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin (Tutin, 1968). Po najnovijim literaturnim podacima, poslednja podvrsta predstavlja zasebnu vrstu *Echinophora sibthorpiana* Guss. (Micevski, 2005).

Dosadašnja istraživanja: *E. sibthorpiana* poznata i kao tarana koristi se u Turskoj kao začim i agens za aromatizaciju u pripremi hrane - turšije, mesa, mlečnih proizvoda i tarane, jednog od najstarijih tradicionalnih turskih jela od žitarica. Ova biljka ima jako prijatnu aromu i stimuliše fermentaciju jela delujući na bakterije mlečne kiseline i na kvasac *Saccharomyces cerevisiae*. Deluje kao antifungicid i u narodnoj medicini se primenjuje za lečenje rana i čira na želucu (Başer i sar., 1998; Deghirmencioghlu i sar., 2005; Gurbuza i sar., 2010; Ozdemira i sar., 2007). Pored toga, tradicionalno se koristi kao digestiv i protiv spazma (Cakilcioglu i Turkoglu, 2010), a od davnina se semena i koren ove vrste efikasno primenjuju u tretmanu epilepsije (Eadie, 2004).

Glavne komponente etarkog ulja ove vrste su α -felandren i metil-eugenol (Ahmad i sar., 1999; Başer i sar., 1994; Başer i sar., 1998; Gokbulut i sar., 2013), a glavni fitokonstituenti ekstrakata *E. platyloba* su fitosteroli stigmasterol, sitosterol, stigmasterol- β -D-glikozid i šećer saharoza (Valizadeh i sar., 2014). Fitosteroli su sterolna jedinjenja koja se mogu naći u nepolarnim ekstraktima biljaka. Do danas je iz viših biljka izolovano oko 250 prirodnih sterola.

Funkcija fitosterola u biljkama je primarno vezana za njihovu sposobnost da utiču na fluidnost i permeabilnost membrane. Takođe, u biljkama igraju ulogu biljnih hormona i hormonskih prekursora. Fitosteroli su molekuli koji su strukturno slični holesterolu i u jestivim biljkama i u drugim namirnicama identifikovani su kao prirodni holesterol-redukujući agensi. Prethodna studija je pokazala da se terapijski efekat fitosterila u snižavanju koncentracije holesterola postiže samo pri upotrebi većih količina u toku dana (od 10-20g na 24 h) (Milovanović i sar., 2009; Yankah i Jones, 2001a; Yankah i Jones., 2001b)

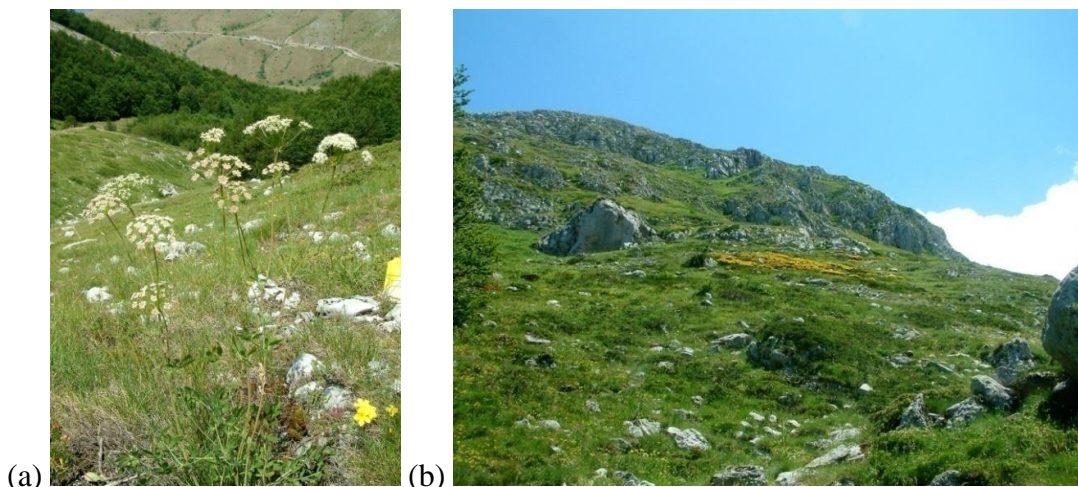
Vrste ovog roda su u *in vitro* eksperimentima pokazale niz bioloških aktivnosti: antioksidativnu (Gholivand i sar., 2011; Gokbulut i sar., 2013; Saei-Dehkordi i sar., 2012), antimikrobnu (Avijgan i sar., 2006; Avijgan i sar., 2012; Delaram i sar., 2011; Entezari i sar., 2009; Sharafati-chaeshtori i sar., 2012; Youse i sar., 2012) i antikancerogenu (Shahneh i sar., 2013b). Nađeno je da deluju kod dismenoreje (Delaram i Sadeghiyan, 2010), kao potencijalni biopesticidi (Evergetis i sar., 2013) i repelenti (Ali i sar., 2015). Etarska ulja nadzemnih delova i plodova *E. spinosa* kao i njihove glavne komponente (α -pinene, α -felandren) ispoljavaju citotoksičnu akitivnost (Fraternale i sar., 2013). Ulje vrste *E. platyloba* ispoljavalo je vremenski i dozno zavisno citotoksično i apoptotsko dejstvo (Shahneh i sar., 2014), kao i jaku *in vivo* hepatoprotektivnu aktivnost i ovi efekti se mogu primeniti kod akutnih acetaminofen-indukovanih oštećenja jetre (Heidarian i sar., 2014). Ekstrakti vrste *E. cinerea* imali su značajne imunomodulatorne efekte na tretirane limfocite, pokazujući veliki stepen redukcije ćelijske proliferacije (Amirghofran i sar., 2009).

1.8.3. *Laserpitium ochridanum* Micevski

Morfološke karakteristike: Laserpitium ochridanum Micevski (**Slika 28**) je retka i endemična, višegodišnja zeljasta biljka, visoka 40-60 cm. Stablo je verikalno, golo, sa uskim brazdama, u osnovi sa raspalim listovima, a u gornjem delu slabo razgranato. Listovi na kratkim drškama, dvojno ili trojno perasto usečeni, kožasti, lancetasti do široko lancetasti. Složeni štitovi sa 16-25 štitica, 6-8 lancetastih brakteja, povijenih nadole. Prosti štitiovi sa velikim brojem cvetova, sa belim kruničnim listićima i 5-8 široko lancetastih brakteola. Plodovi duguljasti.

Stanište: krečnjački kamenjari, 1.600-2.000 m n.v.

Lokalitet: R. Makedonija, nacionalni park planina Galičica (**Slika 28**) (Micevski, 2005).



Slika 28. (a) *Laserpitium ochridanum* Micevski; (b) prirodno stanište vrste *L. ochridanum* - nacionalni park pl. Galičica (foto: K. S. Mileski)

Rod *Laserpitium* L. obuhvata 30, uglavnom dvogodišnjih i višegodišnjih, zeljastih vrsta, široko rasprostranjenih od Kanarskih ostrva do Irana i Sibira (Nikolić, 1973; Tutin, 1968). U R. Makedoniji rastu 4 vrste: *L. archangelica* Wulfen in Jacq., *L. zernyi* Hayek, *L. garganicum* (Ten.) Bertol. i *L. ochridanum* Micevski (Micevski, 2005).

Dosadašnja istraživanja: Široko rasprostranjene vrste *Laserpitium* roda kao što su *L. siler*, *L. latifolium* koriste se tradicionalno u Europi kao biljni diuretici, u lečenju zubobolje, gastrointestinalnih oboljenja, disfunkcije srca i jetre, plućne tuberkuloze, reumatizma i lokalno kod pruričnih dermatosa. Upotrebljavaju se kao tonici za jačanje snage, kod poremećaja sna i teškog oblika depresije (Chen i sar., 2015; Lechner i sar., 2006).

Vrste ovog roda bogate su seskviterpenskimi laktonima (Appendino i sar., 1993; Appendino i sar., 1987; Đermanović i sar., 1996). Laktoni iz grupe gvajanolida karakteristični su za *L. ochridanum* (Popović i sar. 2013a). Velika koncentracija aromatičnih jedinjenja, seskviterpenskih laktona i fitosterola je karakteristična za vrstu *L. latifolium* koja ima značajnu tradicionalno lekovitu vrednost (Đermanović i sar., 1996; Milovanović i sar., 2009). Etarsko ulje ove vrste bogato je monoterpenskimi ugljovodonicima (Popović i sar., 2015a) koji su prisutni u

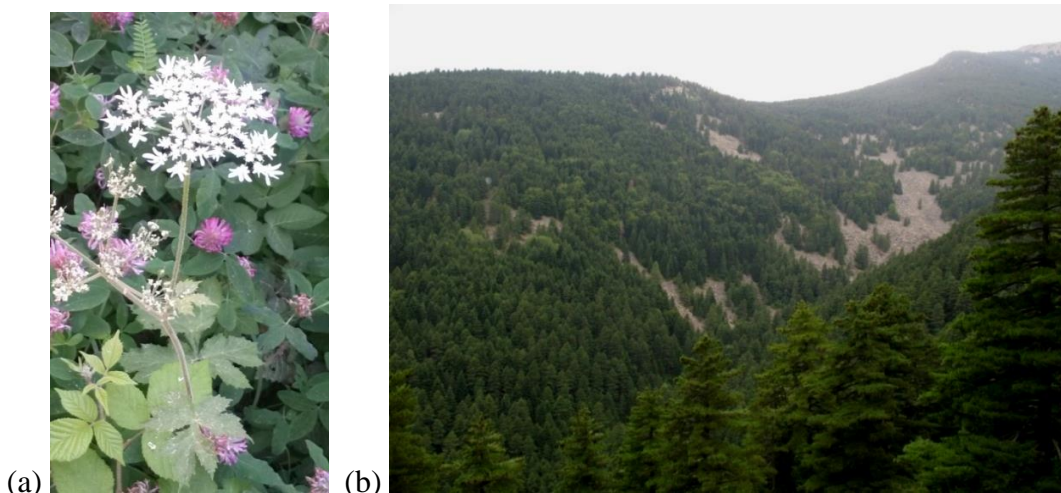
etarskim uljima drugih predstavnika roda *Laserpitium* (Chizzola i sar., 1999; Chizzola, 2007; Petrović i sar., 2009; Popović i sar., 2010, 2014, 2015a; Tirillini i sar., 2009). Literaturni podaci pokazuju da vrste ovog roda poseduju antibakterijsku, antifungalnu, citotoksičnu, antiedematoznu, antikancerogenu i antinociceptivnu aktivnost (Petrović i sar., 2009; Popović i sar., 2010, 2013a,b, 2014, 2015a,b; Tirillini i sar., 2009). Antimikrobni potencijal etarskih ulja, ekstrakata i izolovanih sekundarnih metabolita *L. ochridanum*, *L. latifolium* i *L. zerny* bio je veći od dobijenih vrednosti za timol i flukonazol. Ekstrakt i izolovana jedinjenja vrste *L. latifolium* pokazali su najjače antimikrobno delovanje. Svi testirani uzorci imali su jaku antibiofilm aktivnost u redukciji sinteze biofilma kliničkih izolata *C. albicans* i *C. krusei* (Popović i sar., 2015a,b). Pokazalo se da je ekstrakt vrste *L. ochridanum* potentan anticitotoksični agens, dok su citotoksična i antiproliferativna aktivnost ekstrakta *L. latifolium* i izolovanih jedinjenja bila dozno zavisna (Popović i sar., 2013a,b).

1.8.4. *Heracleum orphanidis* Boiss.

Morfološke karakteristike: *Heracleum orphanidis* Boiss. (**Slika 29**) je dvogodišnja ili višegodišnja biljka, visoka do 50 cm, endemična za Balkansko poluostrvo. Stablo sa uzdužnim brazdama, nerazgranato ili slabo razgranato u gornjem delu, golo ili sa retkim žlezdanim dlakama. Listovi su sedeći, donji listovi su trodelni, sa obe strane pokriveni retkim kratkim, mekanim dlakama. Štitovi sa 6-11 štitića, jednom braktejom, 1-3 končaste brakteole. Drške štitića obrasle žlezdanim dlakama. Čašični listići mali, u vidu trouglastih kosih zubaca. Krunični listići beli, spoljašni dosta veći i skoro do pola usečeni na dva jednaka dela. Plod široko obrnuto jajast, sa tankim rebrima.

Stanište: pojas četinarskih šuma (molika i planinski bor), subalpska pasišta, silikatna podloga.

Lokalitet: u R. Makedoniji se može naći samo u nacionalnom parku planini Pelister na 1400-2000 m n.v. (**Slika 29**) i u okolini Jakupica-Šašovica (Micevski, 2005).



Slika 29. (a) *Heracleum orphanidis* Boiss; (b) prirodno stanište vrste *H. orphanidis* odakle je sakupljen materijal - nacionalni park pl. Pelister (foto: K. S. Mileski)

Rod *Heracleum* L. koji obuhvata 70 široko rasprostranjenih dvogodišnjih ili višegodišnjih zeljastih vrsta u severnoj hemisferi, pretežno Evroaziji. U Makedoniji, rod *Heracleum* obuhvata dve vrste: *H. sphondylium* L. i *H. orphanidis* Boiss. (Micevski, 2005; Nikolić, 1973; Tutin, 1968).

Dosadašnja istraživanja: Vrste roda *Heracleum* tradicionalno se primenjuju kao antipiretici, analgetici i dijaforetici. Zbog njihovih karminativnih, antiseptičkih i analgetičkih svojstava koriste se kao začini, dodaci hrani i za pravljenje likera (Amin, 2008; Firuzi i sar., 2010; Taniguchi i sar., 2005). U Francuskoj se koristi za pravljenje likera, a u nekim azijskim zemljama kao hrana (Işcan i sar., 2003). *H. candicans* upotrebljava se u indijskoj narodnoj medicini kao afrodizijak, nervni tonik i u tretmanu kožnih oboljenja (Nath i sar., 1961a). *H. maximum* se koristi protiv respiratornih oboljenja, uključujući i tuberkulozu (O'Neill i sar., 2013). *H. sprengianum* je delotvoran u lečenju loše probave, opekotina, kožnih oboljenja i eksternih tumora (Heywood, 1971). *H. sphondylium* reguliše menstrualne probleme, visoki krvni pritisak, dispepsiju i dijareju (Baytop, 1994). Glavna grupa jedinjenja etarskih ulja vrsta roda *Heracleum* predstavljaju alifatični estri i alkoholi i terpenoidi (Habibi i sar., 2010; Karruppusamy i Muthuraja, 2011; Subbiah i Muthuraja, 2011; Tosun i sar., 2008; Özek i sar., 2005). Ekstrakti se karakterišu prisustvom furanokumarina, furokumarinskih dimera, kumarinskih glikozida,

antrakinona, stilbena i alkaloida (Dincel i sar., 2013; Liu i sar., 2006; Rawat i sar., 2013; Singh i sar., 2007).

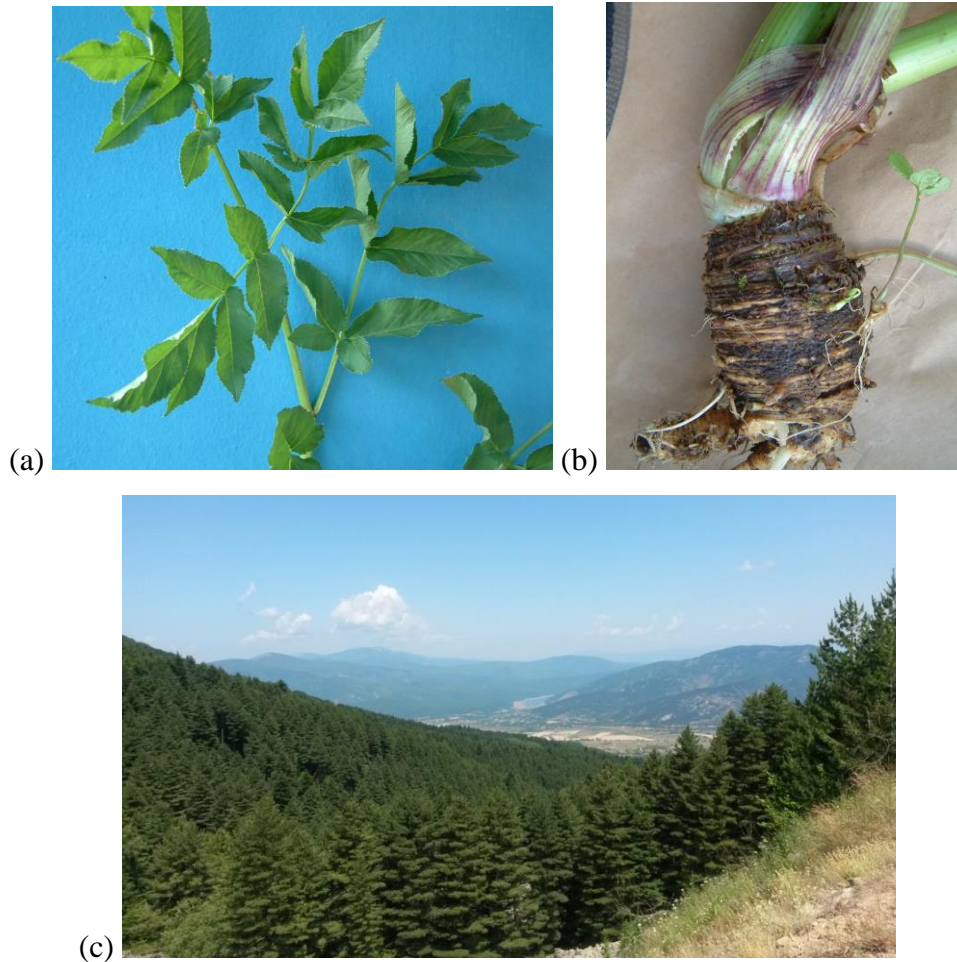
Literaturni podaci potvrđuju brojne biološke aktivnosti vrsta roda *Heracleum*. Hajhashemi i sar. (2009) su ustanovili da *H. persicum* pokazuje antinociceptivni i anti-inflamatorni efekat u redukciji bola i inflamacije, na taj način podržavajući tradicionalnu primenu ove biljke. Potvrđene su i imunomodulatorna, antikonvulzivna i jaka citotoksična aktivnost ove vrste (Sayyah i sar., 2005; Sharififar i sar., 2009a,b), a može se smatrati i potencijalnim glutation-S-transferaza inhibitorom (Çoruh i sar. 2007). Firuzi i sar. (2010) su demonstrirali umerenu antioksidativnu, antimikrobnu, antitumorsku i citotoksičnu aktivnost *H. persicum*, *H. transcaucasicum*, *H. pastinacifolium* i *H. rechingeri*. Ekstrakti *H. nepalense* pokazuju jako *in vitro* i *in vivo* antioksidativno kao i antimikrobno dejstvo i imaju stimulatívni efekat na imuni sistem (Dash i sar., 2005, 2006). Veliki antimikrobni potencijal konstatovan je za *H. sphondylium* (Brković i sar., 2006), dok su druge vrste roda *Heracleum* pokazale anti-inflamatorne, analgetčke, antikancerogene i imunomodulatorne osobine (Hajhashemi i sar., 2009; Jagannath i sar., 2012; Sayyah i sar., 2005).

1.8.5. *Angelica pancicii* Vandas ex Velen.

Morfološke karakteristike: Angelica pancicii Vandas ex Velen. (**Slika 30**) (Syn.: *A. brachyradiata* Freyn subsp. *pancicii* (Vand.) Hayek (Micevski, 2005); *A. brachiradiata* Syn.: *A. sylvestris* L. (Cannon, 1968)) je višegodišnja, zeljasta biljka, visoka do 2 m. Stablo je šuple sa plitkim brazada, gornji deo jako razgranat i obrastao trihomama, dok je donji deo stabla go. Listovi su dvojno ili trojno perasto deljeni, sedeći ili sa kratkim drškama, po obodu sa nepravilnim zupcima, najčešće goli. Štitovi imaju 40-90 štitica. Brakteje odsustvuju ili ih ima 1-4. Drške štitica su gusto obrasle kratkim trihomama i u osnovi imaju 5-12 lancetastih, zašiljenih brakteola. Čašični listići redukovani, krunični beli ili blede roze boje, povijeni ka unutrašnjosti. Plod je široko eliptičan, bočna rebra sa krilastim izraštajima. Kao Balkanski endemit, raste u Makedoniji i u Bugarskoj gde je i u uvršćena je u Crvenu knjigu Bugarske u kategoriju retkih vrsta (Peev i sar., 1993; Yankova i Cherneva, 2007; Andreev, 1984).

Stanište: može se naći na vlažnim mestima, pored planinskih potoka i rečica, na nadmorskoj visini od 1.100-2.000 m.

Lokalitet: u R. Makedoniji na planinama Pelister (**Slika 30**) i Karadžica, gornja Radika, Mavrovska Reka (Micevski, 2005).



Slika 30. (a) *Angelica pancicii* Vandas ex Velen list; (b) koren; (c) prirodno stanište vrste *A. pancicii* odakle je sakupljen materijal - nacionalni park pl. Pelister (foto: K. S. Mileski)

Rod *Angelica* L. sadrži oko 50 visokih, dvogodišnjih ili višegodišnjih vrsta, koje se javljaju u umerenoj i subartičkoj temperaturnoj zoni severne hemisfere na teritoriji Azije, Evrope i Severne Amerike (Micevski, 2005; Nikolić, 1973). U R. Makedoniji mogu se naći *Angelica pancicii* Vandas ex Velen., *A. palustris* (Besser.) Hoffm. i *A. sylvestris* L. (Cannon, 1968; Micevski, 2005).

Dosadašnja istraživanja: Mnoge vrste roda *Angelica* imaju reputaciju moćnih biljaka jer se koriste od davnina u kulturi Dalekog istoka i ostalih delova zapadnog sveta. Tako je

domorodačka populacija severne Skandinavijem - Sami koristila vrstu *A. archangelica* kao delikates i kao lekovito sredstvo (Kylín, 2010). Neke vrste ovog roda imaju jak, oštar i opor ukus, dok se druge koriste u kandiranom obliku kao dekoracija i za aromatizaciju slatkiša, pa se stoga dijabetičarima preporučuje da izbegavaju upotrebu ovih biljaka zbog visokog sadržaja polisaharida. Listovi i koren nekih vrsta koriste se u kulinarsvu za pravljenje čaja, kao povrće u ishrani i za aromatizaciju napitaka kao što su vermut, šartrez i džin. Jako isparljivo etarsko ulje koje se nalazi u celoj biljci, pogotovo u korenu i efikasno je u jačanju organizma, deluje kao stimulans, digestiv i ekspektorans, a može se koristiti kod anemije, nadutosti, bronhitisa i zapalenja pluća. Ono takođe podstiče izbacivanje tečnosti i toksina i koristi se u terapiji alkoholizma jer se pokazalo da smanjuje želju za konzumiranjem alkohola (Graland, 2004).

Aktivni principi izolovani iz ekstrakata ovih vrsta su kumarini, poliacetileni, halkoni, seskviterpeni i polisaharidi (Sarker i Nahar, 2004), dok su monoterpenski ugljovodonici pored ftalida i laktona dominantna jedinjenja etarskih ulja (Agnihotri i sar., 2004; Purohit i sar., 2015; Tabanca i sar., 2008). U etarskom ulju *A. panicii* identifikovan je najveći procenat jedinjenja iz grupe monoterpenskih ugljovodonika (Simonović i sar., 2014). Vrste ovog roda kao što su *A. archangelica*, *A. acutiloba*, *A. atropurpurea*, *A. dahurica*, *A. japonica*, *A. glauca*, *A. gigas*, *A. koreana*, *A. sinensis*, *A. sylvestris* i druge, tradicionalno se koriste jer poseduju niz bioloških i farmakoloških aktivnosti: anti-inflamatornu, diuretičnu, ekspektorantnu i dijaforetičku aktivnost. Koriste se kao lekovi u tretmanu prehlada, groznice, kašlja, gripa, glavobolje, hepatitisa, artritisa, problema sa varenjem, hroničnog bronhitisa, pleuritisa, tifusa, grčeva, kinetoze, reumatizma, infekcija i bolesti urinarnog trakta (Chen i sar., 2004; Chong i sar., 2013; Circosta i sar., 2006; Kang i sar., 2001; Lechner i sar., 2004; Roh i Shin, 2014; Sarker i Nahar, 2004; Sigurdsson i sar., 2005a,b; Tabanca i sar., 2008; Wedge i sar., 2009). Za vrstu *A. sylvestris* zabeleženo je da poseduje antimikrobne, spazmolitičke, analgetičke, diuretičke, antiproliferativne, insekticidne i citotoksične osobine (Brković i sar., 2006; Dzhuneva i sar. 2008; Lobiuc i sar. 2012). Novija istraživanja su pokazala da ekstrakti korena *A. dahurica* (Chong i sar., 2013; Damte i sar., 2013) i *A. sinensis* (Yeo i Tham, 2012) poseduju anti-quorum sensing aktivnost u testovima sa oportunističkim patogenima kao što je *P. aeruginosa* PAO1.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Brojne vrste porodice Apiaceae su poznate kao aromatične i lekovite biljke zbog prisustva velikog broja biološki aktivnih jedinjenja. Uprkos rasprostranjenoj upotrebi srodnih predstavnika u tradicionalnoj medicini širom sveta, vrste koje su ispitivane u ovom radu su delimično ili potpuno neistražene. S tim u vezi, cilj ovog istraživanja bio je hemijska karakterizacija etarskih ulja i ekstrakata odabranih retnih i endemičnih vrsta, kao i izolovanje jedinjenja iz vrste *A. pancicii*. Osnovni zadatak ovog rada bio je i određivanje bioloških aktivnosti ispitivanih vrsta: antioksidativnog, antimikrobnog i anti-quorum sensing dejstva. Vrste *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii* do sada nisu testirane u pogledu njihove potencijalne biološke aktivnosti.

Osnovni ciljevi ove doktorske disertacije mogu se predstaviti u nekoliko teza:

- ▶ Kvantitativna i kvalitativna analiza hemijskog sastava etarskih ulja odabranih vrsta biljaka korišćenjem GC-FID i GC-MS tehnika;
- ▶ Hemijska karakterizacija metanolnih ekstrakata ispitivanih vrsta korišćenjem HPLC-DAD/ESI-ToF-MS sistema;
- ▶ Izolovanje i strukturna karakterizacija sekundarnih metabolita iz grupe kumarina i hromona iz ekstrakata korena *A. pancicii*;
- ▶ Utvrđivanje potencijala ispitivanih vrsta kao antioksidativnih agenasa upotrebom različitih *in vitro* testova (DPPH, ABTS i β -karoten/linolna kiselina test);
- ▶ Spektrofotometrijska kvantifikacija ukupnog sadržaja fenola i flavonoida u testiranim ekstraktima odabranih vrsta;
- ▶ Ispitivanje antimikrobnog (antibakterijskog i antifungalnog) potencijala etarskih ulja i ekstrakata korišćenjem metode mikrodilucije na mikrotitracionim pločama (96-sistem) na 16 patogenih mikroorganizama;
- ▶ Određivanje anti-QS aktivnosti, ispitivanjem dejstva uzoraka na selektovane faktore virulentnosti bakterije *P. aeruginosa* PAO1 kao što su sposobnost kretanja, formiranja biofilma i produkcije pigmenta piocijanina;
- ▶ Poređenje bioloških aktivnosti ispitivanih etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta biljaka sa dejstvom komercijalnih antioksidanasa i lekova.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Materijal

3.1.1. Biljni materijal

Biljni materijal korišćen u ovom istraživanju sakupljen je prirodnim lokalitetima na teritoriji Republike Makedonije i determinisan je od strane akademika prof. dr Vlade Matevskog i prof. dr Petra Marina. Vaučeri biljaka čuvaju se u Herbarijumu Instituta za botaniku i Botaničkoj bašti "Jevremovac" (BEOU) u Beogradu. Osnovni podaci o lokalitetima, vremenu sakupljanja i vaučerskim brojevima prikazani su u **Tabeli 2**. Sakupljen biljni materijal sušen je na zasenčenom, provetrenom mestu, na sobnoj temperaturi i adekvatno skladišten na tamnom i hladnom mestu do dalje upotrebe.

Tabela 2. Lokaliteti, vreme sakupljanja i vaučerski brojevi biljnog materijala.

Vrsta	Lokalitet	Geografska dužina	Geografska širina	Nadmorska visina (m)	Datum	Broj vaučera
<i>Ferulago macedónica</i> Micevski & Mayer	Put Pepelište-Negotino	41°30'362"	22°06'091"	145	11.07.2011 02.07.2012	BEOU 16656 BEOU 16659
<i>Echinophora sibthorpiana</i> Guss.	Krivolak, okolina Štipa,	41°50'324"	22°08'289"	145	11.07.2011 03.07.2012	BEOU 16657 BEOU 16658
<i>Laserpitium ochridanum</i> Micevski	Mal Kazan - Stara Galičica,	40°56'30"	20°49'34"	1991	11.07.2013	BU16778
<i>Heracleum orphanidis</i> Boiss.	Kod Palisnopja Pelister,	41°02'21"	21°12'50"	1398	10.07.2013 06.07.2014	BU16777 BU16664
<i>Angelica pancicii</i> Vandas	Kod Palisnopja Pelister,	41°01'58"	21°11'59"	1499	10.07.2013 06.07.2014	BU16776 BU16672

Za destilaciju/ekstrakciju biljnog materijala vrste *F. macedonica* u fazi cvetanja posebno su korišćeni vršni (vršni deo stabla i cvasti) i nadzemni deo biljke (ostatak stabla i listovi). Kao biljni materijal za ekstrakciju *E. sibthorpiana* u fazi cvetanja upotrebljeni su nadzemni deo (stablo, listovi, cvasti) i koren, a za destilaciju samo nadzemni deo biljke. Urađene su i destilacija i ekstrakcija nadzemnog dela *L. ochridanum* u fazi cvetanja (stablo, listovi, cvasti). Za ekstrakciju *H. orphanidis* u fazi cvetanja korišćeni su nadzemni deo (stablo, listovi, cvasti) i koren biljke, a za destilaciju je upotrebljen nadzemni deo *H. orphanidis*. Kao biljni materijal za ekstrakciju *A. pancicii* u vegetativnoj fazi korišćeni su nadzemni deo (stablo i listovi) i koren biljke, pri čemu je nadzemni deo upotrebljen i za destilaciju.

3.1.2. Hemikalije i reagensi

U ovom radu su za tehnike - tečna hromatografija-masena spektrometrija (LC-MS) i visoko efikasna tečna hromatografija (HPLC) korišćeni rastvarači HPLC čistoće. Rastvarači upotrebljeni za ekstrakciju i hromatografska razdvajanja pomoću dry column flash hromatografije su pre upotrebe destilovani i sušeni pomoću anhidrovanog Na_2SO_4 . Za semi-preparativnu HPLC korišćeni su acetonitril, Merck KG (Darmstadt, Nemačka), mravlja kiselina (85% čistoće), Lach-Ner, s.r.o. (Neratovice, Republika Češka) i Milli Q voda 18,2 M Ω cm, dobijena putem Millipore Simplicity 185 sistema za prečišćavanje.

Organski rastvarači koji su korišćeni za određivanje bioaktivnosti bili su analitičke p. o. (*pro analysis*) čistoće, "Zorka pharma" (Šabac, Srbija). Galna kiselina (98%), 3-tert-butil-4-hidroksianizol (BHA) ($\geq 99\%$), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ($\geq 99\%$), Folin-Ciocalteu fenolni reagens, kalijum acetat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{KO}_2$) ($\geq 99\%$), aluminijum trinitrat nonahidrat ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) ($\geq 98\%$), dimetil sulfoksid anhidrovani i β -karoten (p. o.) i *p*-jodonitrotetrazolijum violet boja (INT), Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA. Anhidrovani natrijum karbonat (Na_2CO_3) (p. o.), Centrohem d.o.o, (Stara Pazova, Srbija). Anhidrovani natrijum-sulfat, PRO Analysis (Alkaloid, Skoplje). Kalijum peroksidisulfat ($\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$) ($\geq 99\%$), L(+)-askorbinska kiselina (vitamin C), Tween 80 i linolna kiselina (p. o.), Acros organics, Fisher Scientific UK Ltd., (Loughborough, Leicestershire, UK). ABTS ($\geq 98\%$) i kvercetin hidrat ($\geq 98\%$), TCI Europe NV (Boerenveldsweg, Belgija). Mueller-Hinton agar (MH), malt agar (MA) i Tryptic Soy Broth (TSB), Institut za Imunologiju i Virologiju, Torlak (Beograd, Srbija), dok su antibiotici

streptomycin (Sigma-Aldrich S6501, SAD) i ampicilin (Sigma-Aldrich A9393, SAD), a antimikotik Diflukan (sadrži 50 mg flukonazol), Pfizer PGM (Pocesur-Cisse, Francuska). Dimetilsulfoksid (DMSO) ($\geq 99,9\%$), Merck KGaA, (Nemačka).

3.1.3. Hranljive podloge

Podloge za gajenje bakterija:

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1. <u>Mueller-Hinton podloga (MH)</u> | 2. <u>Tryptic Soy Broth podloga (TSB)</u> |
| Mueller-Hinton agar.....38 g | Tryptic Soy.....30 g |
| Destilovana voda.....1000 mL | Destilovana voda.....1000 mL |

Podloge za gajenje gljiva:

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. <u>Malt-agar podloga (MA)</u> | 2. <u>Malt tečna podloga (MB)</u> |
| Agar.....15 g | Ekstrakt slada.....50 g |
| Ekstrakt slada.....50 g | Destilovana voda.....1000 mL |
| Destilovana voda.....1000 mL | |

3.1.4. Izolati testiranih mikrobioloških kultura

U ovom istraživanju za testiranje uzoraka na antimikrobnu aktivnost nabavljeni su čisti kontrolni sojevi mikroorganizama iz mikoteke Mikološke laboratorije, Instituta za Biološka istraživanja “Siniša Stanković” u Beogradu, Srbija. U radu su korišćeni sledeći sojevi bakterija: *Bacillus cereus* (izolat iz hrane), *Micrococcus flavus* (ATCC 10240), *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973) i *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) od Gram pozitivnih i *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 35210), *Enterobacter cloacae* (klinički izolat) i *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) od Gram negativnih bakterija. Korišćeni su navedeni sojevi gljiva: *Trichoderma viride* (IAM 5061), *Penicillium ochrochloron* (ATCC 9112), *Penicillium funiculosum* (ATCC 10509), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 9197), *Aspergillus ochraceus* (ATCC 12066), *Aspergillus versicolor* (ATCC 11730), *Aspergillus niger* (ATCC 6275) i kvasac *Candida albicans* (ATCC 10231). Bakterijski sojevi gajeni su na čvrstom

MH medijumu, dok su gljive održavane na čvrstom MA medijumu. Sve kulture su presejavane jednom mesečno i čuvane na + 4 °C do dalje upotrebe (Booth, 1971).

3.2. Metode

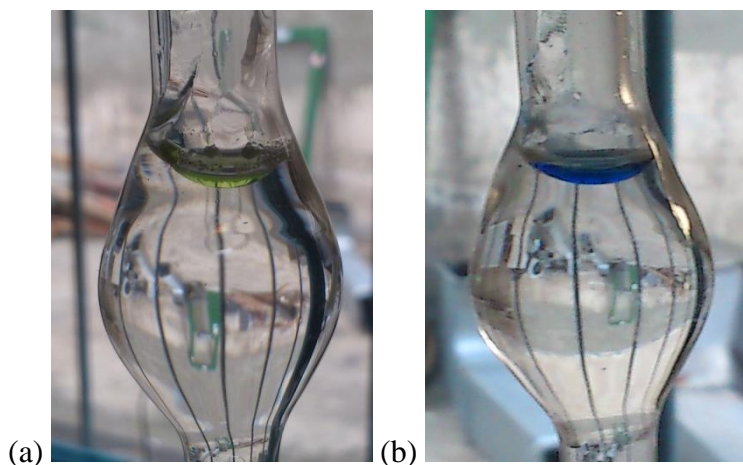
3.2.1. Izolovanje etarskih ulja odabranih vrsta

Etarska ulja odabranih vrsta dobijena su primenom metode destilacije vodenom parom, aparaturom po Klevendžeru (Europ. Ph., 2004). Pre izolovanja etarskih ulja, osušen biljni materijal usitnjen je i homogenizovan do stepena grubog praška.

Tabela 3. Prinos etarskih ulja ispitivanih vrsta (%).

Vrsta	Deo biljke	Fenofaza	Prinos (%)
<i>F. macedonica</i>	Vršni deo		0,02
	Nadzemni deo	Cvetanje	0,40
<i>E. sibthorpiana</i>	Nadzemni deo	Cvetanje	0,63
<i>L. ochridanum</i>	Nadzemni deo	Cvetanje	0,11
<i>H. orphanidis</i>	Nadzemni deo	Cvetanje	0,08
<i>A. pancicii</i>	Nadzemni deo	Vegetativna faza	-

Osušen, usitnjen i odmeren biljni materijal (100 g) stavljen je u balon za destilaciju i preliven sa 2 L destilovane vode. Od trenutka ključanja, proces destilacije trajao je 3 h, nakon čega je izolovano čisto etarsko ulje (**Slika 31**) tako što je ostatak vode u etarskom ulju uklonjen pomoću anhidrovanog Na₂SO₄. Sadržaj etarskog ulja određen je volumetrijskom metodom. Očitana je zapremina dobijenog ulja i izračunat njegov udeo u odnosu na količinu materijala (**Tabela 3**). Prinos je izražen kao broj mililitara etarskog ulja na 100 g droge (%). Etarska ulja ispitivanih vrsta čuvana su na temperaturi 4 °C do izvođenja analiza.



Slika 31. Etarsko ulje nadzemnog dela biljke: (a) *Angelica pancicii* Vandas; (b) *Laserpitium ochridanum* Micevski (foto: K. S. Mileski)

3.2.2. Priprema biljnih ekstrakata odabranih vrsta

3.2.2.1. Ultrazvučna ekstrakcija biljnog materijala

Priprema metanolnih, etanolnih i vodenih ekstrakata od osušenog i usitnjenog biljnog materijala iz 2011-2013 godine vršena je procedurom ultrazvučne ekstrakcije. Po 10 g usitnjene biljke ekstrahovano je na sobnoj temperaturi i tamnom mestu sa različitim organskim rastvaračima (200 mL), upotrebom ultrazvučnog kupatila tokom prvog i poslednjeg sata ekstrakcije (24 h). Zatim je obavljena filtracija uzoraka pomoću Whatman filter papira No. 1. Sledilo je uparavanje rastvarača iz ekstrakata do suva. Metanol i etanol su bili uklonjeni pod sniženim pritiskom na vakuum uparivaču (Buchu rotavapor, R114) na temperaturi koja nije prelazila 40 °C, dok su zamrznuti vodeni ekstrakti bili liofilizirani u aparatu za liofilizaciju. Nakon merenja (**Tabela 4**), dobijeni čvrsti metanolni i etanolni ekstrakti su bili čuvani u staklenim, a vodeni liofilizati u plastičnim bočicama. Svi uzorci su držani na 4 °C, na suvom i tamnom mestu do dalje upotrebe. Metanolni ekstrakti proučavanih vrsta bili su korišćeni za tentativnu analizu hemijskog sastava dok je uzorak metanolnog ekstrakta korena *A. pancicii* (**uzorak 1**) dodatno korišćen i za izolovanje jedinjenja. Svi napravljeni uzorci bili su podvrgnuti različitim biološkim testovima.

Tabela 4. Ukupan prinos čvrstih ekstrakata ispitivanih vrsta (g).

Vrsta	Uzorak	Deo biljke/ biljni organ	Prinos (g)
<i>F. macedonica</i>	ME*	Vršni deo	3,751
		Nadzemni deo	1,332
	EE*	Vršni deo	2,157
		Nadzemni deo	1,179
	VE*	Vršni deo	2,020
		Nadzemni deo	1,351
<i>E. sibthorpiana</i>	ME	Nadzemni deo	0,841
		Koren	1,049
	EE	Nadzemni deo	0,794
		Koren	0,482
	VE	Nadzemni deo	0,974
		Koren	1,284
<i>L. ochridanum</i>	ME	Nadzemni deo	0,597
	EE	Nadzemni deo	1,323
	VE	Nadzemni deo	0,983
<i>H. orphanidis</i>	ME	Nadzemni deo	0,686
		Koren	2,149
	EE	Nadzemni deo	0,510
		Koren	1,341
	VE	Nadzemni deo	0,538
		Koren	1,417
<i>A. pancicii</i>	ME	Nadzemni deo	1,236
		Koren	1,905
	EE	Nadzemni deo	0,654
		Koren	1,236
	VE	Nadzemni deo	0,987
		Koren	1,543

*ME-metanolni ekstrakt; EE-etanolni ekstrakt; VE-vodeni ekstrakt

3.2.2.2. Soxlet ekstrakcija korena *Angelica pancicii*

Osušen koren biljke *A. pancicii* koja je sakupljena jula 2014. godine (50 g), samleven je i nakon toga ekstrahovan heksanom (650 mL) u Soxhlet aparatu tokom 3 h, pa re-ekstrahovan sa 600 mL dihlorometana (DCM). Ovakva ekstrakcija predstavlja kontinuiranu ekstrakciju komponenata iz korena ispitivane biljke. Dobijena masa heksanskog ekstrakta nakon filtracije i uparavanja heksana, iznosila je 2,0032 g, dok je 1,0746 g težio dihlormetanski ekstrakt. Oba ekstrakta su analizirana pomoću LC/MS sistema, a dobijeni hromatogrami su upoređeni sa LC/MS hromatogramom *uzorka 1*. DCM reekstrakt je bio bogatiji jedinjenjima u odnosu na

heksanski ekstrakt, tako da je on korišćen za dalje razdvajanje pomoću semi-preparativnog HPLC-a.

3.2.3. Hemijska analiza etarskih ulja i metanolnih ekstrakata odabranih vrsta

3.2.3.1. Analiza etarskih ulja gasnom hromatografijom (GC) sa plameno-jonizujućim detektorom (FID) i gasnom hromatografijom sa spektrometrijom masa (MS)

Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja izvršena je kombinacijom metoda gasne hromatografije (GC) i plameno-jonizujućeg detektora (FID) i gasne hromatografije i maseno-spektrometrijskog detektora (spektrometrijom masa) (MSD). GC analiza je urađena na gasnohromatografskom aparatu HP-5890 Series II koji je opremljen split-splitless injektorom, HP-5-srednje polarnom kolonom (25 m x 0,32 mm) i povezan sa plameno-jonizujućim detektorom. Protok nosećeg gasa (H_2) je 1 mL/min. Rastvor etarskog ulja u etanolu injektovan je u split modu (1:30), temperatura injektora je 250 °C, detektora 300 °C, dok je temperatura kolone povećavana programirano od 40-280 °C, po 4 °C/min. Za GC-MS, korišćen je HP G1800 C serije, II GCD opremljen sa HP-5MS kolonom (30 m x 0,25 mm). Transfer linija je zagrejana na 280 °C. EIMS spektri su snimani na 70 eV u opsegu m/z 40-300. Identifikacija jedinjenja izvršena je poređenjem njihovih retencionih vremena sa retencionim vremenom referentnih jedinjenja (terpenoida), metodom koinjektiranja, poređenjem masenih spektara za šta je korišćena biblioteka masenih spektara (Wiley 275. L) i na osnovu retencionih indeksa dobijenih korišćenjem kalibrisanog AMDIS programa i njihovo poređenje sa literaturnim indeksima (Adams, 2007). Kvantifikacija je izvršena metodom normalizacije površina ispod GC pikova.

3.2.3.2. Analiza metanolnih ekstrakata tečnom hromatografijom sa spektrometrijom masa (LC-DAD/ESI-TOF-MS)

LC-MS tehnika kojom su snimljeni elektro sprej jonizujućí maseni spektri (ESI) visoke rezolucije, rađena je na tečnom hromatografu Agilent Technologies 1200 Series (Waldbronn, Germany), opremljenim vakuum degazerom, binarnom pumpom, autosemplerom,

termosatiranom kolonom i detektorom sa nizom dioda (diode array, DA), povezanim sa Agilent Technologies 6210 time-of-flight (ToF) LC/MS (Santa Clara, California, USA) sistemom.

Neposredno pre analize, suvi metanolni ekstrakti *H. orphanidis* i *A. pancicii* (po 10 mg) su bili rastvoreni u po 1 mL sistema rastvarača acetonitril-metanol (95:5). Tako dobijeni uzorci ($c=10$ mg/mL) su profiltrirani kroz Captiva Premium Syringe Filter Agilent Technologies (0,45 $\mu\text{m} \times 25$ mm). Nakon toga su određene zapremine rastvorenih, filtriranih uzoraka (5 μL), injektovane i analizirane visoko efikasnom tečnom hromatografijom na Zorbax Eclipse Plus C18 koloni (150 mm \times 4,6 mm i. d.: 1,8 μm), termostatiranoj na 40 °C. Mobilna faza je bila mešavina rastvarača A (0,20% mravlje kiseline u vodi) i rastvarača B (acetonitril) i razdvajanje je vršeno kombinacijom izokratskog i gradijentnog načina eluiranja prema sledećem programu: 0-1,5 min, 95% A, 1,5-26 min, 95-5% A, 26-35 min, 5% A, 36-41 min, 95% A, pri protoku od 1,40 mL/min. Upotrebom DA detektora, UV hromatogrami snimani su na talasnoj dužini u oblasti od 190 do 650 nm i svi snimljeni spektri su čuvani u istoj oblasti. Preostali deo eluiran sa HPLC-a usmeren je ka jonskom izvoru (ESI) masenog spektrometra. Eluirana jedinjenja su zatim pomešana sa azotom u zagrejanom interfejsu nebulajzera. Eluirana jedinjenja su bila pomešana sa azotom u zagrejanom interfejsu nebulajzera i polarnost je podešena na pozitivni/negativni mod. Adekvatna kalibracija ESI parametara je bila neophodna za optimalni odgovor i postizanje visoke osetljivosti detekcije molekuskog jona. MS uslovi su bili sledeći: kapilarni napon 4000 V, temperatura gasa 350 °C, gas za sušenje 12 L/min, pritisak nebulajzera 45 psig, napon na fragmentoru 140/70 V: opseg masa 100-2000 m/z. Za prikupljanje i obradu podataka korišćen je Mass Hunter Workstation softver, dok je "The Molecular Feature Extractor" program korišćen za detekciju hemijskih formula. Identifikacija komponenata smeše izvršena je na osnovu molekulske formule dobijene korišćenjem "Mass Hunter Workstation" softvera za prikupljanje i obradu podataka i na osnovu literaturnih podataka o sastavu vrsta rodova *Heracleum* i *Angelica* kao i predstavnika familije Apiaceae.

3.2.3.3. Hromatografsko razdvajanje ekstrakata i izolovanje jedinjenja iz korena *Angelica pancicii*

Za potrebe razdvajanja i izolovanje metabolita iz ekstrakata korena *A. pancicii* korišćeni su dry-column flash hromatografija na silika gelu od 0,08 mm (Merck); analitička tankoslojna

hromatografija (TLC) koja je rađena na aluminijumskim pločama (20 × 20 cm), debljine 0,25 mm sa silika gelom 60 GF₂₅₄ (Merck); semi-preparativna HPLC tehnika koja je vršena pomoću tečnog hromatograma Agilent Technologies 1100 Series koji je opremljen DAD (diode-array) detektorom, autosemplerom i Zorbax Eclipse XDBC-18 kolonom (250 mm × 9,4 mm, 5 μm). Pre snimanja, uzorci su filtrirani kroz filtere Captiva Premium Syringe Filter Agilent Technologies 0,45 μm x 25mm. Svi NMR spektri (¹H, ¹³C, DEPT, HSQC, HMBC, NOESY) i snimljeni su na Bruker Avance III 500 spektrometru (500 za ¹H i 125 MHz za ¹³C). Spektri su snimani u deuterisanom hloroformu (CDCl₃) kao rastvaraču, neki uz dodatak deuterisanog metanola i tetrametil silana kao inertnog standarda. IC spektri su dobijeni na Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR spektrometru. Optička rotacija merena je na Rudolph Research Analytical AUTOPOL IV automatskom polarimetru. Elementarna analiza urađena je pomoću Vario EL III C,H,N,S/O elementarnog analizatora (Elementar).

3.2.3.3.1. Razdvajanje metanolnog ekstrakta

Deo metanolnog ekstrakta korena *A. panicii* (1,5 g) dalje je podvrgnut razdvajanju komponenata putem dry-column flash hromatografije i semi-preparativne HPLC metode. Ekstrakt je najpre rastvoren u hladnoj vodi i prebačen u levak za odvajanje od 250 mL. Urađena je ekstrakcija DCM-om (3 x 100 mL), a zatim je vodena faza odvojena i ekstrakcija ponovljena sa etil-acetatom (3 x 50 mL) i na kraju butanolom (3 x 50 mL). Dobijene organske faze su sakupljene, osušene anhidrovanim Na₂SO₄, procedene, a zatim uparene i izmerene (**Tabela 5**). Sve frakcije su analizirane primenom metoda LC/MS i ¹H NMR spektroskopije.

Tabela 5. Mase dobijenih frakcija *uzorka 1* korena *A. panicii* (mg).

Uzorak (frakcija)	Oznaka	Masa frakcije (mg)
Metilen-hloridna	APK-MC	649,2
Etil-acetatna	APK-EA	10,4
Butanolna	APK-BU	100,7
Preostala vodena faza	APK-V	2,6 (g)

Dry-column flash hromatografija: Analizom podataka dobijenih primenom LC/MS i NMR metoda, *A. panicii* metilen hloridna frakcija (APK-MC) je odabrana za dalje razdvajanje

dry-column flash hromatografijom. Ova hromatografija je izvođena na koloni silika gela, dimenzije 18 x 2,2 cm². APK-MC frakcija (649,2 mg) je rastvorena u metilen-hloridu (na ultrazvučnom kupatilu), rastvoru je dodat silika-gel (3 g) tako da je dobijena gusta suspenzija. Rastvarač je uparen, a dobijeni uzorak APK-MC koji je absorbovan na silika-gelu nanet je na prethodno formiranu kolonu silika-gela. Preko svega je stavljen filter papir i započeto je eluiranje prvo nepolarnim rastvaračem (benzin), da bi se polarnost potom postepeno povećavala dodavanjem dietil-etra, DCM-a i metanola. Eluiranje je vršeno sa po 50 mL sistema rastvarača. Tok dry-column flash hromatografije je praćen pomoću TLC-a. Sakupljeno je 13 frakcija, a nakon uparavanja rastvarača izmerene su i mase eluiranih frakcija. Dobijeni podaci su tabelarno prikazani (**Tabela 6**).

Tabela 6. Tok dry-column flash hromatografije.

APK-MC frakcija	Eluent	%	Masa frakcije (mg)
1	benzin	100	4,9
2	Et ₂ O	100	260,4
3	Et ₂ O-CH ₂ Cl ₂	50:50	127,9
4	CH ₂ Cl ₂	100	10,7
5	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	99:1	1,5
6	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	95:5	1,1
7	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	90:10	95,3
8	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	85:15	23,2
9	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	80:20	18,7
10	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	75:25	10,0
11	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	60:40	7,6
12	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	40:60	9,1
13	MeOH	100	5,8

Semi-preparativna visoko efikasna tečna hromatografija: Frakcije 2 (100% Et₂O), 3 (Et₂O-CH₂Cl₂ 50:50) i 7 (CH₂Cl₂-MeOH 90:10) dobijene dry-column flash hromatografijom, obeležene redom kao APK-MC2, APK-MC3, APK-MC7, analizirane su pomoću HPLC-a na koloni Zorbax-Eclipse XDB C18 (250 × 9,4 mm × 5 μm). Temperatura kolone je bila 30 °C, a protok Q=4 mL/min. Detekcija je vršena na sledećim talasnim dužinama: 280, 260, 220, 320 i 360 nm. Frakcije su rastvarane u acetonitrilu (ACN; c=10 mg/mL), a zapremina uzorka koja je potom injektirana je iznosila 140 μL. Eluiranje je rađeno smešom 0,2% vodenog rastvora mravlje

kiseline (A) i acetonitrila (B) po metodi prikazanoj u **Tabeli 7**. Na ovaj način su razdvojene celokupne količine gore navedenih masa frakcija (**Tabela 6**).

Tabela 7. HPLC metoda za razdvajanje frakcija uzorka *A. panicii*.

t (min)*	A [0.2% HCO ₂ H u H ₂ O]	B [ACN]
0	50	50
2	50	50
17	35	65
20	35	65
21	50	50

*Stop vreme=15 min.; post vreme=4 min.

Primenom tehnike visoko efikasne tečne hromatografije za razdvajanje APK-MC2 po gore prikazanoj metodi dobijeno je pet frakcija, pri čemu je APK-MC2-, dobijena na retencionom vremenu $t_R=9,87-10,49$ min., bila najobimnija ($m=2,583$ mg). Snimljeni su NMR spektri ove frakcije, kao i frakcije APK-MC2-3 ($t_R=9,14-9,77$ min.). Analizom NMR spektroskopskih podataka kao i njihovim poređenjem sa dostupnim literaturnim podacima utvrđeno je da je frakcija APK-MC2-4 saksalin (**FK3**), a da frakcija APK-MC2-3 predstavlja smešu dva kumarina **FK2** i **FK5**. Pretpostavljeno je da dihidroksid **FK5** nastaje otvaranjem epoksida usled prisustva HCOOH u sistemu za eluiranje. Deo frakcije APK-MC2 prečišćen je po istom programu, osim što je eluent A bila voda umesto 0,2% HCO₂H u H₂O. Na istom retencionom vremenu ($t_R=9,14-9,77$ min.) izolovano je jedinjenje **FK2** (oksipeucedanin) koje u strukturi sadrži epoksidni prsten.

Primenom tehnike visoko efikasne tečne hromatografije za razdvajanje frakcije APK-MC3 po metodi koja je prikazana u **Tabeli 7**. dobijeno je sedam frakcija. Frakcije koje su dobijene na retencionim vremenima $t_R=7,2-7,7$ min. (APK-MC3-1), $t_R=8,6-9,2$ min. (APK-MC3-3), $t_R=10,1-10,5$ min. (APK-MC3-5) i $t_R=11,9-12,4$ min. (APK-MC3-6) su izmerene (7,442 mg, 6,800 mg, 3,216 mg, 22,591 mg redom) da bi potom bili snimljeni NMR i LC-MS spektri koji su omogućili identifikaciju strukture tih jedinjenja. Na gore pomenutim retencionim vremenima izolovana su jedinjenja koja su obeležena na sledeći način: **FK1**, **H**, **FK3**, **FK4**, redom. Jedinjenje **H** sadrži hromonski skelet i nije do sada izolovano, a preostala jedinjenja su literaturno poznati furanokumarini: *t*-OMe oksipeucedanin hidrat (**FK1**), saksalin (**FK3**) i ostrutol (**FK4**) (oksipeucedanin hidrat).

Frakcija APK-MC7 je razdvajana pod istim uslovima kao i APK-MC2, tj. APK-MC3 frakcija. Razdvajanju frakcije je prethodilo rastvaranje u acetonitrilu uz dodatak 2-3 kapi MeOH, dok su frakcije APK-MC2 i APK-MC3 bile dobro rastvorne u acetonitrilu. Primenom HPLC metode prikazane u **Tabeli 7** dobijene su dve frakcije. Frakcija koja je izolovana na retencionom vremenu $t_R=3,93-4,71$ min je izmerena ($m=12,959$ mg) i za nju su snimljeni NMR i LC-MS spektri čijom analizom je zaključeno da je izolovano jedinjenje kumarin **FK5**.

3.2.3.3.2. Razdvajanje ekstrakta dobijenog Soxhlet ekstrakcijom

Pošto je DCM re-ekstrakt dobijen Soxhlet ekstrakcijom bio bogatiji jedinjenjima u odnosu na heksanski ekstrakt, on je dalje bio podvrgnut semi-preparativnoj HPLC metodi sa ciljem razdvajanja i eventualne akumulacije izolovanih i okarakterisanih jedinjenja za buduća ispitivanja biološke aktivnosti. Uslovi na koloni (temperatura i protok), program po kome je vršeno razdvajanje, kao i talasne dužine detekcije, bili su identični uslovima koji su prethodno primenjeni za razdvajanje frakcija APK-MC2, APK-MC3 i APK-MC7. Razlika je bila u tome što eluent A nije sadržao mravlju kiselinu i što je ‘stop time’ 19 min, a ‘post time’ 4 minuta. Rezultati toka HPLC analize *uzorka 2* prikazane su u **Tabeli 8**. Na osnovu spektroskopskih podataka, NMR i LC-MS spektara izolovanih frakcija, zaključeno je da *uzorak 2* pored jedinjenja koje sadrži *uzorak 1*, sadrži još jedno jedinjenje – izompreratorin (**FK6**). Za frakciju koja se javlja na $t_R=7,31-7,73$ min snimljen je samo LC-MS spektar na osnovu kojeg je zaključeno da se radi o izomeru jedinjenja **FK2**, koji je u smeši i nije identifikovano (**Tabela 8**).

Tabela 8. Tok HPLC razdvajanja DCM ekstrakta *A. panicii*.

Retenciono vreme (min)	Frakcija	Oznaka frakcije <i>A. panicii</i> (AP)	Jedinjenje	Masa frakcije (mg)
7,31-7,73	1	(AP)-MC1	Izomer FK2 u smeši	1,434
7,90-8,32	2	(AP)-MC2	smeša	1,423
8,43-9,09	3	(AP)-MC3	H	11,876
9,17-9,77	4	(AP)-MC4	FK2	10,506
9,88-10,40	5	(AP)-MC5	FK3	6,219
11,66-12,43	6	(AP)-MC6	FK4	31,076
17,18-17,73	7	(AP)-MC7	FK6	3,180

3.2.3.4. Spektroskopski podaci izolovanih jedinjenja

tert-O-Metil-Oksipeucedanin hidrat (t-OMe oksipeucedanin hidrat) (FK1; C₁₇H₁₈O₆)
(Thanh i sar., 2004). m/z 319,1176 [M+H]⁺
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,24 (3H, s, H-5"), 1,27 (3H, s, H-4"), 3,27 (3H, s, 3"-OMe), 3,94 (1H, dd, J=8,0, 3,5, Hz, H-2"), 4,39 (1H, dd, J=10,0, 8,0, Hz, H-1β"), 4,57 (1H, dd, J=10,0, 3,5Hz, H-1α"), 6,29(1H, d, J=9,5Hz, H-3), 7,01(1H, dd, J=2,5, 1,0 Hz, H-3'), 7,16(1H, bs, 1,0 Hz, H-8), 7,60(1H, d, J=2,5Hz, H-2'), 8,23(1H, d, J=9,5Hz, H-4).

Oksipeucedanin (FK2; C₁₆H₁₄O₅) (Thanh i sar., 2004). ¹H (500 MHz, CDCl₃) i ¹³C (125MHz) NMR podaci su dati u **Tabeli 4**

Saksalin (C₁₆H₁₅O₅Cl) (FK3) (Avramenko i Nikolov, 1971). m/z 323,06793 [M+H]⁺
645,12888 [2M+H]⁺
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,70 (6H, s, C-5", C-4"), 4,07 (1H, dd, J=7,0, 3,5 Hz, H-1"β), 4,46 (1H, dd, J=7,5,0, 3,0 Hz, H-1"α), 4,72 (1H, dd, J=7,0, 3,0 Hz, C-2"), 6,22 (1H, d, J=9,5 Hz, H-3), 6,99 (1H, dd, J=2,5, 0,5 Hz, H-3'), 7,19 (1H, brs, H-8), 7,62 (1H, d, J=2,5 Hz, H-2'), 8,20 (1H, d, J=9,5 Hz, H-4).
¹³C (125MHz, CDCl₃) δ 28,68, (C-4"), 29,08 (C-5"), 50,87 (C-3"), 74,11 (C-1"), 71,44 (C-2"), 94,92 (C-8), 104,64 (C-3'), 107,38 (C-10), 113,16 (C-3), 114,18 (C-6), 139,02 (C-4), 145,33 (C-2'), 148,32 (C-5), 152,55 (C-9), 158,08 (C-7), 161,05 (C-2).

Ostrutol (FK4; C₂₁H₂₂O₇) (Joa i sar., 2011). m/z 387,14383 [M+H]⁺
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,35 (3H, s, C-5"), 1,38 (3H, s, C-4"), 1,88 (3H, brs, C-9"), 1,99 (3H, brd, 1,5 Hz, 7 Hz, C-10") 2,16 (OH grupa s) 4,63 (1H, dd, J=8,0, 10,0 Hz, H-1"β), 4,86 (1H, dd, J=10,0, 2,5 Hz, H-1"α), 5,44 (1H, dd, J=8,0, 2,5 Hz, C-2"), 6,13 (1H, m, H-7"), 6,22 (1H, d, J=10,0 Hz, H-3), 6,97 (1H, dd, J=2,5, 0,5 Hz, H-3'), 7,10 (1H, brs, H-8), 7,60 (1H, d, J=2,5 Hz, H-2'), 8,05 (1H, d, J=10,0 Hz, H-4).
¹³C (125MHz, CDCl₃) δ 15,85 (C-5"), 20,53 (C-4"), 26,13 (C-9"), 26,75 (C-8") 71,39 (C-3"), 71,54 (C-1"), 77,05 (C-2") 94,15 (C-8), 104,82 (C-3') 106,66 (C-10), 112,64 (C-3), 113,02 (C-6),

127,17 (C-7''), 139,23 (C-4), 139,59 (C-8''), 145,02 (C-2''), 148,45 (C-5), 152,51 (C-9), 158,11 (C-7), 161,13 (C-2), 167,24 (C-6'').

Oksipeucedanin hidrat (FK5; C₁₆H₁₆O₆) (Thanh i sar., 2004). m/z 305,10196 [M+H]⁺, 327,08391[M+Na]⁺, 343,0757 [M+K]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,32 (3H, s, H-4''), 1,36 (3H, s, H-5''), 3,91 (1H, dd, J=8,0, 3,0Hz, H-2''), 4,44 (1H, dd, J=10,5, 8,0 Hz, H-1 α''), 4,57 (1H, dd, J=10,5, 3,0 H-1β''), 6,25 (1H, d, J=9,5 Hz, H-3), 6,99 (1H, dd, J=2,5, 1,0 Hz, H-3'), 7,11 (1H, bs, 1,0 Hz, H-8), 7,60(1H, d, J=2,5Hz, H-2'), 8,16 (1H, d, J=9,5Hz, H-4).

¹³C (125MHz, CDCl₃) δ 25,10 (C-4''), 26,60 (C-5''), 71,64 (C-3''), 74,41 (C-1''), 76,51 (C-2''), 94,63 (C-8), 104,74 (C-3'), 107,18 (C-10), 112,84 (C-3), 114,13 (C-6), 139,15 (C-4), 145,21 (C-2'), 148,50 (C-5), 152,46 (C-9), 158,04 (C-7), 161,20 (C-2).

Izoimperatorin (FK6; C₁₆H₁₄O₄) (Joa i sar., 2011). m/z 271,13274 [M+H]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,84 (3H, s, H-6''), 1,70 (3H, s, H-5''), 3,27 (3H, s, 3''-OMe), 4,90 (2H, d, J=7,5 Hz, H-2''), 5,50 (1H, t, J=7,5, Hz, H-3''), 6,20(1H, d, J=10,0, H-3), 6,90 (1H, dd, J=0,9, 2,5 Hz, H-3'), 7,11 (1H, br s, H-8), 7,60 (1H, d, 2,1 Hz, H-3'), 7,60(1H, d, J=2,5Hz, H-2'), 8,23(1H, d, J=10,0 Hz, H-4).

Acetilknidimol A (H; C₁₇H₁₈O₆) ¹H (500 MHz, CDCl₃+par kapi MeOH) i ¹³C (125 MHz) NMR podaci su dati u **Tabeli 3**.

3.2.4. Određivanje bioloških aktivnosti odabranih vrsta

Za određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti uzoraka u ovom radu korišćen je JENWAY 6306 UV/Vis spektrofotometar. Tako su *in vitro* kolorimetrijski određene ukupne količine fenola i flavonoida u ispitivanim ekstraktima, dok je upotrebom tri široko korišćena spektrofotometrijska testa utvrđena sposobnost testiranih uzoraka da neutralizuju slobodne radikale.

3.2.4.1. Određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja

Ukupan sadržaj fenola: Svi testirani ekstrakti bili su podvrgnuti spektrofotometrijskom određivanju ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja pomoću modifikovane metode Singleton i sar. (1999) (**Slika 32**). U ovom postupku koristili su se Folin-Ciocalteu reagens i galna kiselina kao standard. 1 mL 10% rastvora Folin-Ciocalteu reagensa je pomešan sa 200 μ L rastvora ispitivanih ekstrakata koncentracije 1 mg/mL i ostavljen je da stoji 6 minuta da reaguje za vreme kratke inkubacije. Tako pripremljena mešavina je kombinovana sa 0,8 mL 7,5% Na_2CO_3 rastvora i ostavljeno je da stoji 2 h na sobnoj temperaturi u uslovima mraka. Apsorbancija je merena na 736 nm prema blank uzorku koji je sadržao destilovanu vodu. Sadržaj ukupnih fenola je izračunat iz kalibracione krive galne kiseline (10-100 mg/L). Rezultati su izraženi kao mg ekvivalenta galne kiseline (GAE) po g suvog ekstrakta (SE). Vrednosti su prezentovane kao srednje vrednosti (SV) rezultata analiza u tri ponavljanja \pm standardna devijacija (SD). Koncentracija su dobijene na osnovu kalibracione krive pomnožene sa faktorom razblaženja.



Slika 32. Određivanje ukupnog sadržaja fenola ekstrakata nadzemnog dela *F. macedonica* (foto: K. S. Mileski)

Ukupan sadržaj flavonoida: Metoda koji su opisali Park i sar. (1997) uz male modifikacije je upotrebljena za detekciju ukupnog sadržaja flavonoida u rastvorima svih ekstrakata koncentracije 1 mg/mL. Svaki rastvor ekstrakta je pomešan sa 80% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ i 1M $\text{C}_2\text{H}_3\text{KO}_2$. Apsorbancije su očitane na spektrofotometru na 415 nm nakon 40 minuta inkubacije u mraku koristeći blank uzorak koji je sadržao 0,5 mL 96% etanola.

Ukupan sadržaj flavonoida ekstrakata određen je iz kalibracione krive kvercetin hidrata (10-100 mg/L). Rezultati su izraženi u mg ekvivalenta kvercetin hidrata (QE) po g SE. Merenja su urađena u triplikatu \pm SD. Koncentracije su dobijene na osnovu kalibracione krive pomnožene sa faktorom razblaženja.

3.2.4.2. *Određivanje antioksidativne aktivnosti*

DPPH test: Za određivanje potencijalne antioksidativne aktivnosti ispitivanih vrsta korišćena je kolorimetrijska DPPH metoda po Blois-u (1958) sa izvesnim modifikacijama (Džamić, 2016) (**Slika 33**). Koncentracije etarskih ulja i rastvora ekstrakata birane su na osnovu probnih testova sa rastvorom DPPH po datom postupku i kretale su se od 0,25-2,00 μ g/mL za etarska ulja i od 0,05-3,50 mg/mL za ekstrakte, a dobijene su serijski razblaženjima u odgovarajućim rastvaračima. Kao slepa proba koristi se rastvor DPPH u metanolu koncentracije 0,04 mg/mL. 1,8 mL ovog rastvora dodaje se u 0,2 mL svakog testiranog uzorka. Nakon 30 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi na tamnom mestu, apsorbancije su merene na talasnoj dužini od 517 nm, koristeći metanol kao blank. Ova spektrofotometrijska procedura se koristi za kvantifikaciju testiranih uzoraka potrebnih za redukciju 50% početne koncentracije DPPH radikala. Sintetički antioksidansi BHA, BHT kao i askorbinska kiselina (vitamin C) koristili su se radi poređenja aktivnosti uzoraka. Procenat inhibicije uzoraka izračunat je iz dobijenih vrednosti apsorbancije koristeći sledeću jednačinu:

$$\text{Procenat inhibicije (\%)} = (\text{As} - \text{Au}) / \text{As} \times 100;$$

Gde je As apsorbancija slepe probe, dok je Au apsorbancija uzorka.

Aktivnost testiranih koncentracije ekstrakata/etarskog ulja koji smanjuju apsorbanciju DPPH rastvora za 50% izražava se kao IC₅₀ (mg/mL), a izračunava se iz jednačine krive apsorbancije koja se dobija iz grafičkog prikaza zavisnosti inhibicije DPPH radikala od koncentracije ekstrakata.

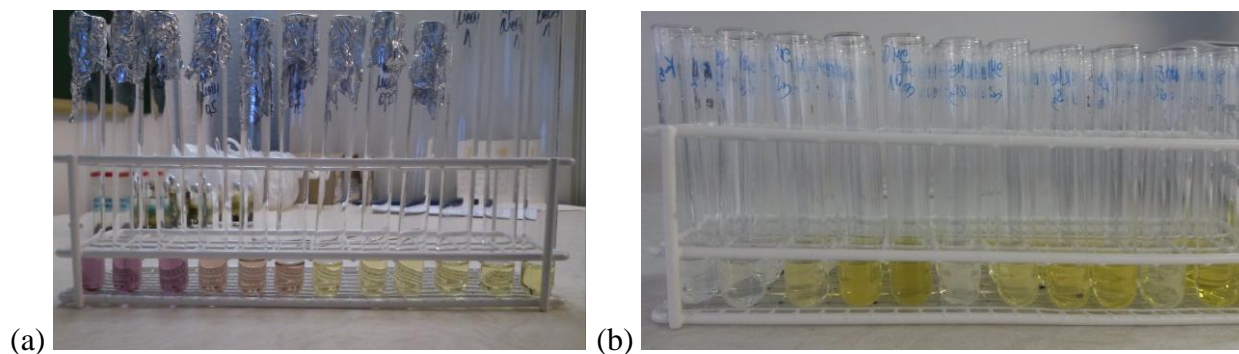
ABTS test: Za utvrđivanje potencijala neutralisanja slobodnih radikala ispitivanih ekstrakata u ovom radu, korišćena je i spektrofotometrijska ABTS procedura Miller-a i Rice-

Evans-a (1997) sa malim modifikacijama. Da bi se dobio ABTS⁺ rastvor, 5 mL 2,46 mM rastvora K₂O₈S₂ i 19,2 mg ABTS-a su ostavljeni da reaguju u mraku 12-16 h na sobnoj temperaturi. Zatim je oko 100-110 mL destilovane vode dodato u 1 mL formiranog ABTS⁺ rastvora da bi se dobila apsorbanacija od 0,7 ± 0,02 jedinica na talasnoj dužini od 734 nm. 50 µL rastvora svakog testiranog ekstrakta koncentracije 1 mg/mL pomešan je sa 2 mL razblaženog ABTS⁺ rastvora i smeša je inkubirana 30 minuta na 30 °C. Apsorbancije su zabeležene na 734 nm, koristeći destilovanu vodu kao blank. Za svaki eksperiment je pripreman svež ABTS⁺ rastvor. Rezultati se izražavaju pomoću kalibracione krive za vit. C (koncentracije od 0-2 mg/L koji) u mg ekvivalenata vit. C po g SE. Svi testirani rastvori su se pravili u triplikatu i vrednosti su izražene kao srednje vrednosti tri merenja SV ± SD. Koncentracije su dobijene na osnovu kalibracione krive pomnožene sa faktorom razblaženja (Džamić, 2016).

β-karoten/linolna kiselina test: Za determinaciju antioksidativne aktivnosti testiranih uzoraka korišćena je i modifikovana metoda po Miller-u (1971) (**Slika 33**). β-karoten/linolna kiselina emulzija je dodata metanolnom rastvoru svakog ekstrakta finalnih koncentracija od 1-15 mg/mL. Emulzija je dobijena pipetiranjem 2 mL β-karoten rastvora (2 mg β-karotena je rastvoreno u 10 mL hloroforma) u bočicu sa ravnim okruglim dnom koja je sadržala linolnu kiselinu (40 mg) i Tween 80 (400 mg). Nakon uparavanja hloroforma na 40 °C pomoću rotacionog vakuum uparivača, dodato je 100 mL oksigenisane vode i sadržaj je jako promešan kako bi se formirala emulzija. Po 2400 µL β-karoten/linolna kiselina emulzije raspoređeno je u epruvete sa po 100 µL rastvora testiranih ekstrakata. Kalibrisanje spektrofotometra je urađeno koristeći blank koji se sastojao od emulzije bez β-karotena. Čitanje apsorbanacija je vršeno na nultom vremenu (t=0 min) na 470 nm i nakon inkubacije od 120 min u vodenom kupatilu na 50 °C. Kontrolni uzorci su u emulziji sadržali 100 µL metanola umesto ekstrakata. Radi poređenja je takođe analizirano jedinjenje BHA. Antioksidativna aktivnost uzoraka se ocenjuje kao njegova sposobnost da spreči foto-oksidaciju i da inhibira obezbojavanje β-karotena koje uzrokuju radikali formirani dodatkom linolne kiseline u emulziju. Koristi se sledeća formula:

$$\text{Procenat inhibicije (\%)} = [(A_{k0} - A_{k120}) - (A_{u0} - A_{u120}) / A_{k0} - A_{k120}] \times 100;$$

Gde su A_{k_0} i A_{u_0} inicijalne vrednosti apsorbancije kontrole i uzorka mereni na nultom vremenu t_0 ; $A_{k_{120}}$ i $A_{u_{120}}$ su vrednosti apsorbancije kontrole i uzorka nakon perioda inkubacije od 120 min. Rezultati se iskazuju kao IC_{50} vrednosti (mg/mL), što predstavlja koncentraciju uzorka koja je potrebna da spreči 50% obezbojavanja β -karotena. Test je rađen u triplikatu.



Slika 33. Određivanje antioksidativne aktivnosti: (a) ekstrakata *E. sibthorpiana* DPPH metodom; (b) ekstrakata *H. orphanidis* β -karoten/linolna kiselina testom (foto: K. S. Mileski)

3.2.4.3. Određivanje antimikrobne aktivnosti

3.2.4.3.1. Priprema mikrobioloških kultura

Prekonoćne kulture bakterija: Bakterijski sojevi koji su štokirani u glicerolu, sterilnom špatulom su zasejavani u 2 mL TSB hranjive podloge. Zasejane kulture su u duplikatu zajedno sa kontrolnim TSB epruvetama inkubirane u termostatu 24 h na 37 °C. Iz prekonoćne kulture koja sadrži približno 1×10^9 ćelija/mL, uzeto je 100 μ L i preneto u ependorf koji sadrži 900 μ L hranjive tečne podloge. Na taj način se dobija koncentracija 1×10^8 koja se koristi za mikrodilucionu metodu. Daljim serijskim razređenjima dobijaju se željene koncentracije. Po 10 mL sterilisane tečne podloge se razliva u sterilne epruvete. Nakon toga se vrši inokulacija sa po 133 μ L pripremljene suspenzije mikroorganizama, da bi se dobila konačna gustina suspenzije bakterija od 1×10^6 ćelija/mL.

Kulture gljiva: Mikromicete se gaje na MA podlozi u periodu od 21 dana na sobnoj temperatura i nakon toga se odlože na + 4 °C do dalje upotrebe (Booth, 1971). Inokulum se priprema spiranjem spora kulture koja je stara 7 dana sa površine medijuma i to sterilnim rastvorom 0,85% NaCl-a koji sadrži 0,1% Tweena 80 (v/v). Suspenzija spora se na taj način dovede do konačne koncentracije od 1×10^6 ćelija/mL medijuma koji se dalje koristi. Tako pripremljen inokulum drži se na + 4 °C do naredne analize. Radi provere validnosti inokuluma i provere odsustva kontaminacije, vrši se reinokulacija na čvrstu MA podlogu. Konačna koncentracija suspenzije spora u bunarčiću ploče od 100 µL iznosi 1×10^5 ćelija/mL.

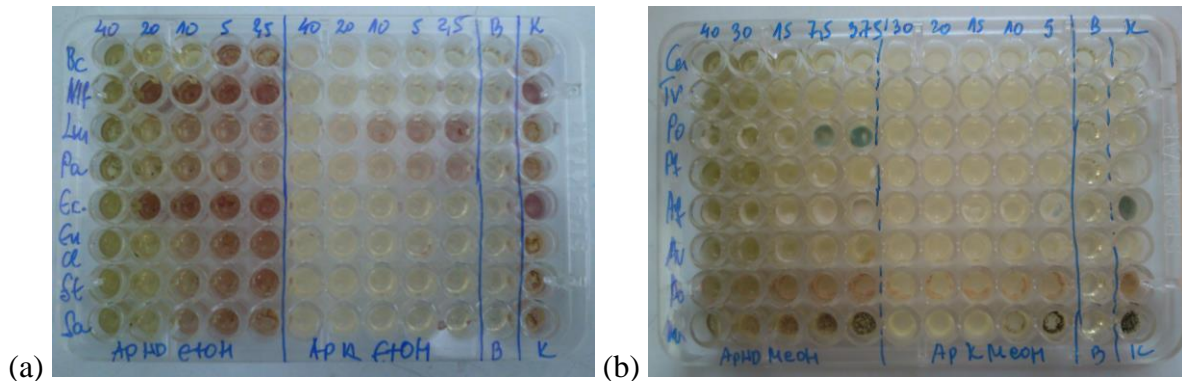
3.2.4.3.2. Priprema početnih rastvora suvih ekstrakata

Suvi ekstrakti testiranih vrsta rastvoreni su u 5% DMSO da bi se dobila početna, radna koncentracija rastvora ekstrakata 30 mg/mL za ekstrakte *E. sibthorpiana* i 20 mg/mL za ekstrakte ostalih analiziranih vrsta. Zatim su ispitivana dejstva različitih razblaženja štok rastvora ekstrakata na 16 patogenih mikroorganizama, uključujući 8 bakterija i 8 mikrogljiva kako bi se odredio njihov antimikrobni potencijal.

3.2.4.3.3. Metoda mikrodilucije

Za utvrđivanje antimikrobne aktivnosti ispitivanih ekstrakata i etarskih ulja korišćena je izmenjena metoda koju su publikovali Hanel i Raether, 1998; Daouk i sar., 1995; CLSI (2009). Postupak određivanja minimalne inhibitorne (MIK) i minimalne baktericidne i fungicidne koncentracije (MFK i MBK) uzoraka izvodi se u sterilnim 96-sistemskim mikrotitracionim pločama sa U dnom (**Slika 34**). U bunarčiće sterilnih ploča prvo se sipa tečni medijum, zatim se dodaju uzorci koji se testiraju i na kraju inokulumi bakterija ili gljiva koji se pripremaju pre izvođenja eksperimenta. Jedna kolona sadrži samo medijum - blank kolona, dok druga sadrži tečni medijum i testirane suspenzije mikroorganizama, gde se prati njihov rast bez uticaja testiranog uzorka. Određivanje efikasnih koncentracija ispitivanih ekstrakata i etarskih ulja vršeno je njihovim serijskim razređenjima. Serijom duplih razblaženja testiraju se čista, nerastvorena etarska ulja i početni 5% DMSO rastvori testiranih ekstrakata. Uzorci se dodaju u odgovarajući tečni medijum tj. hranljivu podlogu - TSB za bakterije i MB za gljive (osim za

sojeve roda *Candida* za koje se koristi TSB podloga). Nakon dodavanja određene količine suspenzije bakterija ili spora, mikrotitracione ploče se inkubiraju 48 h na 37 °C (bakterije) ili 72 h na 27 °C (gljive). Sve uzorke i inokulume obavezno je dobro mešati na vorteksu. Posle inkubacije vrši se čitanje rezultata odnosno definišu se MIK, MBK i MFK vrednosti.



Slika 34. Određivanje: (a) antibakterijske aktivnosti etanolnih ekstrakata (b) antifungalne aktivnosti metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena *A. panicii* metodom mikrodilucije (foto: K. S. Mileski)

Rast testiranih bakterija vizuelno se određuje kolorimetrijskim testom za detekciju vijabilnih bakterija koje se boje roze i bazira se na redukciji 40 μ L 0,2% *p*-jodonitrotetrazolijum (2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-fenil tetrazolijum hlorid (INT) vodenog rastvora u prisustvu živih ćelija (obezbojavanje). Nakon 2 h inkubacije na 37 °C u prisustvu ovog jedinjenja, rezultati se porede sa pozitivnom kontrolom svakog soja (CLSI, 2009; Tsukatani i sar. 2012). Očitavanje rezultata antifungalne aktivnosti vrši pod binokulranom lupom. MIK vrednosti su definisane kao najniže koncentracije testiranih uzoraka u kojima nema vidljivog rasta patogena. MBK i MFK se određuje serijom reinokuliranja sadržaja svih bunarića sa efektivnim koncentracijama u nove petri-ploče sa odgovarajućim čvrstim podlogama, pa inkubacijom 48 h na 37 °C ili 72 h na 28 °C, a zatim brojanjem kolonija koje su porasle nakon inkubacije. Minimalne koncentracije gde nije bilo vidljivog rasta definisane su kao MBK/MFK, što ukazuje da te koncentracije uzoraka dovode do 99,5% smrtnosti bakterija, tj. gljiva u odnosu na početni inokulum. Rastvor komercijalnog antibiotika streptomicina koncentracije 1 mg/mL u 5% DMSO je korišćen kao pozitivna kontrola za bakterije, dok je za gljive upotrebljen rastvor sintetičkog antimikotika

flukonazola (2 mg/mL). Sterilna destilovana voda koja sadrži 0,02% Tween 80 i 5% DMSO je služila kao negativna kontrola. Dva ponavljanja testiranja su izvršena za svaki soj.

3.2.4.4. Određivanje anti-QS aktivnosti

3.2.4.4.1. Uslovi gajenja bakterijske kulture *Pseudomonas aeruginosa*

Za određivanje anti-QS aktivnosti korišćen je soj *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 iz zbirke mikoteke Mikološke laboratorije, Instituta za Biološka istraživanja “Siniša Stanković” u Beogradu, Srbija. Bakterija je na 37 °C gajena na Luria-Bertani (LB) medijumu (1% w/v NaCl, 1% w/v Trypton, 0,5% w/v sladni ekstrakt) uz mešanje (220 rpm).

3.2.4.4.2. Formiranje biofilma

Za određivanje efekata ekstrakata/etarskih ulja na formiranje biofilma *P. aeruginosa* primenjena je metoda koju su opisali Drenkard i Ausubel (2002); Spoering i Lewis (2001) sa nekim modifikacijama. Testirana je anti-biofilm sposobnost različitih subMIK koncentracija (0,125, 0,25 i 0,5 MIK vrednosti) uzoraka na polistirenskim mikrotitracionim pločama sa ravnim dnom i sa 96 bunarčića. Odmah nakon pipetiranja 100 µL sub-inhibitorne koncentracije (subMIK) testiranih uzoraka i 100 mL medijum (kontrola), 100 µL inokuluma *P. aeruginosa* prekonoćne kulture (1×10^8 ćelija/mL) dodato je u svaki bunarčić ploče. Inkubacija na 37 °C je trajala 24 h i nakon toga je svaki bunarčić dva puta spiran sa sterilnim fosfatnim puferom (pH 7,4), a zatim osušen. Kako bi se odredila masa biofilma, sipano je 0,1% kristal violet boje i ostavljeno da stoji 10 min. Nakon sušenja, 200 µL 95% etanola (v/v) je dodato kako bi se rastvorila boja koja je obojila ćelije biofilma. Ostatak boje je spran sa destilovanom vodom. Nakon 10 min, sadržaj bunarčića je homogenizovan i apsorbancije su čitane na $\lambda=625$ nm na Sunrise™ - TecanELISA čitaču. Uzorci su mereni u triplikatima i eksperiment je ponovljen dva puta. Vrednosti rezultata su prezentovane kao SV tri merenja \pm SD.

3.2.4.4.3. Testovi pokretljivosti bakterija (Twitching i flagella test)

Za određivanje pokretljivosti ćelija *P. aeruginosa* (Twitching i flagella test) korišćena je suspenzija od 1×10^8 ćelija/mL apsorbance 0,1 na 660 nm. U petri kutije sa 10 mL otopljenog MH medijuma dodate su subMIK (0,5 MIK) koncentracije uzoraka i lagano pomešane. Petri kutije su tačkasto inokulirane sa prekonocnom kulturom PAO1 i inkubirane su 3 dana na 37 °C. Morfološke karakteristike kolonija (ivice kolonija) bakterije kao i obim zone kretanja merene su pomoću svetlosnog mikroskopa (Leika, type 020-518.500 DM LS, Nemačka) (O'Toole i Kolter; 1998a,b; Sandy i Foong-Yee, 2012). Uzorci su mereni u triplikatima i eksperiment je ponovljen dva puta. Dijametri kolonija mereni su po tri puta u različim delovima i vrednosti su prezentovane kao SV tih merenja \pm SD.

3.2.4.4.4. Produkcija piocijanina

Kvantifikacija sposobnosti etarskih ulja i ekstrakata testiranih vrsta da inhibiraju sintezu piocijanina *P. aeruginosa* izvedena je korišćenjem prekonocne kulture *P. aeruginosa* PAO1, standardizovanoj na $OD_{600nm}=0,2$. Epruvete sa prekonocnom kulturom i različitim koncentracijama etarskih ulja/ekstrakata inkubirane su 24 h na 37 °C. Nakon toga, tretirane kulture ekstrahovane su sa 3 mL hloroforma, posle čega je usledilo mešanje hloroformskog sloja sa 1 mL 0,2M HCl. Očitavanje apsorbanci na 520 nm ekstrahovanog organskog sloja je izvršeno na Shimadzu UV1601 spektrofotometru (Kyoto, Japan) (Sandy i Foong-Yee, 2012). Uzorci su mereni u triplikatima i eksperiment je ponovljen dva puta. Vrednosti rezultata su izražene kao odnos $(Ap_{520}/Ap_{600}) \times 100$.

3.2.5. Statistička analiza

Svi uzorci su testirani tri puta i svaki eksperiment je ponovljen dva/tri puta. Rezultati su izraženi kao srednje vrednosti tih merenja i njihova standardna devijacija. Rezultati su analizirani uz pomoć One-Way ANOVA analize varijanse (sa jednom zavisnom promenljivom-varijablom) po Tukey's HSD Test-u sa $\alpha=0,05$. Ove analize urađene su u SPSS v. 18,0 programu.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Analiza hemijskog sastava etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta

4.1.1. Usporedna analiza hemijskog sastava etarskih ulja

Ferulago macedonica: Hemijski sastav etarskih ulja vršnog i nadzemnog dela vrste *F. macedonica* analizirani su prvi put u okviru ovog istraživanja pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. Izolovana etarska ulja bila su žute boje i intenzivnog mirisa, pri čemu je prinos ulja iz nadzemnog dela biljke bio veći (**Tabela 3**). Kao što se može videti u **Tabeli 9**, u oba analizirana ulja identifikovano je ukupno 64 jedinjenja. Od toga, u etarskom ulju vršnog dela *F. macedonica* je nađeno 38 komponenti, što predstavlja 99,89% ukupnog sadržaja ulja. Prema dobijenim rezultatima ovo etarsko ulje je bogato oksidovanim monoterpenskim ugljovodonicima (47,37%), dok su u nešto manjem procentu prisutni monoterpenški ugljovodonici (34,21%), zatim seskviterpenški ugljovodonici (10,53%), a oksidovani seskviterpenški ugljovodonici činili su 7,89% ukupne količine ulja. Etarsko ulje vršnog dela ove vrste karakterisalo je prisustvo velike količine α -pinena (43,10%) i sabinena (26,73%), zatim limonena (6,53%), mircena (4,52%), terpinen-4-ola (3,7%), *p*-cimena (2,95%), *cis*-hrizantenil acetata (2,78%) i β -pinena (1,49%). Ostale komponente su prisutne u količini manjoj od 1% kao što je prikazano u **Tabeli 9**.

U etarskom ulju nadzemnog dela *F. macedonica* utvrđeno je prisustvo 56 jedinjenja što predstavlja 98,80% ukupne količine ulja. Dominantna klasa jedinjenja u ovom etarskom ulju su monoterpenoidi (67,86%), sa jednakom zastupljenošću monoterpenskih i oksidovanih monoterpenskih ugljovodonika (po 33,93% za obe grupe), zatim seskviterpenški ugljovodonici (17,86%) i oksidovani seskviterpenški ugljovodonici (14,28%). Glavne komponente etarskog ulja su α -pinen (22,78%), sabinen (15,46%), terpinen-4-ol (9,60%), *cis*-hrizantenil acetat (9,46%) i *p*-cimen (9,08%). U grupi manje zastupljenih jedinjenja su limonen (3,88%), *p*-cimen-8-ol (2,39%), *trans*-verbenol (2,35%), α -tujen (1,84%), *trans*-pinokarveol (1,68%), verbenon (1,35%), mircenol (1,27%), mircen (1,15%) i kariofilen oksid (1,13%). Ostali konstituenti su prisutni u količini manjoj od 1% (**Tabela 9**).

Tabela 9. Hemijski sastav etarskih ulja vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica*.

JEDINJENJE	KIE	KIL	%^a	%^b
α -Tujen	924,1	924	0,56	1,84
α-Pinen	931,0	932	43,10	22,78
Kamfen	943,5	946	0,20	0,14
Tuja-2,4(10)-dien	950,0	953	0,12	0,39
Sabinen	970,6	969	26,73	15,46
β -Pinen	972,7	974	1,49	0,96
Mircen	990,0	988	4,52	1,15
Mesitilen	993,2	994	-	0,11
α -Terpinen	1014,2	1014	0,06	-
<i>p</i>-Cimen	1022,2	1020	2,95	9,08
Limonen	1025,8	1024	6,53	3,88
<i>cis</i> - β -Ocimen	1037,7	1032	0,23	-
<i>trans</i> - β -Ocimen	1047,8	1044	0,28	-
γ -Terpinen	1056,3	1054	0,20	0,15
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	1066,6	1065	0,20	0,35
6-Kamfenon	1093,3	1095	0,32	0,45
<i>trans</i> -Sabinen hidrat	1097,9	1098	0,15	0,63
Linalool	1102,2	1095	-	0,14
β -Tujon	1114,8	1112	-	0,09
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1120,9	1118	0,22	0,55
α -Kamfolenal	1124,2	1122	0,11	0,71
<i>trans</i> -Pinokarveol	1137,3	1135	-	1,68
<i>cis</i> -Verbenol	1139,8	1137	0,47	-
<i>trans</i> -Verbenol	1144,5	1140	0,66	2,35
Sabina keton	1156,6	1154	-	0,78
Pinokarvon	1160,0	1160	0,09	-
<i>cis</i> -Hrisantenol	1165,1	1160	0,11	0,85
<i>cis</i> -Sabinol	1171,5	1170	-	0,41
Terpinen-4-ol	1176,0	1174	3,97	9,60
<i>p</i> -Cimen-8-ol	1188,1	1179	-	2,39
α -Terpineol	1191,8	1186	0,30	-
Mirtenal	1194,3	1195	0,15	0,40
Mirtenol	1197,3	1194	0,28	1,27
Verbenon	1207,7	1204	0,33	1,35
<i>trans</i> -Karveol	1221,7	1215	-	0,78
<i>cis</i> -Karveol	1225,1	1226	0,21	-
Karvone	1244,7	1239	-	0,32
<i>cis</i> -Hrisantenil acetat	1259,6	1261	2,78	9,46
<i>iso</i> -3-Tujanol-acetat	1269,7	1267	-	0,06
<i>trans</i> -Askaridol glikol	1273,9	1273	0,18	0,27
α -Terpinen-7-al	1285,4	1283	-	0,16
<i>p</i> -Cimen-7-ol	1296,5	1289	-	0,93
<i>cis</i> -Pinokarvil acetat	1303,1	1311	0,24	0,07
Karvakrol	1313,3	1298	-	0,76
α -Kopaen	1371,9	1374	0,15	0,16
β -Burbonen	1380,5	1387	-	0,06
β -Elemen	1389,1	1389	-	0,11
Metil eugenol	1407,4	1403	-	0,61
β -Kariofilen	1414,8	1417	0,37	0,20
6,9-Gvajadiene	1452,2	1442	-	0,13
<i>trans</i> - β -Farnezen	1455,2	1454	0,25	0,46
Germakren D	1477,3	1484	0,23	-

β -Selenin	1482,0	1489	-	0,69
Valenken	1489,2	1496	-	0,34
α -Murolen	1496,9	1500	-	0,14
Miristicin	1524,9	1517	0,48	0,44
Salviadienol	1553,5	1545	-	0,27
Spatulenol	1576,0	1577	-	0,55
Kariofilen oksid	1579,6	1582	0,52	1,13
Humulen epoksid II	1605,8	1608	-	0,36
β -Biotol	1611,4	1612	-	0,11
Murola-4,10(14)-dien-1- β -ol	1629,6	1630	0,15	-
Eudezma-4(15),7-dien-1- β -ol	1685,5	1687	-	0,13
Oktil benzoat	1788,0	1792	-	0,17
KLASA JEDINJENJA				
Monoterpenški ugljovodonici			86,97	55,94
Oksidovani monoterpeni			10,77	36,81
Seskviterpenški ugljovodonici			1,00	2,90
Oksidovani seskviterpeni			1,15	3,16
Ukupno identifikovano			99,89	98,81

KIE-Kovats-ev (retencioni) indeks eksperimentalno određen (AMDIS)

KIL-Kovats-ev (retencioni) indeks literaturni podatak (Adams, 2007)

^aVršni deo, ^bNadzemni deo

Echinophora sibthorpiana: Na osnovu priloženih rezultata u **Tabeli 3.** može se videti da je najveći prinos etarskog ulja (intenzivno žute boje, oštrog i jakog mirisa) dobijen iz nadzemnog dela biljke *E. sibthorpiana*. Rezultati analize hemijskog sastava ovog etarskog ulja dati su u **Tabeli 10.** Na osnovu GC-FID i GC-MS analiza, identifikovano je 26 konstituenata odnosno 99,33% ukupne količine ulja. Najzastupljenija komponenta etarskog ulja je metil eugenol (60,40%). U značajnijoj količini su prisutni i *p*-cimen (11,18%) i α -felandren (10,23%), zatim α -felandren epoksid (6,87%), β -felandren (2,92%) i karvakrol (1,74). Fenilpropanoidi su prisutni u najvećem procentu (60,78%), zatim slede monoterpenški ugljovodonici (26,23%) i oksidovani monoterpeni (11,60%), dok su diterpenški ugljovodonici zastupljeni sa 0,10% (**Tabela 10**).

Tabela 10. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela *E. sibthorpiana*.

JEDINJENJE	KIE	KIL	%
α -Tujen	923,5	924	0,22
α -Pinen	929,0	932	0,44
Sabinen	969,9	969	0,42
β -Pinen	972,0	974	0,07
Mircen	990,5	988	0,39
α-Felandren	1002,5	1002	10,23
<i>p</i>-Cimen	1023,3	1020	11,18
β -Felandren	1026,2	1025	2,92
γ -Terpinen	1056,7	1054	0,21

α -Terpinolen	1086,3	1086	0,15
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1120,6	1118	0,39
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1139,5	1136	0,25
Terpinen-4-ol	1175,9	1174	0,15
Kripton	1185,4	1183	0,78
<i>cis</i> -Piperitol	1195,2	1195	0,08
α -Felandren epoksid	1203,6	1202	6,87
<i>trans</i> -Piperitol	1208,7	1207	0,38
<i>cis</i> -Karvotanacetol	1232,2	-	0,08
Kumin aldehid	1241,5	1238	0,67
<i>trans</i> -Karvotanacetol	1246,8	1244	0,21
<i>cis</i> -Hrizantenil acetat	1259,3	1261	0,10
Karvakrol	1315,1	1298	1,74
Metil eugenol	1414,9	1403	60,40
Miristicin	1525,5	1517	0,52
Kariofilen oksid	1579,6	1582	0,38
Neofitadien (izomer II)	1835,7	1830	0,10

KLASA JEDINJENJA

Monoterpeni ugljovodonici	26,23
Oksidovani monoterpeni	11,60
Oksidovani seskviterpeni	0,62
Fenilpropanoidi	60,78
Diterpeni ugljovodonici	0,10
Ukupno identifikovano	99,33

KIE-Kovats-ev (retencioni) indeks eksperimentalno određen (AMDIS)
 KIL-Kovats-ev (retencioni) indeks literaturni podatak (Adams, 2007)

Laserpitium ochridanum: U ovom radu analiziran je hemijski sastav etarskog ulja endemične i retke vrste *L. ochridanum*. Destilacijom nadzemnih delova biljke dobijeno je etarsko ulje intenzivno intenzivno plave boje, u prinosu od 0,11%. Na osnovu dobijenih rezultata (**Tabela 11**), može se videti da je identifikovano 59 jedinjenja što predstavlja celokupan sadržaj ulja (100%). Monoterpeni ugljovodonici (40,87%) su najzastupljenija grupa jedinjenja, zatim oksidovani seskviterpeni ugljovodonici (24,00%), oksidovani monoterpeni ugljovodonici (15,27%) i seskviterpeni ugljovodonici (13,10%). Dominanta jedinjenja ovog etarskog ulja su sabinen (22,8%), viridiflorol (14,7%) i α -pinen (11,4%). U grupi manje zastupljenih jedinjenja detektovani su *n*-oktanol, terpinen-4-ol, β -kedren-9-on, α -bisabolol, spatulenol i hamazulen (3,04%) od koga potiče intenzivno plava boja etarskog ulja. Sve ostale determinisane komponente bile su zastupljene u količini manjoj od 2% (**Tabela 11**).

Tabela 11. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela *L. ochridanum*.

JEDINJENJE	KIE	KIL	%
α -Tujen	919,1	924	0,32
α-Pinen	924,8	932	11,36
Tuja-2,4(10)-dien	944,9	953	0,17
Sabinen	965,6	969	22,76
β -Pinen	974,7	974	0,80
Mircen	985,7	988	0,69
<i>n</i> -Oktanal	997,2	998	0,39
α -Terpinen	1009,4	1014	1,02
<i>p</i> -Cimen	1018,0	1020	0,35
β -Felandren	1020,9	1025	0,96
γ -Terpinen	1051,3	1054	1,93
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	1057,3	1065	0,56
<i>n</i> -Oktanol	1069,3	1063	3,86
Terpinolen	1080,7	1086	0,51
6-Kamfenon	1088,1	1095	0,59
<i>trans</i> -Sabinen hidrat	1097,0	1098	0,29
6-Kamfenol	1113,5	1111	0,43
α -Kamfolenal	1119,3	1122	0,56
<i>trans</i> -Pinokarveol	1132,4	1135	0,85
<i>trans</i> -Sabinol	1135,5	1137	0,40
<i>trans</i> -Verbenol	1139,6	1140	1,79
Terpinen-4-ol	1171,0	1174	3,86
Tuj-3-en-10-al	1178,9	1181	0,31
α -Terpineol	1186,8	1186	0,28
Mirtenal	1188,8	1193	0,37
Mirtenol	1192,1	1194	0,54
Verbenon	1204,0	1204	0,19
Oktanol acetat	1207,5	1211	1,26
Izobornil acetat	1277,8	1283	0,50
α -Terpinil acetat	1343,0	1346	0,21
Ciklosativen	1366,2	1369	0,27
α -Kopaen	1370,2	1374	1,12
Daucen	1376,8	1380	0,69
β -Kubeben	1381,1	1387	0,23
β -Elemen	1383,4	1389	0,43
(<i>E</i>)-Kariofilen	1409,0	1417	1,62
<i>Trans</i> - α -Bergamoten	1427,0	1432	0,18
α -Humulen	1443,5	1452	0,66
(<i>E</i>)- β -Farnezen	1450,2	1454	0,19
<i>Cis</i> -Murola-4(14),5-diene	1460,6	1465	0,20
γ -Himahalen	1467,9	1468	0,81
Dauca-5,8-dien	1471,4	1471	1,96
<i>ar</i> -Kurkumen	1475,5	1479	0,19
β -Selinen	1487,0	1489	1,73
<i>cis</i> -Eudezma-6,11-dien	1488,0	1489	0,83
Biciklogermakren	1494,9	1500	0,44
β -Bisabolen	1500,6	1505	0,12
δ -Kadinen	1514,3	1522	0,70
α -Kalakoren	1546,1	1544	0,80
Spatulenol	1570,3	1577	2,65
Kariofilen oksid	1573,4	1582	1,16
Viridiflorol	1588,9	1592	14,71

1- <i>epi</i> -Kubenol	1627,5	1627	0,54
β -Kedren-9-on	1631,6	1630	2,44
β -Eudezmol	1649,4	1649	0,44
α -Bisabolol	1679,3	1685	2,20
Hamazulen	1721,9	1730	3,04
Neofitadien (izomer II)	1829,5	1830	1,02
Incensol acetat	2181,9	2184	0,52
KLASA JEDINJENJA			
Monoterpeni ugljovodonici			40,87
Oksidovani monoterpeni			15,27
Seskviterpeni ugljovodonici			13,10
Oksidovani seskviterpeni			24,00
Ostalo			6,76
Ukupno identifikovano			100,00

KIE-Kovats-ev (retencioni) indeks eksperimentalno određen (AMDIS)

KIL-Kovats-ev (retencioni) indeks literaturni podatak (Adams, 2007)

Heracleum orphanidis: Procesom hidrodestilacije iz nadzemnog dela vrste *H. orphanidis* dobijeno je 0,08% etarskog ulja (**Tabela 3**) žute boje i prijatnog mirisa. Analizom hemijskog sastava ovog uzorka identifikovano je 55 konstituenata, što predstavlja 97,24% ukupnog sadržaja ulja (**Tabeli 12**). Ovo ulje karakteriše značajno prisustvo derivata masnih kiselina (80,78%). U najvećoj količini nalaze se masni alkoholi (40,98%), estri masnih kiselina (39,80%) i karbonilna jedinjenja (16,46%), među kojima su seskviterpeni ugljovodonici najdominantniji sa 4,63% ukupnog sadržaja. Aldehidi su zastupljeniji od ketona sa *n*-oktanalom u najvećem procentu (1,20%), dok je među ketonima najzastupljeniji oplopanon (2,12%). Jedinjenja koja su u *H. orphanidis* etarskom ulju detektovana u najvišim koncentracijama su masni alkohol *n*-oktanol (39,57%) i estri masnih kiselina *n*-oktil heksanoat (17,62%) i *n*-oktil acetat (14,12%) (**Tabela 12**).

Tabela 12. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela *H. orphanidis*.

JEDINJENJE	KIE	KIL	%
<i>n</i> -Heptanal	911,9	901	0,09
Sabinen	966,5	969	0,21
2-Pentil furan	984,9	984	0,10
<i>n</i> -Oktanal	998	998	1,20
<i>n</i>-Oktanol	1090,8	1063	39,57
<i>n</i> -Nonanal	1099	1100	0,77
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1121,4	1118	0,12
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1138	1136	0,11
<i>trans</i> -Verbenol	1142,9	1140	0,09
<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	1165,1	1166	0,08
Terpinen-4-ol	1171,7	1174	0,45
<i>p</i> -Cimen-8-ol	1187,9	1179	0,24
<i>n</i>-Oktil acetat	1210,3	1211	14,12
<i>n</i> -Dekanol	1266,1	1266	1,41

Izobornil acetat	1271,6	1283	0,20
Undekanal	1294,2	1305	0,29
α -Kopaen	1357,9	1374	0,16
Daucen	1361,7	1380	0,18
β -Burbonen	1366,5	1387	0,30
β -Elemen	1378,1	1389	2,03
Dodekanal	1395,8	1408	0,24
Decil acetat	1397,5	1407	0,76
<i>trans</i> -Kariofilen	1402,3	1417	0,47
<i>n</i> -Oktil 2-metil butirat	1425,2	1421	1,39
α -Humulen	1434,3	1452	0,17
<i>trans</i> - β -Farnesen	1440,5	1454	0,16
Germakren D	1462,5	1484	0,49
β -Selinen	1467,3	1489	0,34
(E)- β -Jonon	1469,5	1487	0,42
α -Selinen	1477,4	1498	0,33
<i>n</i> -Oktil 3-metil-2-butenat	1504,5	-	0,47
<i>trans</i> -Nerolidol	1560,1	1561	0,98
Oktil heksanoat	1581,7	1570	17,62
Karotol	1589,7	1594	0,30
Tetradekanal	1596,9	1611	0,18
Hinesol	1637,8	1640	0,18
Selina-3,11-dien-6- α -ol	1641,0	1642	0,19
Kedr-8(15)-en-10-ol	1650,3	1650	0,13
Kedr-8(15)-en-9- α -ol	1655,3	1650	0,16
8-Kedren-13-ol	1690,1	1688	0,13
<i>epi</i> -Notkatol	1703,7	1699	0,11
Oplopanon	1745,4	1739	2,12
Oktil oktanoat	1763,8	1767	1,91
Oktil benzoat	1799,3	1792	0,13
Neofitadien, Izomer II	1822,8	1830	1,36
Heksahidrofarnesil aceton	1828,6	1845	0,22
Neofitadien, Izomer III	1846,1	1854	0,03
Oktil nonanoat	1856	1876	0,13
Nonadekan	1884,9	1900	0,06
Metil heksadekanoat	1917,1	1921	0,12
Oktil dekanat	1963,4	1978	2,55
Oktadekanal	2017,1	2017	0,48
<i>trans</i> -Fitol	2091,5	2114	0,79
Oktil dodekanoat	2150,1	2158	0,14
Oktil tetradekanoat	2348,8	2374	0,26
KLASA JEDINJENJA			
Monoterpenski ugljovodonici			0,21
Oksidovani monoterpeni			1,09
Seskviterpenski ugljovodonici			4,63
Oksidovani seskviterpeni			2,18
Oksidovani diterpeni			0,79
Alhidi			3,25
Estri masnih kiselina			39,8
Masni alkoholi			40,98
Ketoni			2,54
Ostalo			1,77
Ukupno identifikovano			97,24

KIE-Kovats-ev (retencioni) indeks eksperimentalno određen (AMDIS)
 KIL-Kovats-ev (retencioni) indeks literaturni podatak (Adams, 2007)

Angelica panicii: Iz **Tabele 3.** se može videti da je prinos etarskog ulja nadzemnog dela *A. panicii* bio nemerljiv. Procesom destilacije vodenom parom dobijeno je etarsko ulje intenzivno zelene boje. Na osnovu rezultata GC-FID i GC-MS analize etarskog ulja, pronađeno je 81 jedinjenje (**Tabela 13**). Etarsko ulje ove vrste bogato je oksidovanim seskviterpenima (34,96%), seskviterpenskim ugljovodonicima (21,88%), oksidovanim monoterpenima (19,22%), derivatima masnih kiselina (12,36%), a identifikovana su i dva oksidovana diterpena (4,41%) i jedan diterpenski ugljovodonik (3,87%). Alkoholi su najbrojniji među oksidovanim jedinjenjima monoterpena, seskviterpena i derivata masnih kiselina (8,88%, 21,32%, 7,91%, redom). Glavne komponente *A. panicii* ulja su estar monoterpenskog alkohola borneola - bornil acetat (8,08%), masni alkohol *n*-oktanol (5,82%), seskviterpenoidi kesan (4,26%), β -selinen (4,26%), diterpen neofitadien (3,87%), zatim humulen epoksid II (3,51%) i oksidovani monoterpeni *trans*-sabinen hidrat (3,32%) i *trans-p*-ment-2-en-1-ol (3,26%). U grupi manje zastupljenih jedinjenja identifikovani su β -elemen (2,73%), 3-(4,8,12-trimetiltridecil), furan (2,67%), spatulenol (2,58%), α -bisabolol (2,46%), globulol (2,26%), oktanol acetat (2,21%) i β -akorenol (2,16%). Ostala jedinjenja su prisutna u količini manjoj od 2% (**Tabela 13**).

Tabela 13. Hemijski sastav etarskog ulja nadzemnog dela *A. panicii*.

JEDINJENJE	KIE	KIL	%
n.i.*			0,17
Heptanal	900,6	901	0,20
α -Pinen	932,2	932	0,66
4-Metolpent-2-enolid	947,8	945	0,13
<i>n</i> -Heptanol	959,1	959	0,05
3- <i>p</i> -Menten	985,7	984	0,06
2-Pentilfuran	986,0	993	0,13
<i>n</i> -Oktanal	995,0	998	1,26
α -Terpinen	1016,4	1014	0,08
<i>p</i> -Cimen	1019,8	1020	0,56
β -Felandren	1023,2	1025	0,55
Benzen acetaldehid	1041,2	1036	0,17
<i>n</i>-Oktanol	1068,5	1063	5,82
<i>m</i> -Cimenen	1082,9	1083	0,58
2-Nonanon	1087,3	1087	0,08
<i>n</i> -Nonanal	1099,1	1100	0,51
<i>trans</i> -Sabinen hidrat (IPP vs OH)	1112,1	1098	3,32
Oktil format	1125,6	1127	0,38
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1133,5	1136	3,26
<i>trans</i> -Sabinol (<i>trans</i> za OH vs. IPP)	1143,8	1137	0,59
Borneol	1164,9	1165	0,35
<i>p</i> -Cimen-8-ol	1178,0	1179	0,24
<i>cis</i> -Piperitol	1192,9	1195	0,94

Verbenon	1204,1	1204	1,43
Oktanol acetat	1209,7	1211	2,21
<i>trans</i> -Karveol	1219,7	1215	0,18
Piperiton	1252,2	1249	0,47
2E-Decenal	1263,6	1260	0,40
Bornil acetat	1287,0	1287	8,08
Lavandulil acetat	1291,4	1288	0,38
α -Longipinen	1349,4	1350	0,43
α -Ilangen	1373,0	1373	0,28
Izoleđen	1375,5	1374	0,45
α -Kopaen	1378,3	1374	0,82
Daucen	1382,3	1380	0,57
β -Burbonen	1387,2	1387	0,50
β -Elemen	1385,7	1389	2,73
β -Funebren	1415,2	1413	0,45
β -Kedren	1421,6	1419	0,60
<i>trans</i> - α -Bergamoten	1438,2	1432	0,39
α -Himakalen	1451,3	1449	0,27
7- <i>epi</i> -1,2-Dehidro-seskvicineol	1474,5	1471	0,83
α -Amorfen	1479,7	1483	1,70
<i>cis</i> -Eudezma-6,11-dien	1483,5	1489	1,17
b-Selinen	1489,2	1489	4,25
β -Dihidroagarofuran	1490,4	1496	0,98
α -Selinen	1495,2	1498	1,79
Izodaucen	1496,9	1500	1,00
β -Bisabolen	1505,0	1505	0,43
Izobornil izovalerat	1513,3	1521	1,06
Kesan	1524,1	1529	4,26
Selina-3,7(11)-dien	1532,9	1545	0,32
α -Kalakoren	1538,2	1544	0,83
Elemol	1548,0	1548	0,58
<i>cis</i> -Murol-5-en-4- α -ol	1551,1	1559	0,31
β -Kalakoren	1559,1	1559	0,43
<i>E</i> -Nerolidol	1562,3	1561	1,25
Spatulenol	1579,4	1577	2,58
Globulol	1584,8	1590	2,26
Viridiflorol	1594,9	1593	0,81
Humulen epoksid II	1607,9	1608	3,51
1- <i>epi</i> -Kubenol	1626,9	1627	0,70
β -Akorenol	1632,5	1636	2,16
Kadalen	1671,1	1675	1,40
α -Bisabolol	1684,9	1685	2,46
Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1691,7	1685	0,55
Akorenon B	1700,5	1697	0,46
Amorfa-4,9-dien-2-ol	1702,2	1700	1,70
Notkatol	1718,3	1714	1,42
Z-9-Pentadecenol**	1723,2	n/i	1,64
Z- α -Atlanton	1718,5	1717	1,11
<i>izo</i> -Longifolol	1722,2	1728	1,16
Eremofilon	1731,7	1734	1,15
Kedr-8(15)-en-9- α -ol acetat	1747,6	1741	0,59
<i>epi</i> -Ciklokolorenol	1772,7	1774	0,88
Akoron	1816,2	1819	0,70
Neofitadien	1835,1	1835	3,87
α -Cenopodiol	1853,5	1855	1,62

Florenzadiol	1873,5	1869	0,91
3-(4,8,12-Trimethyltridecyl) furan**	1962,0	n/i	2,67
Fitol	2103,0	2103	1,74
KLASA JEDINJENJA			
Monoterpenski ugljovodonici			2,49
Oksidovani monoterpeni			19,22
Seskviterpenski ugljovodonici			21,88
Oksidovani seskviterpeni			34,96
Derivati masnih kiselina			12,36
Diterpenski ugljovodonici			3,87
Oksidovani diterpeni			4,41
Ostalo			0,80
Ukupno identifikovano			99,83

KIE-Kovats-ev (retencioni) indeks eksperimentalno određen (AMDIS)

KIL-Kovats-ev (retencioni) indeks literaturni podatak (Adams, 2007)

* n.i.-nije identifikovano

**-tentativno određeno

4.1.2. Uporedna diskusija rezultata hemijskog sastava etarskih ulja

U ovoj doktorskoj disertaciji prvi put su predstavljeni rezultati analize hemijskog sastava etarskih ulja vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica* kao i nadzemnog dela vrste *H. orphanidis*. Pregled dobijenih rezultata ukazuje na to da je među testiranim etarskim uljima najveći broj jedinjenja zabeležen u ulju *A. pancicii* gde je detektovano ukupno 81 jedinjenje (**Tabela 13**). Sastav etarskog ulja je kompletno okarakterisan za vrstu *L. ochridanum* (**Tabela 11**). Prema priloženim podacima iz **Tabele 3**, za vrstu *E. sibthorpiana* je bio karakterističan najveći prinos izolovanog etarskog ulja. Najveća procentualna zastupljenost glavnog jedinjenja nađena je u etarskom ulju iste vrste gde je fenilpropanoid metil eugenol bio prisutan u koncentraciji od 60,40% (**Tabela 10**). Terpenoidi - monoterpenski i seskviterpenski ugljovodonici i njihove oksidovane forme su bili najzastupljenija klasa jedinjenja u etarskim uljima u ovom radu, ali su determinisane i druge grupe jedinjenja, kao što su fenilpropanoidi, razni derivati masnih kiselina (alkoholi, estri) itd. Prethodno su objavljeni podaci za hemijski sastav etarskih ulja drugih vrsta roda *Ferulago* (Bašer i sar., 2002; Demetzos i sar., 2000; Demirci i sar., 2000, Kilić i sar., 2010). U oba analizirana etarska ulja vrste *F. macedonica* zabeleženo je dominantno prisustvo oksidovanih monoterpena i monoterpenskih ugljovodonika (Mileski i sar., 2015), što je u skladu sa rezultatima koje su publikovali Khalighi-Sigaroodi i sar. (2005) za etarsko ulje nadzemnog dela *F. bernardii* (46,4% i 23,7%, redom). Glavne komponente etarskog ulja u pomenutom radu su bile 2,4,5-trimetil-benzaldehid (21,2%) i α -pinen (17,0%). Slične rezultate dobili su Özkan i

sar. (2008) koji su u etarskom ulju plodova *F. longistylis* konstatovali velike količine 2,3,6-trimetil-benzaldehida (29,0%) i α -pinena (17,0%). U etarskim uljima *F. macedonica* (Tabela 9), α -pinen je identifikovan u visokim koncentracijama, ali 2,4,5-trimetil-benzaldehid i 2,3,6-trimetil-benzaldehid nisu nađeni ni u jednom od testiranih uzoraka ulja. α -Pinen je kao glavna komponenta zastupljen i u etarskom ulju nadzemnog dela *F. phialocarpa* (40,9%) (Masoudi i sar., 2004) i plodova *F. confusa* (36,7%), koje je sadržalo i visoku koncentraciju *cis*-hrizantenil-acetata (37,7%) (Kürkçüoğlu i sar., 2010). Ovo jedinjenje je identifikovano u značajnom procentu u etarskom ulju nadzemnog dela *F. macedonica* (Tabela 9). Pored toga, etarska ulja nadzemnog dela i semena *F. angulata* hemijski su okarakterisana od strane autora Taran i sar. (2010) i Sodeifian i sar. (2011). Najzastupljenije jedinjenje etarskog ulja nadzemnog dela *F. angulata* subsp. *carduchorum* je bilo *cis*-ocimen, dok je u etarskom ulju semena to bio α -pinen (Taran i sar., 2010). Glavne komponente etarskog ulja nadzemnog dela ove vrste su bile suberozin (12,36%), spatulenol (10,9%) i *trans*- β -kariofilen (7,32%) (Sodeifian i sar. 2011). Od navedenih jedinjenja analiziranih etarskih ulja u ovim radovima, samo su spatulenol i *trans*- β -kariofilen identifikovani u etarskim uljima *F. macedonica* i to u tragovima. Na osnovu rezultata analize u ovom radu nisu uočene značajne razlike u zastupljenosti glavnih jedinjenja u etarskim uljima vršnog i nadzemnog dela, dok je analiza etarskih ulja plodova i korena *F. isaurica* pokazala da su α -pinen (31,5%), limonen (24,2%) i mircen (17%) glavne komponente ulja plodova, a da su terpinolen (42,1%) i mircen (27%) dominantni u ulju korena. Slične rezultate dobili su autori Erdurak i sar. (2006) za etarsko ulje plodova (mircen (15,3%) i 4,6-gvajadien (10,7%)) i koren vrste *F. syriaca* (bornil acetat (69,4%) i terpinolen (12,5%)).

Na osnovu literaturnih izvora pronađeni su podaci o sastavu etarskog ulja *E. tenuifolia* ssp. *sibthorpiana*, dok su u ovom radu prvi put objavljeni podaci o sastavu etarskog ulja *E. sibthorpiana* poreklom sa teritorije R. Makedonije (Mileski i sar., 2014). Pokazalo se da varijabilnost u prinosu i količini glavnog jedinjenja etarskog ulja *E. tenuifolia* subsp. *sibthorpiana* najviše zavise od perioda u kome se sakuplja biljni materijal i od spoljašnjih, prvenstveno klimatskih faktora (Chalchat i sar., 2011). Telci i Hisil (2008) su utvrdili da je za dobijanje najkvalitetnijeg etarskog ulja najbolji period za sakupljanje biljnog materijala *E. sibthorpiana* u vegetativnoj fazi. Nakon vegetativnog perioda, zbog smanjenja sadržaja etarskog ulja u listovima, opada vrednost ove vrste kao začinske biljke i kao sirovine za izradu čaja. U ovom istraživanju je u etarskom ulju *E. sibthorpiana* metil eugenol bio najzastupljenije

jedinjenje (**Tabela 10**), što je u saglasnosti sa ranije publikovanim rezultatima za etarsko ulje ove vrste u različitim ontogenetskim fazama, gde se količina ovog jedinjenja kretala od 41,80% do 62,90%, a po zastupljenosti su sledili α -felandren (30,40% u jednom uzorku) i *p*-cimen (7,80%-9,10%). U značajnijem procentu je bio prisutan i δ -3-karen (od 3,30% do 5,70%) (Telci i Hisil, 2008), koji nije nađen u ulju *E. sibthorpiana* iz Makedonije (**Tabela 10**). Slične podatke objavili su i Chalchat i sar. (2011), koji su tokom 6 godina izučavali uticaj klimatskih faktora na hemijski sastav ulja listova ove vrste i zaključili da je metil eugenol u nekim uzorcima ulja činio čak 90,16% ukupnog sadržaja (24,99%-90,16%). U istom radu su u značajnoj količini bili identifikovani i δ -3-karen (2,57%-34,80%) i *p*-cimen (1,23%-9,81%). Gokbulut i sar. (2013) su u analizi hemijskog sastava etarskog ulja nadzemnog dela *E. tenuifolia* detektovali δ -3-karen kao dominantno jedinjenje, ali njegovo prisustvo nije zabeleženo u ulju *E. sibthorpiana* u ovom radu, kao ni u istraživanju Georgiou i sar. (2010). Glamočlija i sar. (2011) su utvrdili da je δ -3-karen najzastupljeniji konstituent (60,86%) etarkog ulja nadzemnog dela *E. spinosa* iz Crne Gore. Slični rezultati su dobijeni za etarsko ulje nadzemnog dela *E. lamondiana* iz Turske (48,1% δ -3-karena) (Başer i sar., 2000). Hemijski sastav ulja nadzemnog dela *E. tenuifolia* subsp. *sibthorpiana* u fazi cvetanja (Evergetis i sar., 2013), gde su glavni konstituenti β -felandren i α -pinen i gde nije nađen metil eugenol, dosta se razlikuje od sastava etarskog ulja makedonske vrste koje karakteriše dominantno prisustvo metil eugenola i gde je α -pinen detektovan samo u tragovima (**Tabela 10**). U skladu sa prezentovanim rezultatima u **Tabeli 10**, koji su dobijeni u ovom istraživanju, analiza etarskog ulja *E. sibthorpiana* iz Grčke pokazala je da u periodu cvetanja ovo ulje ima veliku količinu α -felandrena (43,8%) i metil eugenola (28,6%) (Georgiou i sar., 2010). Na osnovu do sada iznetih podataka, može se zaključiti da postoje dva hemotipa etarskih ulja - jedan hemotip je bogatiji α i β felandrenima (Akgül i Chialva, 1989; Başer i sar., 1994; Evergetis i sar., 2013.), dok je za drugi karakteristična visoka koncentracija metil eugenola, što je bio rezultat ove i mnogih drugih studija (Ahmad i sar., 1999; Başer i sar., 1998; Chalchat i sar., 2011; Telci i Hisil, 2008). Na osnovu dosadašnjih istraživanja se može zaključiti da vrstu *E. tenuifolia* karakteriše jako mala količina ili potpuno odsustvo seskviterpenskih ugljovodonika što je dobijeno i u ovom radu gde njihovo prisustvo nije zabeleženo, kao ni u radovima Akgül i Chialva (1989) i Georgiou i sar. (2010). Brojne studije o hemijskom sastavu etarkog ulja *E. platyloba* pokazale su da je *trans*- β -ocimen bila najzastupljenija isparljiva komponenta u svim istraživanjima (od 20,89% do 67,9%) (Asghari i sar., 2003; Gholivand i sar.,

2011; Rahimi-Nasrabadi i sar., 2010; Saei-Dehkordi i sar., 2012). Iz **Tabele 10.** se može videti da ovo jedinjenje nije identifikovano u etarskom ulju *E. sibthorpiana*. Tan i Nishida (2012) su objavili da su uloge metil eugenola u prirodi uključene u mehanizam hemijske odbrane biljke i obuhvataju antifungalnu, antibakterijsku, antinematodalnu i toksičnu ulogu protiv različitih patogenih insekata i herbivora, kao i da ima ulogu u oprašivanju. Ustanovljeno je da i β -felandren poseduje jaku toksičnu i larvacidalnu aktivnost (Evergetis, 2013), dok metil eugenol deluje kao jak mišićni relaksans i antispazmolitik na izolovane intestinalne glatke mišiće (Magalhaes i sar., 1998), a može imati i pozitivan efekat na zdravlje čoveka redukujući cerebralna hipoksično-ishemična oštećenja i inflamacije (Choi i sar., 2010).

Do danas je publikovan veliki broj radova o hemijskom sastavu etarskih ulja različitih vrsta roda *Laserpitium*. Na osnovu literaturnog pregleda može se zaključiti da su monoterpenski ugljovodonici najzastupljenija grupa jedinjenja etarskih ulja vrsta roda *Laserpitium* (Bašer i Duman, 1997; Chizzola i sar., 1999; Chizzola, 2007; Petrović i sar., 2009; Popović i sar., 2010, 2014; Remigius i sar., 1999; Remigius, 2007; Tirillini i sar., 2009), uključujući i vrstu *L. ochridanum* (Popović i sar., 2014). Rezultati analize hemijskog sastava *L. ochridanum* u ovom istraživanju ukazuju da su jedinjenja sabinen i α -pinen prisutna u najvećim koncentracijama, što je u skladu sa rezultatima Popović i sar. (2014) koje su ovi autori su dobili za sastav etarskog ulja herbe. Nasuprot, limonen je bio glavno jedinjenje etarskog ulja plodova ove vrste, dok se na osnovu rezultata u ovom radu može konstatovati da limonen nije prisutan u etarskom ulju nadzemnog dela biljke (**Tabela 11**). Velika koncentracija viridiflorola uočena je samo u našoj analizi etarskog ulja makedonske vrste *L. ochridanum*, ali ne i u prethodnom radovima Popović i sar. (2014, 2015a). Takođe je zapažena i evidentna razlika u sastavu etarskog ulja nadzemnog dela i podzemnih organa *L. ochridanum*. Dok su u etarskom ulju nadzemnog dela biljke u ovom radu monoterpeni bili zastupljeniji (56,14%) od seskviterpena (37,1%), u rizomu i korenu ove vrste je nađen veći procenat seskviterpena (51,4%) u odnosu na monoterpene (42,6%), a α -pinen (33,2%), hamazulen (14,9%), α -bisabolol (10,3%) i biciklogermakren (8,7%) su bili najzastupljeniji konstituenti. Od tih jedinjenja, u ovom radu je samo biciklogermakren bio prisutan u tragovima (**Tabela 11**). U skladu sa našim rezultatima, kao glavne komponente etarskog ulja herbe su identifikovani sabinen (25,9%) i α -pinen (7,4%), dok je udeo monoterpenske frakcije u etarskom ulju herbe (55,3%) i plodova (87,8%) *L. ochridanum* bio veći od udela seskviterpenske frakcije (30,2% i 8,8%, redom). Jedinjenje hamazulen od koga potiče

plava boja etarskih ulja, detektovano je kako u etarskom ulju ovog rada tako i u prethodno analiziranim etarskim uljima ove vrste (Popović, 2013). Analiza etarskih ulja plodova vrsta *L. archangelica*, *L. gallicum*, *L. glaucum*, *L. halleri*, *L. hispidum*, *L. krapfii*, *L. latifolium*, *L. prutenicum* (Adcock i Betts, 1974) je pokazala dominantno prisustvo monoterpenkih ugljovodonika limonena, α - i β -pinena ili geranil acetata (koji nije identifikovan kao sastojak etarskog ulja *L. ochridanum*) (**Tabela 11**). Najzastupljenija jedinjenja etarskog ulja ploda italijanske vrste *L. siler* subsp. *garganicum* su bila mircen (15,7%) i β -felandren (14,4%) (Tirillini i sar., 2009) koji su u tragovima prisutni u ulju *L. ochridanum* (**Tabela 11**). U analizi etarskog ulja plodova ove vrste poreklom iz Francuske (Chizzola i Novak, 1999), glavne komponente su bile peril aldehid (75%) i limonen (22%). Jedinjenja koja su najzastupljenija u ulju *L. ochridanum*, pronađena su i u etarskom ulju plodova *L. petrophilum* (α -pinen (48,9%) i sabinen (25,9%)) (Başer i Duman, 1997). Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja iranske začinske vrste *L. carduchorum* u različitim ontogenetskim fazama (vegetativna, faza cvetanja i formiranja semena) je pokazala da su α -pinen (45,1, 61,4, 46,4%, redom), sabinen (16,5, 10,3, 17,5%, redom) i limonen (6,4, 8,5, 20,4%, redom) glavna jedinjenja u sva tri ulja (Dastan i sar., 2016). Sličan hemijski sastav imaju etarska ulja vrsta *L. gallicum* i *L. petrophilum* gde su u najvećem procentu identifikovani α -pinen (28,5%, 48,9%), sabinen (17,2%, 25,9%) i limonen (5,5%, 6,5%) (Başer i Duman, 1997; Chizzola, 2007). Visok sadržaj monoterpena karakterističan je za etarsko ulje nadzemnog dela *L. ochridanum* u ovom istraživanju (40,87%), kao i za etarska ulja plodova i podzemnih organa *L. latifolium* (96,1% i 69,5%, redom) i herbe *L. zernyi* (59,1%). Kao i u ovom radu (**Tabela 11**), hamazulen je identifikovan u značajnom procentu i u etarskim uljima nadzemnog dela i cvasti *L. zernyi* i etarskom ulju podzemnih organa *L. ochridanum* (14,9%). Plava boja etarskih ulja potiče od prisustva ovog jedinjenja koje može nastati degradacijom seskviterpenkih laktona gvajanolida koji su česti konstituenti ulja vrsta roda *Laserpitium* (Berger, 2007; Drew i sar., 2009; Dewick, 2009).

Iz literaturnih podataka o hemijskom sastavu etarskih ulja različitih vrsta roda *Heracleum* (*H. sprengelianum*, *H. persicum*, *H. platytaenium*, *H. crenatifolium*, *H. sphondylium*, *H. anisactis*), može se zaključiti da su alifatični estri i alkoholi kao i terpenoidi glavne klase jedinjenja tih vrsta (Habibi i sar., 2010; Karuppusamy i Muthuraja, 2011; Subbiah i Muthuraja, 2011; Tosun i sar., 2008; Özek i sar., 2005). Oktil acetat je prisutan u značajnoj količini u ulju *H. orphanidis* (Mileski i sar., 2016). Ovo jedinjenje je prethodno identifikovano kao glavna

komponenta etarskih ulja vrsta ovog roda kao što su *H. crenatifolium*, *H. sphondylium* i *H. platytaenium*, dok su oktil acetat i *n*-oktanol dominantni u etarskom ulju *H. crenatifolium* (Işcan i sar., 2004; Tosun i sar., 2008). Slično rezultatima dobijenim u ovoj analizi, glavna jedinjenja etarskog ulja *H. sphondylium* su *n*-oktanol, oktil-butirat i oktil-acetat (Baytop, 1994; Özek i sar., 2002). U nekim prethodnim studijama je u etarskom ulju *H. persicum* nađeno da su glavna jedinjenja heksil butirat, oktil acetat kao i viridiflorol i *trans*-anetol (Firuzi i sar., 2010; Mojab i Nickavar, 2003; Mojab i sar., 2002; Sharififar i sar., 2009a), dok ove komponente nisu identifikovane u ulju *H. orphanidis* koje je izučavano u ovoj doktorskoj disertaciji. Jedinjenja miristicin, *trans*-anetol, heksil butanoat i elemicin nisu detektovana u ulju ove vrste, ali su glavne komponente etarskih ulja nekih drugih vrsta roda *Heracleum* (Firuzi i sar., 2010; Torbati i sar., 2014).

Na osnovu dosadašnjih studija o hemijskom sastavu etarskih ulja različitih vrsta roda *Angelica* može se zaključiti da su monoterpeni ugljovodoni dominantna klasa jedinjenja ovog taksona (Agnihotri i sar., 2004; Doneanu i Anitescu, 1998; Nivinskiene i sar., 2002), a često je prisutan i veći udeo ftalida i laktona (Purohit i sar., 2015; Tabanca i sar., 2008). U ovom istraživanju je analiza etarskog ulja nadzemnog dela *A. pancicii* sa pl. Pelister (Makedonija) pokazala najveću koncentraciju seskviterpenoida (56,84%), dok su autori Simonović i sar. (2014) primenom GC, GC-MS i HS-GC-MS tehnika prethodno ukazali da etarsko ulje nadzemnog dela *A. pancicii* sa pl. Vidlič (Srbija) ima visok sadržaj monoterpenoida (92,8% i 97,7%, redom) i znatno niži sadržaj seskviterpenoida (4,5% i 1,2%, redom). Oni su kao glavne konstituentne identifikovali β -felandren (54,9% i 60,1%, redom), α -pinen (14,5% i 20,1%, redom) i α -felandren (4,5% i 4,3%, redom), dok su bornil acetat, koje je u ovom istraživanju najzastupljenije jedinjenje ulja *A. pancicii*, zabeležili u koncentracijama od 1,3% (GC, GC-MS) i 0,8% (HS-GC-MS). Autori su u istom radu u značajnim količinama našli i δ -3-karen i mircen (GC i GC-MS). Kao što se može videti u **Tabeli 13**, prisustvo α -felandrena, δ -3-karena i mircena u našem uzorku ulja nije zabeleženo, dok su α -pinen i β -felandren prisutni u malim koncentracijama. α -Felandren (13,5%) je kao glavno jedinjenje pored *trans*-karveola (12,0%), β -pinena (11,7%), tujena (7,5%), β -kariofilen oksida (7,2%), β -kariofilena (7,0%), terpinen-4-ola (6,7%), nerolidola (6,5%) i β -bisabolena (5,2%), identifikovan i u etarskom ulju nadzemnog dela *A. glauca* (Agnihotri i sar., 2004), dok su (*Z*)-ligustilid (53,0 %), (*Z*)-butiliden ftalid (32,8 %), (*E*)-butiliden ftalid (5,9 %) i (*E*)-ligustilid (2,3 %) dominantni u etarskom ulju korena ove vrste (Purohit i sar., 2015). U

etarskom ulju *A. pancicii* identifikovane su samo *trans*-karveol i β -bisabolen, a prisustvo ftalida u ovom uzorku uopšte nije zabeleženo (**Tabela 13**). Na osnovu dobijenih rezultata u ovom radu može se zaključiti da se hemijski sastav etarskog ulja *A. pancicii* značajno razlikovao i od sastava etarskih ulja korenova *A. pubescens* i *A. sinensis*, gde su primenom SPME-GC-MS metode identifikovani 3-metil-nonan, heksahidrofarnazol, eudezma-4,11-dien i α -hamigren (*A. pubescens*), kao i *n*-heptan, ciklofenhen, 6-butyl-1,4-cikloheptadien, gvaja-1,11-dien (*A. sinensis*) (Song i sar., 2004). Etarsko ulje korena *A. sinensis* je bogato ftalidima (59,4%), monoterpenskim ugljovodonicima (17,2%), fenilpropanoidima (11,3%), dok seskviterpenski ugljovodonici čine mali udeo etarskog ulja ove vrste (2,3%), gde su dominantna jedinjenja *cis*-ligustilid (43,1%), *trans*-3-butyliden ftalid (14,5%), *cis*- β -ocimen (12,9%) i apiol (11,2%) (Tabanca i sar., 2008). Osim ftalida, u etarskom ulju *A. pancicii* nisu identifikovani ni fenilpropanoidi (**Tabeli 13**). Poređenjem rezultata hemijskog sastava ove dve vrste, uočeno je i da glavne komponente *A. pancicii* nisu zabeležene u etarskom ulju *A. sinensis*. Hemijski sastav etarskog ulja različitih biljnih delova *A. archangelica* je prethodno analiziran u nekoliko studija (Doneanu i sar., 1998; Nivinskienė i sar., 2002; Nivinskienė i sar., 2005; Wedge i sar., 2009). Pokazalo se da su monoterpenski ugljovodonici činili najveću frakciju (80%) etarskog ulja svežeg korena *A. archangelica* dobijenog superkritičnom fluidnom ekstrakcijom tečnim CO₂ (Doneanu i sar., 1998). Kao glavna jedinjenja u tom uzorku identifikovani su α -pinen (16,66%) i α -felandren (11,27%), a zabeleženo je i prisustvo bornil acetata (0,98%) koji je glavni konstituent etarskog ulja *A. pancicii* u ovom radu. Slični rezultati dobijeni su i u radu Wedge i sar. (2009), gde su glavne komponente etarskog ulja korena *A. archangelica* iz grupe monoterpenskih ugljovodonika - α -pinen, δ -3-karen, β -felandren, *p*-cimen, limonen i sabinen. Na osnovu predstavljenih rezultata u **Tabeli 13**, može se videti da je jedino *p*-cimen identifikovan u etarskom ulju nadzemnog dela *A. pancicii*. Nasuprot, bornil acetat je registrovan u etarskom ulju korena *A. archangelica* (0,4%) (Wedge i sar., 2009). Monoterpenski ugljovodonici činili su glavnu klasu jedinjenja (63,5-76,6%) etarskog ulja plodova *A. archangelica* (GC i GC-MS) sa β -felandrenom (33,6-63,4%), α -pinenom (4,2-12,8%), germakrenom D (3,0%), α -felandrenom (7,4%) i sabinenom (3,3%) kao dominantnim komponentama. I jedinjenje bornil acetat je identifikovano u etarskim uljima plodova ove vrste (0,1-0,2%), dok *A. pancicii* etarsko ulje, bogato seskviterpenoidima, nije posedovalo nijednu glavnu komponentu etarskih ulja *A. archangelica* (Nivinskienė i sar., 2005).

4.1.3. Usporedna analiza rezultata i diskusija hemijskog sastava metanolnih ekstrakata

Sa ciljem da se preliminarno odrede sekundarni metaboliti ispitivanih vrsta, metanolni ekstrakti ovih biljaka analizirani su upotrebom HPLC tehnike u kombinaciji sa DAD detektorom i ESI-ToF masenim spektrometrom u ESI⁺ i ESI⁻ modovima. Strukture jedinjenja određene su u saglasnosti sa tačnim molekulskim masama i molekulskim formulama. Dobijeni UV podaci su dodatno potkrepili strukture svih detektovanih jedinjenja (**Tabele 14-17**). U ovoj doktorskoj disertaciji su prvi put predstavljene i opisane rezultati preliminarne analize hemijskog sastava metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena vrsta *H. orphanidis* i *A. panicii*. U metanolnim ekstraktima vrsta *F. macedonica*, *E. sibthorpiana* i *L. ochridanum* uglavnom je identifikovan mali broj komponenata, jer dobijene molekulske formule nije bilo moguće povezati sa literaturnim podacima za odgovarajuće rodove. Literaturni podaci pokazuju da je samo hemijski sastav ekstrakata vrste *L. ochridanum* ranije istraživan. Prema podacima iz radova autora Popović i sar. (2013a,b; 2015b), dominantno je prisustvo seskviterpenskih laktona iz klase gvajanolida u ekstraktima ove vrste. Rezultati analize hemijskog sastava metanolnih ekstrakata *H. orphanidis* i *A. panicii* koji su dobijeni u ovom radu, ukazuju na to da su najzastupljenije komponente ovih vrsta bile iz klase kumarina. Jedinjenja iz te grupe inače predstavljaju hemijske markere za vrste rodova *Heracleum* i *Angelica*, kao i za predstavnike familije Apiaceae i nađeni su u svim biljnim delovima (nadzemni deo, koren, plod, seme). Kumarini i druge klase jedinjenja koja su identifikovana u ovom istraživanju, poznati su po širokom spektru farmakoloških dejstava kao što su antikoagulantno, estrogeno, dermo-fotosenzitivno, vazodilatatorno, sedativno, anthelmintično, analgetično, hipnotičko, hipotermičko i druga dejstva (Sarker i Nahar, 2004).

Heracleum orphanidis: U **Tabelama 14.** i **15.** predstavljene su sekundarni metaboliti identifikovani u metanolnim ekstraktima nadzemnog dela i korena vrste *H. orphanidis*. Na osnovu datih podataka se može zaključiti da su ispitani ekstrakti bogati furanokumarinima. Analizom hemijskog sastava metanolnog ekstrakta nadzemnog dela *H. orphanidis*, identifikovano je 18 jedinjenja (od toga 12 kumarina - **Tabela 14**), dok je u metanolnom ekstraktu korena 25 identifikovanih jedinjenja (od toga 19 kumarina - **Tabela 15**). U analiziranim uzorcima nalaze se i masne kiseline, falkarinon, farnezilacetone i 5-sinapoil kininska

kiselina. U metanolnom ekstraktu nadzemnog dela *H. orphanidis* konstatovano je osam furanokumarina i četiri prosta kumarina (6,7,8-trimetoksikumarin, 7-izopenteniloksikumarin, ostenol i ostrutin), 5-sinapoilkininska kiselina, poliacetilenski keton falkarinon. U ekstraktu korena identifikovano je deset linearnih, pet angularnih furanokumarina pored kumarinskog dimera melendorfilina i tri furanokumarinska glikozida (apterin, jungnozid B, smirindiolozid) (Tabela 15). *E,E*-Farnezilacetone, linolenska kiselina, pinelična kiselina, vernolinska kiselina, kao i 9Z,12Z-linolna kiselina bile su identifikovane u oba testirana ekstrakta. Od svih prezentovanih jedinjenja, dve komponente ranije nisu bile nađene u familiji Apiaceae, a to su 5-sinapoilkininska kiselina, identifikovana u nadzemnom delu biljke i vernolinska kiselina koja je prisutna u oba biljna dela. Najzastupljeniji i najčešći furanokumarini roda *Heracleum* kao što su izobergaptene, bergaptene, sfondin, pimpinelin, izopimpinelin i ksantotoksin, identifikovani su u oba analizirana metanolna ekstrakta.

Tabela 14. LC/MS analiza hemijskog sastava ME nadzemnog dela *H. orphanidis*

R _t (min)	TOFMS (m/z) [ESI ⁺]	Formula	Jedinjenje	Reference
7,968	416,1543 [M + NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₂₂ O ₁₀	5-Sinapoilkininska kiselina	Lin i Harnly, 2008
	237,0756 [M + H] ⁺	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	6,7,8-Trimetoksikumarin	Waksmundzka-Hajnos i sar., 2006
12,425	217,0505 [M + H] ⁺	C ₁₂ H ₈ O ₄	Izobergaptene, Bergaptene, Alobergaptene, Sfondin	Kasumova i Serkerov, 2011
13,395	217,0520 [M + H] ⁺	C ₁₂ H ₈ O ₄	Ksantotoksin	Kasumova i Serkerov, 2011
13,495	247,0598 [M + H] ⁺	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	Pimpinelin, Izopimpinelin	O'Neill i sar., 2013 Kasumova i Serkerov, 2011
14,095	158,1533 [M + H] ⁺ 315,3008 [2M + H] ⁺	C ₉ H ₁₉ NO	n.i.	/
17,266	231,1072 [M + H] ⁺ , 483,1774 [2M + Na] ⁺	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	7-Izopentenil-oksikumarin, Ostenol	Belenovskaya i sar., 1977 Komissarenko i sar., 1978
18,034	301,1062 [M + H] ⁺	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	Felopterin	Chacko i sar., 2001 Komissarenko i Buziashvili, 1966
20,063	279,2326 [M + H] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Linolna kiselina	Makarenko i sar., 2007 Tolibaeve i Glushenkova, 1996
22,771	299,1651 [M + H] ⁺	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	Ostrutin	Schinkovitz i sar., 2003 Williams, 1970
23,651	280,2674 [M + NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O	<i>E,E</i> -Farnezilacetone	Maggio i sar., 2013
12,656	329,2344 [M - H] ⁻	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	Pinelinska kiselina	Kobayashi i sar., 1990
20,050	295,2286 [M - H] ⁻ , 331,2057 [M + Cl] ⁻	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	Vernolinska kiselina	Tsevegsuren i sar., 2004
25,740	279,2336 [M - H] ⁻	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	9Z,12Z-Linolna kiselina	Nath i sar., 1961b

Tabela 15. LC-MS analiza hemijskog sastava ME korena *H. orphanidis*

R_t (min)	TOFMS (m/z) [ESI⁺/ESI⁻]	Formula	Jedinjenje	Reference
6,973	263,0915 [M + H] ⁺	C ₁₄ H ₁₄ O ₅	Vaginidiol, Smirindiol	Jimenez i sar., 2000, Merijanian i sar., 1980, Gupta i sar., 1976, Shimomura i sar., 1982
9,993	287,0912 [M + H] ⁺	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	Heraklenin, Izogosferol	Kumar i sar., 1976, Bandopadhyay i Seshadri, 1970, Pathak i Manral, 1988, Razdan i sar., 1982
	322,1281 [M + NH ₄] ⁺	C ₁₆ H ₁₆ O ₆	Heraklenol	Saraswathy i sar., 1990, Gupta i sar., 1978, Rastogi i sar., 2007
12,350	217,0496 [M + H] ⁺	C ₁₂ H ₈ O ₄	Izobergapten, Bergapten, Alobergapten, Sfondin	Kasumova i Serkerov, 2011
13,389	217,0520 [M + H] ⁺	C ₁₂ H ₈ O ₄	Ksantotoksin	Kasumova i Serkerov, 2011
13,496	247,0790 [M + H] ⁺ , 515,0945 [2M+Na] ⁺	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	Pimpinelin	O'Neill i sar., 2013, Kasumova i Serkerov, 2011
14,168	247,0599 [M + H] ⁺	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	Izopimpinelin	O'Neill i sar., 2013, Kasumova i Serkerov, 2011
17,329	271,0972 [M + H] ⁺	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	Imperatorin, Izoimperatorin	Niu i sar., 2002
17,462	493,1125 [M + H] ⁺ , 510,1392 [M + NH ₄] ⁺ , 1007,2003 [2M + Na] ⁺	C ₂₆ H ₂₀ O ₁₀	Melendorfilin	Niu i sar., 2002, Zhongwen i sar., 1993
18,033	301,1069 [M + H] ⁺	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	Felopterin	Chacko i sar., 2001, Komissarenko i Buziashvili, 1966
19,864	243,1747 [M + H] ⁺ 485,3412 [2M + H] ⁺	C ₁₇ H ₂₂ O	Falkarinon	Roman i sar., 2011, Marčetić i sar., 2013
20,050	279,2318 [M + H] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Linolna kiselina	Makarenko i sar., 2007, Tolibaev i Glushenkova, 1996
23,657	280,2727 [M + NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O	<i>E,E</i> - Farnezilaceton	Maggio i sar., 2013
7,446	459,1069 [M + Cl] ⁻ , 469,1360 [M + HCO ₂] ⁻	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	Apterin, Jungnozid B, Smirindiolozid	Taniguchi i sar., 2005, Inoue i sar., 2010, Fischer i Svendsen, 1976
12,656	329,2344 [M - H] ⁻ ,	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	Pinelinska kiselina	Kobayashi i sar., 1990
20,050	295,2286 [M - H] ⁻ , 331,2057 [M + Cl] ⁻ ,	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	Vernolinska kiselina	Tsevegsuren i sar., 2004
25,740	279,2336 [M - H] ⁻ ,	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	9Z,12Z-Linolna kiselina	Nath i sar., 1961b

Na osnovu pretražene dostupne literature može se zaključiti da furanokumarini, furokumarinski dimeri, kumarinski glikozidi, antrahinoni, stilbeni i alkaloidi predstavljaju glavne grupe jedinjenja koje su karakteristične za ekstrakte vrsta roda *Heracleum* (Dincel i sar., 2013;

Liu i sar., 2006; Rawat i sar., 2013; Singh i sar., 2007). Strukture navedenih komponenti koje su preliminarno određene u metanolnim ekstraktima *H. orphanidis* uglavnom su u skladu sa dostupnim literaturnim podacima o izolovanim jedinjenjima iz vrsta roda *Heracleum* i familije Apiaceae (Jimenez i sar., 2000; Kobayashi i sar., 1990; Liu i sar., 2006; Roman i sar., 2011; Saraswathy i sar., 1990). Furanokumarini koji su dominantna jedinjenja u analiziranim uzorcima ove vrste (Mileski i sar., 2016), karakteristični su taksonomski markeri celog roda (Chacko i sar., 2001; Ciesla i sar., 2008; Dincel i sar., 2013; Merijanian i sar., 1980; O'Neill i sar., 2013). Pojava poliacetilena falkarinona koji je detektovan u ekstraktu nadzemnog dela *H. orphanidis*, karakteristična je za povrće iz familije Apiaceae (Makarenko i sar., 2007; Tolibaev i Glushenkova, 1996), ali do danas ne postoje podaci da se ovo jedinjenje javlja u nekom od predstavnika roda *Heracleum*. 5-sinapoilkininska kiselina (Schinkovitz i sar., 2003) i vernolinska kiselina (Belenovskaya i sar., 1977), nisu ranije identifikovane ni u jednoj vrsti familije Apiaceae. Nasuprot, prisustvo svih detektovanih kumarina u ovoj analizi potvrđeno je i u prethodno ispitivanim vrstama roda *Heracleum*. Izobergaptin, bergaptin, sfondin, pimpinelin, izopimpinelin i ksantotoksin (Gupta i sar., 1978; Niu i sar., 2002; Zhongwen i sar., 1993), pojavljuju se u najmanje 30 - 40 vrsta, predstavljajući najzastupljenije furanokumarine predstavnika ovog roda.

Angelica pancicii: U **Tabelama 16 i 17**. dat je pregled identifikovanih sekundarnih metabolita metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena vrste *A. pancicii*. U nadzemnom delu *A. pancicii* identifikovano je ukupno 52 jedinjenja, dok je u korenu ove vrste utvrđeno prisustvo 53 konstituenta. Navedene strukture su najvećim delom u skladu sa dostupnim literaturnim podacima o sastojcima ekstrakata za *Angelica* vrsta i/ili drugih predstavnika familije Apiaceae. Glavne identifikovane komponente vrste *Angelica pancicii* analizirane u ovom istraživanju pripadaju klasi kumarina. U nadzemnom delu ove biljke identifikovano je 32 kumarina. Od toga su najzastupljeniji prosti kumarini (19 jedinjenja), a identifikovano je i 11 furanokumarina, 1 piranokumarin, kao i kumarinski glukozid izoskopoletin- β -D-glukopiranozid. U korenu biljke nađeno je 8 prostih kumarina, 18 furanokumarina, 2 furanokumarinska etra falkarindiola - japoangeloli C i D, zatim 2 bifuranokumarina - dahuribirin D i rivulobirin A, furanokumarinski glikozid nodakenin i 5 piranokumarina. Pored toga, ova analiza je pokazala prisustvo 2 benzofuranska derivata, 4 hromona, 4 masne kiseline, etra gliceril linoleata, 3-kafeolkininske

kiseline, flavonoidnog glukozyda hirsutrina, glikozilovanog hidrohinonska, arbutina, halkona ksantoangelola J, dva najpoznatija poliacetilena - falkarinona i falkarindiola, kao i dva seskviterpena u nadzemnom delu biljke. Sa druge strane, u korenu su još identifikovani dva hromona - noreugenin i 3'-O-angeloilhamaudol, dva halkona - ksantoangeloli C i E, pet seskviterpena i jedan poliacetilen, lignin kerofilin, po jedna masna kiselina i alkohol i jedan benzofuranski glikozid koji je nađen i u nadzemnom delu -. knidiozid A. U oba analizirana ekstrakta detektovana su i izvesna jedinjenja koja sadrže azot, ali nisu identifikovana.

Vrste roda *Angelica* predstavljaju bogat izvor različitih sekundarnih metabolita što se može zaključiti na osnovu velikog broja publikovanih radova. Dokumentovano je da su kumarini među najznačajnim i najkarakterističnijim hemijskim markerima ovog roda (Hoult i Payá, 1996; Milosavljević i sar., 1993; Murray, 1978; Sardari i sar., 1999). Kod jedne od najpoznatijih vrsta roda *A. sylvestris*, zabeležena je pojava jednostavnih kumarina i furanokumarina (Carbonnier i Molho, 1982; Cisowski, 1985; Muckensturm i sar., 1981; Murphy i sar., 2004). Ostali najčešće izolovani aktivni principi uključuju uglavnom razne poliacetilene, halkone, seskviterpene i polisaharide. Jedinjenja iz ovih grupa su detektovana i u metanolnim ekstraktima *A. panicii* u ovom radu. Identifikovani kumarini u nadzemnom delu i korenu biljke, prethodno su pronađeni u nekim drugim vrstama roda *Angelica* (**Tabele 16 i 17**), osim bifuranokumarina rivulobirina A, koji je prethodno izolovan samo iz korena vrste *Heracleum rapula* (Liu i sar., 1988; Niu i sar., 2002). Kerofilin, 3'-O-angeloilhamaudol, falkarinon, linolenska i pinelinska kiselina nisu ranije nađene u predstavnicima roda *Angelica*, ali je njihovo prisustvo zabeleženo kod nekih vrsta familije Apiaceae (**Tabele 16 i 17**). Za jedinjenja koja sadrže azot, a koja su takođe nađena u oba ispitivana ekstrakta ove vrste, smatra se da mogu biti iz grupe alkaloida. Iako alkaloidi nisu jedinjenja koja su tipična za vrste roda *Angelica*, prethodno su izolovani iz vrste *A. polymorfa* (Yand i sar., 2013).

Tabela 16. LC-MS analiza hemijskog sastava ME nadzemnog dela *A. pancicii*

Rt (min)		TOFMS (<i>m/z</i>) [ESI ⁺ / ESI ⁻]	Formula	Jedinjenje	Reference
ESI ⁺	ESI ⁻				
5,382	5,364	355,1026 [M + H] ⁺ 353,0890 [M - H] ⁻ ,	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Hlorogenska kiselina	Mira i sar., 2015
5,382		163,0389 [M + H] ⁺	C ₉ H ₆ O ₃	Umbeliferon	Kang i sar., 2001
	5,843	287,0048 [M - H] ⁻ ,	C ₁₆ H ₁₆ O ₅	Angelikon Kolumbianetin acetat	Baba i sar., 1983, Hata i sar., 1971
	6,464	399,0943 [M+HCO ₂] ⁻ 389,0656 [M+Cl] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Izoskopoletin β-D-glukopiranozid	Moon i sar., 2011
6,767		295,1175 [M + H] ⁺	C ₁₅ H ₁₈ O ₆	Angelitriol	Liu i sar., 1995b
6,767	6,766	369,1178 [M + H] ⁺ 367,1043 [M - H] ⁻	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	Knidiozid A	Matsuda i sar., 2005
	6,766	455,1572 [M + HCO ₂] ⁻	C ₂₅ H ₃₀ O ₅	Ksantoangelol J	Akihisa i sar., 2006
7,323		465,1027 [M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Hirsutrin	Matsuda i sar., 2005
7,601	7,831	193,0495 [M + H] ⁺ 191,0355 [M - H] ⁻	C ₁₀ H ₈ O ₄	Noreugenin	Yang i sar., 20013
	7,636	271,0359 [M - H] ⁻	C ₁₂ H ₁₆ O ₇	Arbutin	Matsuda i sar., 2005
8,543		197,1172 [M + H] ⁺	C ₁₁ H ₆ O ₃	Psoralen	Wang i sar., 2014
9,802	9,800	193,0499 [M + H] ⁺ 191,0354 [M - H] ⁻	C ₁₀ H ₈ O ₄	Skopoletin	Li i sar., 2014
10,636		305,1019 [M + H] ⁺ 631,1782 [2M + Na] ⁺	C ₁₆ H ₁₆ O ₆	Oksipeucedanin hidrat (Aviprin), Heraklenol	Oh i sar., 2002, Sun i Jakupović, 1986
	11,683	275,0935 [M - H] ⁻	C ₁₅ H ₁₆ O ₅	Hamaudol	Li i sar., 2014
11,754		203,0341 [M + H] ⁺	C ₁₁ H ₆ O ₄	Ksantotoksol Bergaptol	Harkar i sar., 1984
12,234		377,1592 [M + H] ⁺ 399,1414 [M + Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	Angelol A, G H, B, D, K	Seo i sar., 2013, Chen i sar., 1995, Liu i sar., 1995a
	12,623	329,2345 [M - H] ⁻ 421,1512 [M+HCO ₂] ⁻	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	Pinelinska kiselina	Kobayashi i sar., 1990
12,801		377,1589 [M + H] ⁺ 399,1414 [M + Na] ⁺ 775,2927 [2M + Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	Angelol A, G, H, B, D, K	Seo i sar., 2013, Chen i sar., 1995, Liu i sar., 1995a
12,997	12,978	379,1751 [M + H] ⁺ 779,3240 [2M + Na] ⁺ 423,1673 [M+HCO ₂] ⁻ 413,1381 [M+ Cl] ⁻	C ₂₀ H ₂₆ O ₇	Angelol C, E, F, L, I	Baba i sar., 1982, Wang i sar., 2014, Kwon i sar., 2002
12,997		361,1644 [M + H] ⁺	C ₁₉ H ₂₀ O ₇	Edulisin IV	Mizuno i sar., 1994
13,280	13,280	377,1591 [M + H] ⁺ 399,1414 [M + Na] ⁺ 775,2927 [2M + Na] ⁺ 421,1517 [M+HCO ₂] ⁻ 411,1228 [M+ Cl] ⁻	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	Angelol A, G, H, B, D, K	Seo i sar., 2013, Chen i sar., 1995 Liu i sar., 1995a
13,511	13,493	379,1758 [M + H] ⁺ 423,1675 [M+HCO ₂] ⁻ 413,1378 [M+ Cl] ⁻	C ₂₀ H ₂₆ O ₇	Angelol C, E, F, L, I	Baba i sar., 1982, Wang i sar., 2014, Kwon i sar., 2002

~ Rezultati i diskusija ~

13,511	219,0649 [M + H] ⁺	C ₁₂ H ₁₀ O ₄	6-Acetil-7-metoksikumarin	Zhao i sar., 2012a
14,683	231,1367 [M + H] ⁺	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	4-Benzofuranol, 3,6-dimetil-2-(3-metil-2-buten-1 ili 3,6-Dimetil-2-(3-metil-2-buten-1-il)-4-benzofuranol)	Chi, 1975
14,705	249,1484 [M + H] ⁺ 519,2717 [2M + Na] ⁺	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	Bisabolangelon	Lee i sar., 2012, Chi, 1975
15,091	149,0975 [M + H] ⁺	C ₁₀ H ₁₂ O	Estragol	Zheng i sar., 2014
15,090	319,1174 [M + H] ⁺ 341,0993 [M + Na] ⁺ 317,1178 [M - H] ⁻	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	t-OMe-oksipeucedanin hidrat, 3'-O-Acetilhamaudol, Acetilknidimol A	Seo i sar., 2013, Kimura i sar., 2012
15,712	367,0601 [M+HCO ₂] ⁻ 357,0314 [M+ Cl] ⁻	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	Angelol A, G, H, B, D, K	Seo i sar., 2013, Chen i sar., 1995, Liu i sar., 1995a
16,564	261,1121 [M + H] ⁺	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	7-Metoksi-5	Kang i sar., 2001,
16,564	259,0981 [M - H] ⁻	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	preniloksi-kumarin, (3R,8S)-Falkarindiol	Li i sar., 2015 Song i sar., 2011
16,866	387,1439 [M + H] ⁺ 795,2068 [2M + Na] ⁺ 431,1359 [M+HCO ₂] ⁻ 421,1072 [M+ Cl] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₇	Ostrutol, Tomazin	Sun i Jakupovič, 1986, Harmala, 1992
17,895	359,1490 [M + H] ⁺ 739,2719 [2M + Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	Metil estar 7,8-dihidro-6-metoksi- 8,8-dimetil-2-okso-2H,6H- benzo[1,2-β,5,4-β']dipiran-7-il- krotonske kiseline	Sano i sar., 1975
18,108	361,1646 [M + H] ⁺ 743,3029 [2M + Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	Oksipeucedanin hidrat-3"-tert- butil etar	Baek i sar., 2000
18,767	259,0966 [M + H] ⁺	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	7-Metoksi-8-senecioilkumarin, Pablohopin	Baba i sar., 1983 Zhao i sar., 2012a
19,883	357,1354 [M - H] ⁻ 243,1745 [M + H] ⁺	C ₂₀ H ₂₂ O ₆ C ₁₇ H ₂₂ O	3'-O-Angeloilhamaudol Falkarinon	Sasaki i sar., 1982 Marcetić i sar., 2013, Roman i sar., 2011
20,052	295,2287 [M - H] ⁻ 331,2055 [M+ Cl] ⁻	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	13-Hidroksi-9(Z),11(E)- oktadekadienska kiselina, 9-Hidroksi-10(E),12(Z)- oktadekadienska kiselina	Takahashi i sar., 2005
20,078	279,2318 [M + H] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Linolna kiselina	Tolibaev i Glushenkova, 2007, Makarenko, 1996
23,664	280,2637 [M + NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O	<i>E,E</i> -Farnezil aceton	Mohammadi i sar., 2010, Seo i sar., 2013
24,391	355,2839 [M + H] ⁺ 377,2659 [M + Na] ⁺	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	1-Gliceril linoleat	Chen i sar., 2008

Tabela 17. LC-MS analiza hemijskog sastava ME korena *A. pancicii*

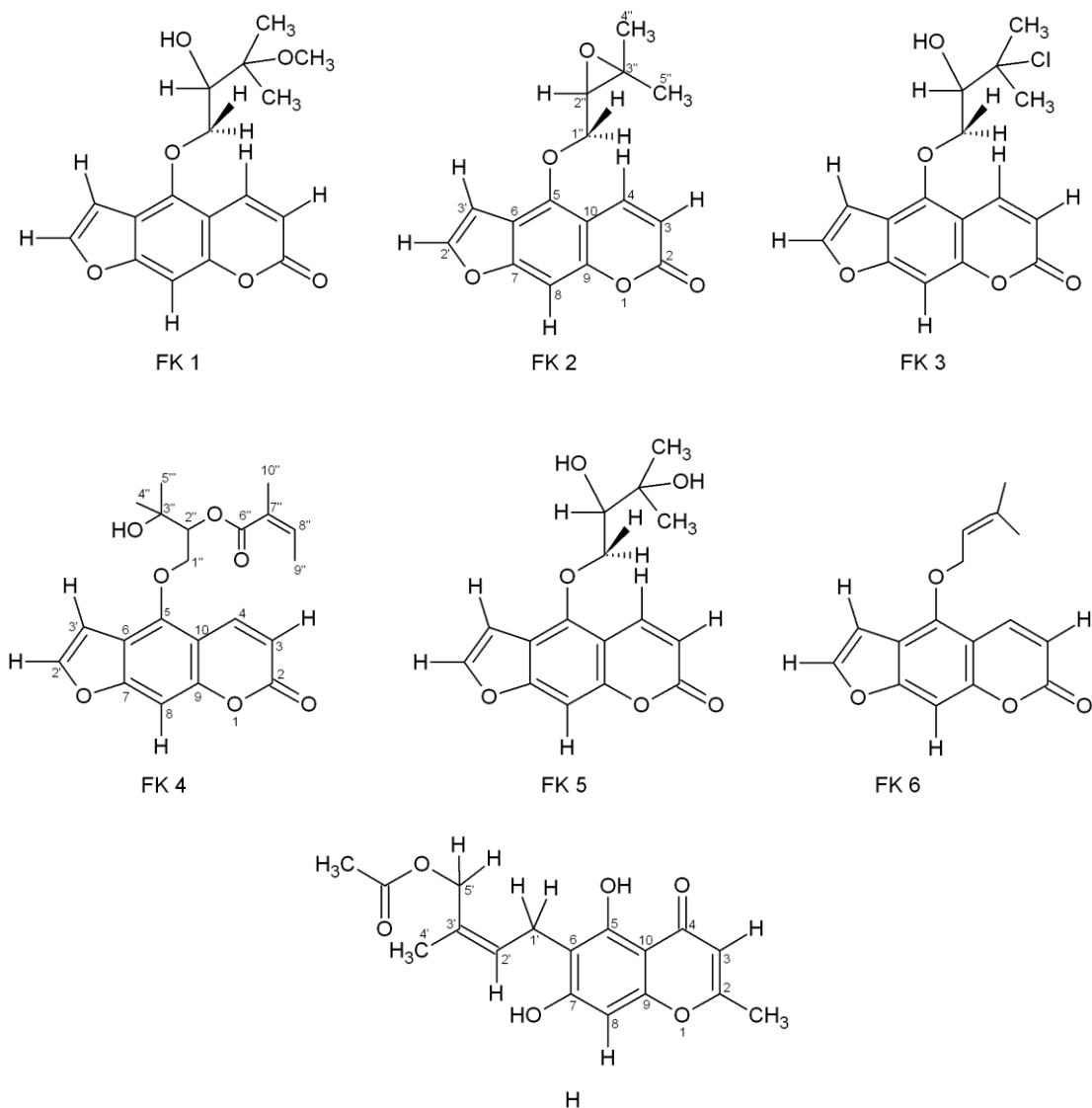
Rt (min)		TOFMS (<i>m/z</i>) [ESI ⁺ /ESI ⁻]	Formula	Jedinjenje	Reference
ESI ⁺	ESI ⁻				
5,375	5,370	355,1024 [M + H] ⁺ 353,0892 [M - H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Hlorogenska kiselina	Mira i sar., 2015
5,375		163,0391 [M + H] ⁺	C ₉ H ₆ O ₃	Umbeliferon	Kang i sar., 2001
	6,748	367,1042 [M - H] ⁻	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	Knidiozid A	Matsuda i sar., 2005
	7,970	453,1141 [M + HCO ₂] ⁻ 443,1145 [M + Cl] ⁻	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	Nodakenin	Zhao i sar., 2012b
	8,251	515,1203 [M - H] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	Izohlorogenska kiselina A	Ge i sar., 2014
	8,749	365,0440 [M - H] ⁻	C ₂₃ H ₁₀ O ₅	Ksantoangelol C	Baba i sar., 1990
10,609	10,613	305,1020 [M + H] ⁺ 349,0953 [M + HCO ₂] ⁻ 339,0657 [M + Cl] ⁻	C ₁₆ H ₁₆ O ₆	Aviprin* (Oksipeucedanin hidrat), Heraklenol	Oh i sar., 2002, Sun i Jakupović, 1986
	11,678	275,0936 [M - H] ⁻	C ₁₅ H ₁₆ O ₅	Hamaudol	Li i sar., 2014
12,573	12,630	277,1078 [M + H] ⁺ 329,2356 [M - H] ⁻	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	Pinelinska kiselina	Kobayashi i sar., 1990
13,026	13,022	379,1761 [M + H] ⁺ 423,1669 [M + HCO ₂] ⁻ 413,1389 [M + Cl] ⁻	C ₂₀ H ₂₆ O ₇	Angelol C, E, F, L, I	Baba i sar., 1982, Wang i sar., 2014, Kwon i sar., 2002
13,026		361,1645 [M + H] ⁺	C ₁₉ H ₂₀ O ₇	Edulizin IV	Mizuno i sar., 1994
13,495		379,1750 [M + H] ⁺	C ₂₀ H ₂₆ O ₇	Angelol C, E, F, L, I	Baba i sar., 1982, Wang i sar., 2014, Kwon i sar., 2002
13,752	13,719	319,1297 [M + H] ⁺ 363,1097 [M + HCO ₂] ⁻ 353,0811 [M + Cl] ⁻	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	Novi hormon*	
13,752		287,0878 [M + H] ⁺	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	Heraklenin, Izooksipeucedanin, Oksipeucedanin*	Cui i sar., 2011 Lee i sar., 2003 Oh i sar., 2002 Cui i sar., 2011
14,699		249,1484 [M + H] ⁺	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	Bisabolangelon	Lee i sar., 2012,
15,046		287,0911 [M + H] ⁺	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	Pabulenol	Lee i sar., 2003
15,087	15,086	319,1176 [M + H] ⁺ 317,1083 [M - H] ⁻	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	<i>t</i>-OME-oksipeucedanin hidrat* 3'-O-Acetilhamaudol	Seo i sar., 2013, Kimura i sar., 2012
	15,576	229,0875 [M - H] ⁻	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	Ostenol	Wszelaki i sar., 2011
15,718		323,0686 [M+H+2] ⁺	C ₁₆ H ₁₅ ClO ₅	Saksalin*	Avramenko i Nikonov, 1971
	16,561	259,0999 [M - H] ⁻	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	7-Metoksi-5-preniloksikumarin	Kang i sar., 2001
	16,826	385,1313 [M - H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₇	Ostrutol* , Tomazin	Harmala i sar., 1992, Sun i Jakupović, 1986
16,830		391,1750 [M + H - ACN] ⁺	C ₂₁ H ₂₆ O ₇	5-metoksi-8-(2-hidroksi-3-butoksi-3-metilbutiloksi)-psoralen	Hua i sar, 2008
17,300	17,340	389,1594 [M + H] ⁺ 433,1513 [M + HCO ₂] ⁻ 423,1225 [M + Cl] ⁻	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	Suksdorfin	Hatai sar., 1974

17,813	327,1251 [M – H] ⁻	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	Dekurzin, Dekurzinol angelat Kolumbianadin	Reddy i sar., 2008 Liu i sar., 1998
18,630	271,0965 [M + H] ⁺	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	Imperatorin, Izoimperatorin*	Oh i sar., 2002
19,864	243,1747 [M + H] ⁺ 485,3412 [2M + H] ⁺	C ₁₇ H ₂₂ O	Falkarinon	Marčetić i sar., 2013 Roman i sar., 2011
20,555	369,1333 [M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	Kerofilin	Gonzalez i sar., 1995
20,975	371,1494 [M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₂ O ₆	Ksantoangelol E	Baba i sar., 1990
21,472	573,1747 [M + H] ⁺	C ₃₂ H ₂₈ O ₁₀	Dahuribirin D	Wang i sar., 2001
21,794	573,1747 [M + H] ⁺	C ₃₂ H ₂₈ O ₁₀	Rivulobirin A	Niu i sar., 2002
22,070	387,1434 [M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₂ O ₇	Peucenidin, Izopeucenidin, Edultin, Pteriksin, Izopteriksin	Song i sar., 2007, Akihisa i sar., 2003, Mira i sar., 2015
22,401	205,1952[M + H] ⁺	C ₁₅ H ₂₄	α-Kopaen, α-Funebren, β-Burbonen	Fraternale i sar., 2014, Simonović i sar., 2014
23,642	280,2633 [M+NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₀ O	E,E-Farnezil aceton	Mohammad i sar., 2010
24,315	591,2614 [M + HCO ₂] ⁻ 581,2321 [M + Cl] ⁻	C ₃₃ H ₃₈ O ₇	Japoangelol C, Japoangelol D	Furumi i sar., 1998
25,428	282,2799 [M+NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₂ O	9,12,15-Oktadekatrien-1-ol	Li i sar., 2011

*Izolovana jedinjenja

4.1.4. Izolovanje i određivanje strukture jedinjenja iz korena *A. panicii*

Iz metanolnog ekstrakta korena biljke (jul 2013. godine) koji je re-ekstrahovan metilenhloridom, nakon dry-column flash hromatografije i HPLC razdvajanja, izolovani su furanokumarini *t*-OMe-oksipeucedanin hidrat (**FK1** - furanokumarin 1), oksipeucedanin (**FK2**), saksalin (**FK3**), ostrutol (**FK4**), oksipeucedanin hidrat (**FK5**) i hormon acetilknidimol A (**H**) koji do sada nije izolovan. Iz uzorka (koren *A. panicii*) biljnog materijala koji je sakupljen jula 2014. godine, nakon ekstrakcije heksanom, a zatim CH₂Cl₂ metodom po Soxhlet-u, pored gore navedenih jedinjenja izolovan je i izoimperatorin (**FK6**). Izolovana jedinjenja su identifikovana na osnovu snimljenih masenih, 1D i 2D NMR spektara (**Slika 35**), tj. poređenjem tako dobijenih spektroskopskih podataka sa podacima dostupnim iz literature (Baba i sar., 1994; Thanh i sar., 2004).



Slika 35. Izolovani furanokumarini (**FK1-6**) i novi hormon (**H**) iz ekstrakata korena *A. panicii*
(Ž. M. Šakić)

4.1.4.1. *Određivanje strukture acetilknidimola A - 5,7-dihidroksi-6-(2'-Z-butenil-5'-acetoksi)-2-metilhromona*

Maseni spektar izolovanog jedinjenja (**Spektar 1**) dobijen HR-ESI-MS tehnikom u uslovima ESI jonizacije daje jone $[M+H]^+$ i $[M+Na]^+$ na m/z 319,1176 i 341,0996, na osnovu kojih je izvedena bruto formula jedinjenja $C_{17}H_{18}O_6$. Struktura ovog jedinjenja utvrđena je

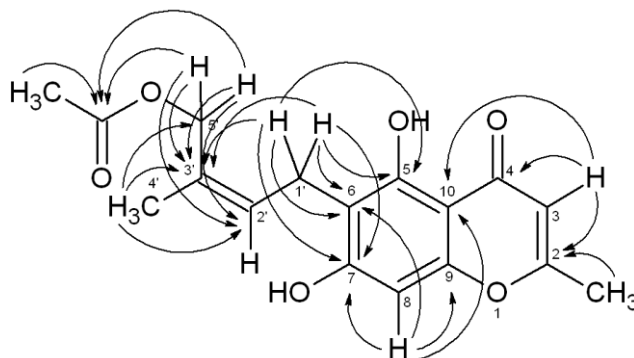
primenom 1D i 2D NMR spektroskopskih metoda i poređenjem dobijenih podataka sa literaturnim.

Na osnovu izgleda ^1H NMR spektra (**Spektar 2**), položaja i multipliciteta signala zaključeno je da ovo jedinjenje ima hromonsku strukturu. U ^1H NMR spektru (500 MHz, CDCl_3 + par kapi MeOH) prošireni singlet na δ 2,15 i singlet na δ 1,91 kao i dublet na 1,54 ($J=0,5\text{Hz}$) potiču od protona metil grupa CH_3 -2, OCOCH_3 i CH_3 -4', redom. Vinilni protoni, H-3 γ -piranovog prstena i H-2' iz bočnog niza, javljaju se kao prošireni singlet na δ 5,81, odnosno prošireni triplet na δ 5,37 (**Tabela 18**). Njihova asignacija je izvršena na osnovu korelacija u COSY spektru (**Spektar 3**). Prošireni singlet na δ 2,15 ima korelaciju sa proširenim singletom na δ 5,81, a dublet na δ 1,54 sa proširenim tripletom na δ 5,37 i dubletom na δ 3,22 ($J_{1',2'}=7,5\text{ Hz}$) koji potiče od alilnih protona u položaju 1'. Singlet na δ 1,91 nema korelacije u COSY spektru, što je pored vrednosti hemijskog pomeranja bio dokaz za metil iz acetoksi grupe. Na najvišoj vrednosti hemijskog pomeranja u ^1NMR spektru, na δ 6,16, uočava se singlet protona H-8 aromatičnog prstena. Njegova vrednost je dijamagnetno pomerena u odnosu na vrednost koja je karakteristična za protone nesupstituisanog benzena (7,26 ppm) i objašnjava se rezonantnim uticajem dve elektron donorske hidroksilne grupe u *orto* i *para* položaju u odnosu na H-8, koje povećavaju elektronsku gustinu posmatranog protona i tako ga dijamagnetno pomeraju. Singlet na δ 4,65 potiče od metilenskih protona na C-5'. Mala konstanta sprezanja $J_{4',2'}=0,5\text{ Hz}$ kod dubleta na δ 1,54 javlja se usled cisoidnog alilnog sprezanja između protona CH_3 -4' i H-2'. Ovo sprezanje istovremeno uzrokuje širenje tripleta signala H-2'.

Pošto su identifikovani signali protona, hemijska pomeranja ^{13}C određena su iz ^{13}C , DEPT, HSQC i HMBC spektara (**Spektari 5 - 10**). DEPT spektar ukazuje na postojanje dva sekundarna ugljenikova atoma (δ 20,7 i 63,4). Iz HSQC spektra koji povezuje atome ugljenika i vodonika koji su direktno skalarno spregnuti moglo se zaključiti da te vrednosti hemijskih pomeranja odgovaraju C-1' i C-5' redom. Korelacioni signali na δ 20,4 i 19,8 odgovaraju ugljenikovim atomima metil grupe iz acetatnog ostatka, tj. one vezane za C-2. Pomoću DEPT i HSQC spektara određeni su i signali koji pripadaju C-8, C-3 i C-2', i nalaze se na δ 93,0, 107,7 i 127,8, redom.

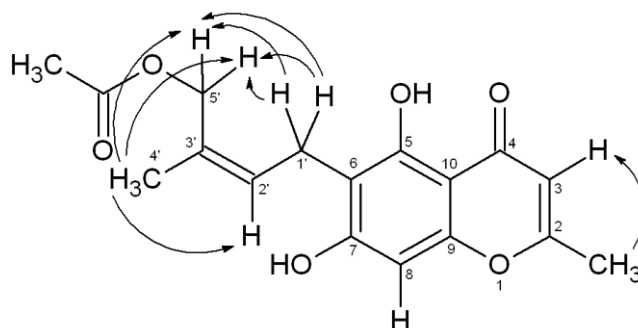
Asignaciju preostalih signala ^{13}C atoma omogućio je HMBC spektar, u kome korelacioni signali potiču od daljinskog sprezanja ^1H i ^{13}C jezgara (**Slika 36**). Najviše vrednosti hemijskog pomeranja δ 182,3 i 171,9 odgovaraju karbonilnom ugljenikovom atomu γ -piranovog prstena i

estarskom iz acetatnog ostatka. Kako se u HMBC spektru uočavaju korelacije H-3 i H-8 signala sa signalom ^{13}C na 182,3, tj. korelacije H₂-5' i acetatnih protona sa signalom na 171,9 ppm-a, nedvosmisleno je određeno da prva vrednost δ 182,3 odgovara C-4, a druga δ 171,9 $\text{O}\text{C}\text{O}\text{C}\text{H}_3$ ugljeniku.



Slika 36. HMBC korelacije acetilknidimola A (Ž. M. Šakić)

Vrednosti hemijskih pomeranja i konstanti sprezanja ^1H , odnosno vrednosti hemijskih pomeranja za ^{13}C su prikazane u **Tabeli 18**. Konformacija dvostruke veze bočnog niza molekula određena je na osnovu podataka dobijenih iz NOESY spektra. NOESY spektar (**Spektar 4**) daje informacije o prostorno bliskim protonima koji se dipolarno sprežu, a čije međusobno rastojanje ne prelazi 4Å. U NOESY spektru uočavaju se sledeće korelacije H-1'/H-5', H-4'/H-5' i H-4'/H-2' kao i CH_3 -2/H-3. Na osnovu tih korelacija (**Slika 37**) se može zaključiti da je konformacija dvostruke veze bočnog niza izolovanog hromona Z.



Slika 37. NOESY korelacije acetilknidimola A (Ž. M. Šakić)

Tabela 18. ^1H (500 MHz, CDCl_3 +par kapi MeOH) i ^{13}C NMR (125 MHz) podaci za acetilknidimol A

Atom H/C	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	NOESY
2		166,6	
3	5,81 <i>br s</i>	107,7	
4		182,3	
5		158,3	
6		110,2	
7		161,7	
8	6,16 <i>s</i>	93,0	
9		156,2	
10		103,7	
1'	3,22 <i>d</i> (J=7,5 Hz)	20,7	5'
2'	5,37 <i>br t</i> (J=7,5 Hz)	127,8	4'
3'		129,3	
4'	1,54 <i>d</i> (J=0,5 Hz)	20,9	2', 5',
5'	4,65 <i>s</i>	63,4	1', 4'
5'-OCOCH ₃	1,91 <i>s</i>	20,4	
5'-OCOCH ₃		171,9	3
2-CH ₃	2,15 <i>br s</i>	19,8	
5-OH			
7-OH			

4.1.4.2. Određivanje strukture izolovanog oksipeucedanina

Jedinjenje je izolovano kao kristalna supstanca bele boje. Bruto formula ovog jedinjenja je $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$ i dobijena je na osnovu vrednosti molekulskog jona $[\text{M}+\text{H}]^+$ na m/z 287,09140 izmerenog HR-ESI-MS tehnikom. Maseni spektar ovog jedinjenja (**Spektar 11**) koji je dobijen u uslovima ESI jonizacije pored gore navedenog molekulskog jona, pokazuje još i $[\text{M}+\text{Na}]^+$ i $[\text{M}+\text{K}]^+$ na m/z 309,0733 i 325,0473 redom.

^1H NMR spektar izolovanog jedinjenja (**Spektar 12**) koji je snimljen na 500 MHz i u deuterisanom hloroformu pokazivao je signale protona koji su se nalazili na onim vrednostima hemijskog pomeranja koji su karakteristični za linearne furanokumarine. Tako dva dubleta na δ 6,30 i 8,19 ($J_{3,4}=10,0$ Hz) potiču od protona α -piranovog prstena H-3 i H-4. Visoka vrednost hemijskog pomeranja H-4 posledica je prisustva karbonilne grupe u položaju α tog prstena, koja kao rezonantni elektron akceptor smanjuje konstantu zaklanjanja posmatranog protona i paramagnetno ga pomera. Visoka δ vrednost za H-4 je istovremeno indikacija odsustva protona

H-5 [47]. Dok protonski dublet na δ 7,62 ($J_{2'3'}=2,5$ Hz) i dvostruki dublet na δ 6,94 ($J_{2'3'}=2,5$ Hz i $J_{3'8}=0,5$ Hz) odgovaraju protonima H-2' i H-3', prošireni singlet na δ 7,18 odgovara protonu H-8. Mala vrednost konstante daljinskog sprezanja $J_{3',8}=0,5$ Hz uzrok je širenja singleta ovog protona, i javlja se iako daljinska sprezanja kod linearnih furanokumarina nisu uobičajena (Thanh i sar., 2004). U ^1H NMR spektru izolovanog jedinjenja se mogu uočiti i karakteristični signali ABX spinskog sistema koji se javljaju kao dvostruki dubleti na sledećim vrednostima hemijskog pomeranja δ : 4,60 ($J_{1\alpha'',1\beta''}=10,0$ i $J_{2'',1\alpha''}=3,0$ Hz), 4,43 ($J_{1\alpha'',1\beta''}=10,0$ i $J_{2'',1\beta''}=5,0$ Hz) i 3,42 ($J_{2'',1\alpha''}=3,0$ i $J_{2'',1\beta''}=5,0$ Hz) odgovaraju protonima H-1 α'' , H-1 β'' i H-2'', redom. Na najnižoj vrednosti hemijskog pomeranja δ 1,33 i 1,40 nalaze se singleti metil grupa H-5'' i H-4''. U COSY spektru (**Spektar 13**) su vidljive korelacije između gore navedenih protona. Navedene vrednosti hemijskog pomeranja kao i konstanti sprezanja protona prikazane su u **Tabeli 19**. Pošto je izvršena asignacija protona na osnovu ^1H NMR i COSY spektara, određena su hemijska pomeranja i identifikovani su ^{13}C atomi pomoću ^{13}C NMR, DEPT, HSQC i HMBC, spektara (**Spektari 15 - 18**). Dobijene vrednosti su prikazane u **Tabeli 19**. Vrednosti spektroskopskih podataka poređene su sa literaturnim, što je dalo potvrdu da je izolovani kumarin oksipeucedanin (Thanh i sar., 2004).

Tabela 19. ^1H (500 MHz, CDCl_3) i ^{13}C NMR (125 MHz) podaci za oksipeucedanin.

Atom H/C	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
2		161,1
3	6,30 <i>d</i> ($J=10,0$ Hz)	113,0
4	8,19 <i>d</i> ($J=10,0$ Hz)	139,0
5		148,3
6		114,2
7		158,0
8	7,18 <i>br s</i>	94,8
9		152,5
10		107,4
2'	7,62 <i>d</i> ($J=2,5$ Hz)	145,3
3'	6,94 <i>dd</i> ($J=2,5, 0,5$ Hz)	104,4
1 β'' 1 α''	4,43 <i>dd</i> ($J=10,0, 5,0$ Hz) 4,60 <i>dd</i> ($J=10,0, 3,0$ Hz)	72,3
2''	3,42 <i>dd</i> ($J=3,0, 5,0$ Hz)	61,1
3''		58,4
4''	1,40 <i>s</i>	24,6
5''	1,33 <i>s</i>	19,0

4.2. Rezultati i diskusija biološke aktivnosti analiziranih vrsta

4.2.1. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost uzoraka

U ovom istraživanju je korišćenjem standardnih spektrofotometrijskih metoda izvršeno kolorimetrijsko određivanje ukupnog sadržaja fenola i flavonoida ekstrakata odabranih vrsta i standarda galne kiseline i kvercetin hidrata. Dobijeni rezultati za proučavane vrste prvi put su objavljeni u ovom radu i prikazani su u **Tabeli 20**.

4.2.1.1. Uporedna analiza rezultata ukupnog sadržaja fenola

Ferulago macedonica: Ukupna koncentracija fenolnih jedinjenja ekstrakata vrste *F. macedonica* ($c=1$ mg/mL) je određena spektrofotometrijski i prezentovana u **Tabeli 20**. Rezultati su izraženi kao ekvivalenti galne kiseline i kretali su se u opsegu od 34,12 mg GAE/g SE (za etanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke), do 59,68 mg GAE/g SE (u etanolnom ekstraktu vršnog dela *F. macedonica*). Iz priloženih rezultata se vidi da je vršni deo biljke bogatiji fenolnim jedinjenjima u odnosu na nadzemni deo *F. macedonica*. Među ekstraktima nadzemnog dela biljke, najveću koncentraciju fenola ima etanolni ekstrakt, dok je među ekstraktima nadzemnog dela, najveća količina ovih jedinjenja detektovana u vodenom ekstraktu biljke.

Echinophora sibthorpiana: Najveći sadržaj fenola posedovali su metanolni, vodeni i etanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke kao što je prikazano u **Tabeli 20**. Takođe se može videti da je opseg vrednosti ukupnog sadržaja fenola za biljku *E. sibthorpiana* između 38,65 mg GAE/g SE (etanolni ekstrakt korena) do 60,72 mg GAE/g SE (metanolni ekstrakt nadzemnog dela). Od ispitivanih ekstrakata nadzemnog dela biljke, najveća količina fenola je zabeležena u metanolnom ekstraktu, dok je od ekstrakata korena najbogatiji fenolima vodeni ekstrakt. Veća ukupna koncentracija fenola je izmerena u ekstraktima nadzemnog dela ove vrste. Etanolni ekstrakti *E. sibthorpiana* su posedovali najniže koncentracije ukupnih fenola (**Tabela 20**).

Laserpitium ochridanum: Ukupan sadržaj fenola (**Tabela 20**) izmeren u ekstraktima *L. ochridanum* je najveći u etanolnom ekstraktu nadzemnog dela (141,302 mg GAE/g SE). Sledi metanolni ekstrakt sa ukupnom koncentracijom fenola od 125,307 mg GAE/g SE, dok je najniža ukupna količina ovih jedinjenja zabeležena u vodenom ekstraktu (111,281 mg GAE/g SE).

Heracleum orphanidis: **Tabela 20** prikazuje dobijene rezultate za ukupne sadržaje fenola izmerene u ekstraktima vrste *H. orphanidis*. Prema datim podacima, najveći ukupni sadržaj fenola je izmeren u vodenom ekstraktu nadzemnog dela (75,750 mg GAE/g SE), dok je u vodenom ekstraktu korena najniža ukupna koncentracija ovih jedinjenja (28,749 mg GAE/g SE). I kod ove vrste je nadzemni deo biljke bogatiji fenolima (među uzorcima dobijenim iz ovog dela biljke najveći sadržaj ovih metabolita ima metanolni ekstrakt) u poređenju sa korenom (gde etanolni ekstrakt korena ima najvišu koncentraciju ovih jedinjenja).

Angelica pancicii: Ekstrakti dobijeni iz korena biljke posedovali su niži ukupni sadržaj fenolnih jedinjenja prema rezultatima prikazanim u **Tabeli 20**. Među ekstraktima ove vrste je u etanolnim ekstraktima zabeležen najveći sadržaj ovih metabolita. Minimalna vrednost ukupne koncentracije fenola izmerena je u vodenom ekstraktu korena (54,370 mg GAE/g SE), nasuprot etanolnom ekstraktu nadzemnog dela za koji je karakteristično prisustvo velike količine fenolnih jedinjenja (143,990 mg GAE/g SE).

Uporednom analizom dobijenih vrednosti za ukupnan sadržaj fenola ispitivanih vrsta prezentovanih u **Tabeli 20**, može se zaključiti da je etanolni ekstrakt nadzemnog dela *A. pancicii* sa 143,990 mg GAE/g SE uzorak koji je najbogatiji fenolima u ovom radu. Najmanju količinu fenola od svih ekstrakata ima vodeni ekstrakt korena *H. orphanidis*. Vršni deo vrste *F. macedonica* poseduje veći ukupan sadržaj fenola od nadzemnog dela, dok je njihova koncentracija kod ostalih biljaka veća u nadzemnom delu nego u korenu. Kada se porede ukupni sadržaji fenola testiranih uzoraka prema polarnosti rastvarača koji je korišćen, nije uočeno izdvajanje nijedne vrste ekstrakata. Vrsta *L. ochridanum* je najbogatija u sadržaju fenola, sledi *A. pancicii*, dok ostale vrste imaju približno slične količine ovih metabolita.

4.2.1.2. Uporedna analiza rezultata ukupnog sadržaja flavonoida

Ferulago macedonica: Ukupan sadržaj flavonoida u ekstraktima *F. macedonica* koncentracije 1 mg/mL prikazan je u **Tabeli 20**. Dobijene vrednosti za sadržaj ovih jedinjenja su između 10,568 i 23,736 mg QE/g SE. Najveći sadržaj flavonoida izmeren je u etanolnim ekstraktima vršnog i nadzemnog dela biljke (23,736 i 23,504 mg QE/g SE), zatim u metanolnom ekstraktu vršnog dela sa 20,901 mg QE/g SE. Prema dobijenim rezultatima, vodeni ekstrakti su pokazali najniže koncentracije flavonoida. Isto tako je primećeno da su ekstrakti nadzemnog dela biljke posedovali nižu ukupnu koncentraciju flavonoida u odnosu na vršni deo biljke.

Echinophora sibthorpiana: Ukupna koncentracija flavonoida vrste *E. sibthorpiana* je veća u ekstraktima nadzemnog dela biljke nego u ekstraktima izolovanim iz korena i vrednosti izmerenih koncentracija ove grupe jedinjenja su između 3,15 mg QE/g SE (etanolni ekstrakt korena) i 19,008 mg QE/g SE (etanolni ekstrakt nadzemnog dela). Visoki sadržaj flavonoida zabeležen je i u metanolnom ekstraktu *E. sibthorpiana* nadzemnog dela (17,46 mg QE/g SE). Dobijeni rezultati ukazuju na veći ukupni sadržaj flavonoida u nadzemnom delu biljke nego u korenu (**Tabela 20**).

Laserpitium ochridanum: Od tri testirana ekstrakta vrste *L. ochridanum*, ukupni flavonoidi su najzastupljeniji u etanolnom ekstraktu (67,69 mg QE/g SE). Kao što je predstavljeno u **Tabeli 20**, po zastupljenosti flavonoida sledili su metanolni ekstrakt biljke sa detektovanom koncentracijom od 31,312 mg QE/g SE, dok je u vodenom ekstraktu izmeren sadržaj od 21,38 mg QE/g SE.

Heracleum orphanidis: Dobijene vrednosti ukupnog sadržaja flavonoida *H. orphanidis* kretale su se u opsegu od 1,779 mg QE/g SE za etanolni ekstrakt korena biljke do 24,238 mg QE/g SE za etanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke. Niže koncentracije flavonoida su izmerene u ekstraktima dobijenim iz korena biljke što je uzrokovalo i manji antioksidativni potencijal. Dobijeni rezultati za *H. orphanidis* predstavljeni u **Tabeli 20**, ukazuju da su metanolni ekstrakti imali najveću koncentraciju flavonoida (do 35,156 mg QE/g SE).

Angelica pancicii: Ekstrakti ove vrste su podvrgnuti detekciji ukupnog sadržaja flavonoida i merenja su pokazala varijacije u detektovanim ukupnim koncentracijama ovih sekundarnih metabolita (Tabela 20). Znatno veći ukupni sadržaj flavonoida je zabeležen u ekstraktima nadzemnog dela biljke (9,542-35,150 mg QE/g SE) nego u ekstraktima korena (4,000-6,380 mg QE/g SE). Najveća koncentracija ukupnih flavonoida detektovana je u metanolnom ekstraktu nadzemnog dela. Suprotno tome, najniži sadržaj registrovan je u metanolnom i etanolnom ekstraktu korena *A. pancicii*. U metanolnim i etanolnim ekstraktima ove vrste izmeren je veći ukupni sadržaj flavonoida u odnosu na vodene ekstrakte.

Tabela 20. Rezultati izmerenih ukupnih sadržaja fenola i flavonoida u ekstraktima (mg/mL)

Vrsta	Uzorak	Deo biljke	Ukupni fenoli mg GAE/g SE	Ukupni flavonoidi mg QE/g SE
<i>F. macedonica</i>	ME	Vršni deo	47,902 ± 0,001 ^c	20,901 ± 0,004 ^b
		Nad. deo	44,813 ± 0,009 ^c	10,568 ± 0,011 ^c
	EE	Vršni deo	59,680 ± 0,023 ^b	23,736 ± 0,013 ^b
		Nad. deo	34,128 ± 0,017 ^c	23,504 ± 0,004 ^b
	VE	Vršni deo	50,591 ± 0,011 ^b	14,920 ± 0,011 ^c
		Nad. deo	49,413 ± 0,010 ^c	11,055 ± 0,003 ^c
<i>E. sibthorpiana</i>	ME	Nad. deo	60,728 ± 0,012 ^b	17,465 ± 0,010 ^c
		Koren	42,192 ± 0,011 ^c	3,927 ± 0,007 ^d
	EE	Nad. deo	51,670 ± 0,003 ^b	19,008 ± 0,000 ^c
		Koren	38,654 ± 0,003 ^c	3,152 ± 0,003 ^d
	VE	Nad. deo	57,347 ± 0,001 ^b	16,812 ± 0,005 ^c
		Koren	50,061 ± 0,021 ^b	7,510 ± 0,006 ^c
<i>L. ochridanum</i>	ME	Nad. deo	111,281 ± 0,005 ^a	31,312 ± 0,010 ^b
	EE	Nad. deo	141,302 ± 0,013 ^a	67,690 ± 0,018 ^a
	VE	Nad. deo	125,307 ± 0,010 ^a	21,384 ± 0,004 ^b
<i>H. orphanidis</i>	ME	Nad. deo	57,202 ± 0,002 ^b	18,383 ± 0,007 ^c
		Koren	33,367 ± 0,007 ^c	2,233 ± 0,000 ^d
	EE	Nad. deo	57,205 ± 0,002 ^b	24,238 ± 0,004 ^b
		Koren	35,548 ± 0,006 ^c	1,779 ± 0,005 ^d
	VE	Nad. deo	75,750 ± 0,004 ^b	16,157 ± 0,007 ^c
		Koren	28,749 ± 0,002 ^c	5,081 ± 0,005 ^c
<i>A. pancicii</i>	ME	Nad. deo	72,770 ± 0,000 ^b	35,156 ± 0,002 ^b
		Koren	66,680 ± 0,004 ^b	4,460 ± 0,003 ^d
	EE	Nad. deo	143,990 ± 0,012 ^a	31,397 ± 0,005 ^b
		Koren	90,330 ± 0,006 ^b	4,000 ± 0,002 ^d
	VE	Nad. deo	84,810 ± 0,003 ^b	9,542 ± 0,001 ^c
		Koren	54,370 ± 0,001 ^b	6,380 ± 0,011 ^c

Uporedna analiza rezultata iz **Tabele 20.** ukazuje da među istraženim vrstama u ovom radu, najveći ukupni sadržaj flavonoida ima etanolni ekstrakt *L. ochridanum* (67,690 mg QE/g SE), dok je koncentracija od 1,779 mg QE/g SE zabeležena u etanolnom ekstraktu korena *H. orphanidis*. Poređenjem testiranih vrsta, može se reći da je najveća koncentracija flavonoida u ekstraktima *L. ochridanum*, a nešto manja količina ovih jedinjenja je detektovana u metanolnim i etanolnim ekstraktima *A. pancicii*, dok je njihov sadržaj u ostalim biljkama približan. Vršni deo *F. macedonica* je bogati po ukupnom sadržaju flavonoida od nadzemnog dela biljke kada su u pitanju sve tri vrste ekstrakta. Kod ostalih biljnih vrsta, nadzemni deo biljke poseduje je veću koncentraciju metabolita u poređenju sa korenom (**Tabela 20**).

4.2.1.3. Uporedna analiza antioksidativne aktivnosti odabranih vrsta

Metanolni, etanolni i vodeni ekstrakti kao i etarska ulja nadzemnog dela vrsta *E. sibthorpiana*, *L. ochridanum* i *H. orphanidis* i referentna jedinjenja su bili podvrgnuti određivanju antioksidativne aktivnosti pomoću tri test sistema (**Tabela 21**). Do ovih istraživanja nisu postojali dostupni podaci o antiradikalnoj aktivnosti vrsta *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Sposobnost testiranih uzoraka da neutrališu slobodne radikale je u ovom radu dozno zavisna. Pri većim testiranim koncentracijama registrovana je i jača antioksidativna aktivnost.

4.2.1.3.1. Uporedna analiza rezultata DPPH testa

Ferulago macedonica: Dobijeni rezultati (**Tabela 20**) pokazuju da ekstrakti ove vrste imaju umereni antioksidativni kapacitet pri čemu je najjače antiradikalno dejstvo pokazao metanolni ekstrakt vršnog dela biljke ($IC_{50}=0,492$ mg/mL), a sledio je metanolni ekstrakt nadzemnog dela ($IC_{50}=0,634$ mg/mL). Poređenjem rezultata dobijenim za ekstrakte *F. macedonica* sa aktivnošću sintetičkih antioksidanasa BHA, BHT i vit. C ($IC_{50}=0,131, 0,14, 0,03$ mg/mL, redom), svi ekstrakti vrste *F. macedonica* su pokazali nešto slabiju antioksidativnu aktivnost. Prema ovom testu, najslabije dejstvo ispoljio je vodeni ekstrakt nadzemnog dela biljke ($IC_{50}=1,814$ mg/mL). Prema priloženim rezultatima može se zaključiti da su ekstrakti dobijeni iz vršnog dela biljke imali bolji efekat u neutralisanju slobodnih radikala u odnosu na uzorke

dobijene od nadzemnog dela, kao i da su metanolni ekstrakti imali najjaču aktivnost, a vodeni najslabiju (**Tabela 20**).

Echinophora sibthorpiana: Rezultati dobijeni u DPPH testu za vrstu *E. sibthorpiana* dati su u **Tabeli 20**. Može se videti da svi ekstrakti pokazuju dosta slabiju antioksidativnu efikasnost u odnosu na korišćene referentne standarde BHA, BHT i vit. C. Najjači efekat među testiranim ekstraktima ispoljio je vodeni ekstrakt nadzemnog dela ($IC_{50}=1,671$ mg/mL), pa metanolni ekstrakt nadzemnog dela, sa vrlo sličnim nivoom aktivnosti ($IC_{50}=1,731$ mg/mL), dok je najniži potencijal zabeležen za vodeni ekstrakt korena ($IC_{50}=6,813$ mg/mL). Ekstrakti nadzemnog dela biljke pokazali su višestruko jaču antiradikalnu aktivnost u odnosu na ekstrakte korena *E. sibthorpiana*. Pored toga, metanolni ekstrakti su najefikasniji, dok su za etanolne ekstrakte registrovane najviše IC_{50} vrednosti (**Tabela 20**). Za etarsko ulje *E. sibthorpiana* registrovana je umerena aktivnost u poređenju sa standardima ($IC_{50}=1,020$ mg/mL).

Laserpitium ochridanum: Rezultati dobijeni za antioksidativnu aktivnost *L. ochridanum* (**Tabela 20**) ukazuju da se opseg antioksidativnog kapaciteta ekstrakata ove biljke kretao od $IC_{50}=0,115$ mg/mL za etanolni ekstrakt nadzemnog dela sa najintenzivnijim dejstvom do $IC_{50}=1,882$ mg/mL za etarsko ulje koje je imalo najnižu aktivnost. Korišćeni ekstrakti ispoljili su sličnu antioksidativnu efikasnost, što se može zaključiti na osnovu izmerenih vrednosti za IC_{50} i ta aktivnost je neznatno jača od aktivnosti standarda BHA i BHT, ali slabija u poređenju sa aktivnošću vitamina C.

Heracleum orphanidis: Prema izmerenim vrednostima apsorpcije ekstrakata u DPPH testu, pokazalo se da metanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke ima najveći efekat u neutralisanju slobodnih radikala (**Tabela 20**). Poredeći aktivnost ekstrakata prema biljnom delu iz kojeg su dobijeni, skoro trostruko jaču aktivnost pokazali su ekstrakti nadzemnog dela biljke. Etarsko ulje je ispoljilo jače dejstvo ($IC_{50}=2,020$ mg/mL) jedino u odnosu na vodeni ekstrakt korena ($IC_{50}=2,810$ mg/mL). Takođe se može zaključiti da su aktivnosti etanolnih i vodenih ekstrakata približne i da su svi korišćeni sintetički antioksidansi imali jači antioksidativni potencijal.

Angelica pancicii: Prikaz rezultata dobijenih za ekstrakte vrste *A. pancicii* u DPPH testu dat je u **Tabeli 20**. Na osnovu očitanih vrednosti efikasnih koncentracija može se videti da je obim aktivnosti između 0,255 mg/mL za etanolni ekstrakt nadzemnog dela i 0,473 mg/mL za etanolni ekstrakt korena. Može se zaključiti i da su aktivnosti ekstrakata nadzemnog dela i ekstrakata korena, približne. Svi testirani ekstrakti ispoljili su slabiju aktivnost u odnosu na antioksidanse BHA, BHT i vitamin C, pri čemu je najjači uzorak - etanolni ekstrakt nadzemnog dela *A. pancicii* pokazao upola slabiju antioksidativnu aktivnost u odnosu na njih (**Tabela 20**).

Uporednom analizom dobijenih rezultata u DPPH testu, može se konstatovati da su najniže IC₅₀ koncentracije zabeležena za ekstrakte vrste *L. ochridanum* (0,115-0,127 mg/mL), dok je najslabija antioksidativna aktivnost registrovana za uzorke *E. sibthorpiana* gde su dobijene najveće IC₅₀ vrednosti (1,671-6,813 mg/mL). Intenziteti antiradikalne aktivnosti testiranih vrsta predstavljeni su u sledećem opadajućem nizu: *L. ochridanum* > *A. pancicii* > *F. macedonica* > *H. orphanidis* > *E. sibthorpiana* (**Tabela 20**). Metanolni ekstrakti su uglavnom najjači antioksidansi, dok su vodeni, sa nekim izuzecima, posedovali najslabiju aktivnost. Poredeći aktivnost ekstrakata dobijenih iz različitih biljnih delova, može se zaključiti da je vršni deo *F. macedonica* pokazao jače dejstvo u odnosu na nadzemni deo biljke, dok je kod drugih vrsta nadzemni deo posedovao jače dejstvo od korena. Komparacijom izmerenih vrednosti za antioksidativnu aktivnost etarskih ulja i ekstrakata, može se videti da su testirana ulja ispoljila slabije dejstvo. Njihova opadajuća aktivnost predstavljena je sledećim redom: *F. macedonica*, *E. sibthorpiana* i *H. orphanidis*, ali nisu zabeležene velike razlike u IC₅₀ vrednostima. U odnosu na BHA, BHT i vitamin C, samo su ekstrakti *L. ochridanum* ispoljili jako dejstvo koje je poredivo sa ovim referentnim jedinjenjima, prvenstveno sa sintetičkim BHA i BHT (**Tabela 20**).

4.2.1.3.2. Uporedna analiza rezultata ABTS testa

Ferulago macedonica: U **Tabeli 21**. sumirani su rezultati antioksidativnog dejstva ekstrakata *F. macedonica* (1 mg/mL) u ABTS testu. Sposobnost neutralisanja ABTS⁺ radikala ovih uzoraka kretala se u opsegu od 0,233 mg vit.C/g SE za metanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke do 1,690 mg vit. C/g SE za etanolni ekstrakt vršnog dela *F. macedonica*. Aktivnosti ekstrakata vršnih delova biljke bile su jače u odnosu na dejstva koja su zabeležena za uzorke

dobijene iz nadzemnog dela ove vrste, pri čemu se može videti da su aktivnosti metanolnog i etanolnog ekstrakta vršnog dela bile približne jačine (1,690 i 1,634 mg vit.C/g SE, redom). Najslabija dejstva izmerena su za vodene ekstrakte *F. macedonica*. Ekstrakti su pokazali umerenu aktivnost u odnosu na standard kvercetin hidrat (2,749 mg vit. C/g kvercetina), što se može videti iz priloženih rezultata u **Tabeli 21**.

Echinophora sibthorpiana: Prezentovani rezultati ABTS testa (**Tabela 21**) impliciraju da su uzorci *E. sibthorpiana* imali umerenu aktivnost u poređenju sa referentnim kvercetin hidratom. Među ekstraktima u testiranoj koncentraciji od 1 mg/mL, etanolni (1,119 mg vit. C/g SE) i vodeni ekstrakt nadzemnog dela (1,020 mg vit. C/g SE) posedovali su najveću sposobnost neutralisanja radikala u ovom testu. Veću antioksidativnu aktivnost u odnosu na ekstrakte pokazalo je etarsko ulje ($c=0,1$ mg/mL) ove vrste. Iz priloženih rezultata, može se videti da su svi ekstrakti korena biljke ispoljili trostruko slabiju efikasnost u odnosu na ekstrakte nadzemnog dela biljke, pri čemu su metanolni, etanolni i vodeni međusobno pokazali sličan intenzitet delovanja.

Laserpitium ochridanum: Ekstrakti vrste *L. ochridanum* su u ABTS testu imali umerenu do jaku antiradikalnu aktivnost (**Tabela 21**). Vodeni ekstrakt nadzemnog dela biljke je najefektivniji (2,172 mg vit. C/g SE) sa nešto slabijim antioksidativnim kapacitetom u odnosu na korišćeni standard kvercetin hidrat (2,749 mg vit. C/g kvercetina). Sledili su metanolni i etanolni ekstrakt za koje su izmerene približne vrednosti jačine antioksidativne aktivnosti u odnosu na vitamin C (**Tabela 21**).

Heracleum orphanidis: Antioksidativni potencijal ekstrakata vrste *H. orphanidis* se pokazao kao umeren do slab u poređenju sa kontrolom (**Tabela 21**). Od testiranih uzoraka, efekasniji u uklanjanju slobodnih radikala su ekstrakti nadzemnog dela u odnosu na ekstrakte korena. Među njima, najzapaženije dejstvo imao je vodeni ekstrakt nadzemnog dela, a najslabiji je vodeni ekstrakt korena. Ekstrakti *H. orphanidis* su po efikasnosti poredani u sledećem opadajućem nizu: vodeni > etanolni > metanolni.

Angelica pancicii: Na osnovu vrednosti predstavljenih u **Tabeli 21**, aktivnosti ekstrakata kreću se u intervalu od 1,102 mg vit. C/g SE za etanolni ekstrakt nadzemnog dela do 0,637 mg vit. C/g SE za vodeni ekstrakt korena. Svi testirani uzorci su manje efikasni u neutralisanju slobodnih radikla u komparaciji sa kvercetin hidratom. Nije uočena velika razlika u jačini dejstva ekstrakata izolovanih iz nadzemnog dela i korena ove vrste. Sa druge strane, poređenjem jačine dejstava ekstrakata po polarnosti, može se videti da su etanolni ekstrakti najefikasniji (**Tabela 21**).

Uporedni pregled rezultata antioksidativne aktivnosti odabranih vrsta dobijenih primenom ABTS metode, implicira da etarsko ulje vrste *E. sibthorpiana* ($c=0,1$ mg/mL) ima najjaču antioksidativnu aktivnost (2,021 mg vit. C/g etarskog ulja). Od testiranih ekstrakata koncentracije 1 mg/mL, najefikasniji je vodeni ekstrakt nadzemnog dela *L. ochridanum* (2,172 mg vit. C/g SE), dok je vodeni ekstrakt korena *H. orphanidis* najslabiji (0,195 mg vit. C/g SE). U poređenju sa standardom kvercetin hidratom, svi ekstrakti u ovom testu su ispoljili slabiju aktivnost (**Tabela 21**). U sledećem nizu su poređani ekstrakti po opadajućoj jačini dejstva u ABTS testu: *L. ochridanum*, vršni deo *F. macedonica*, nadzemni deo *E. sibthorpiana* i *A. pancicii*. Od ekstrakata koji su izolovani iz korena ispitivanih vrsta, najjači ekstrakti su dobijeni iz *A. pancicii*, a najslabiji iz *H. orphanidis* (**Tabela 21**).

4.2.1.3.3. Uporedna analiza rezultata β -karoten/linolna kiselina testa

Ferulago macedonica: Rezultati β -karoten/linolna kiselina testa (**Tabela 21**) sugerišu da je vršni deo biljke pokazao jači antioksidativni potencijal ($IC_{50}=2,478-5,024$ mg/mL) od nadzemnog dela ($IC_{50}=3,522-6,011$ mg/mL). Metanolni ekstrakt vršnog dela je najefikasniji, dok najslabije dejstvo posedovuje vodeni ekstrakt nadzemnog dela biljke. Aktivnost ekstrakata *F. macedonica* data je u sledećem opadajućem nizu: metanolni, etanolni, vodeni ekstrakti. Najjači ekstrakt u ovom eksperimentu ima upola slabiju aktivnost od standarda BHA ($IC_{50}=1,216$ mg/mL) (**Tabela 21**).

Echinophora sibthorpiana: Dobijene vrednosti prikazane u **Tabeli 21**, ukazuju da u β -karoten/linolna kiselina testu, ekstrakti nadzemnog dela biljke ($IC_{50}=4,258-7,556$ mg/mL) imaju

veći potencijal od ekstrakata korena *E. sibthorpiana* ($IC_{50}=6,037-8,933$ mg/mL). Pored toga, metanolni ekstrakti su pokazali najbolju aktivnost, dok su vodeni najslabiji u sprečavanju obezbojavanja β -karotena. Iz priloženih rezultata je uočeno da je metanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke najefikasniji ($IC_{50}=4,258$ mg/mL), dok najmanju efikasnost pokazuje vodeni ekstrakt korena ($IC_{50}=8,933$ mg/mL). Svi testirani uzorci imali su manji antioksidativni potencijal od sintetičkog antioksidansa BHA (**Tabela 21**).

Laserpitium ochridanum: U β -karoten/linolna kiselina testu, IC_{50} vrednosti antioksidativne aktivnosti vrste *L. ochridanum* su se kretale od 2,005 mg/mL koja je zabeležena za etanolni ekstrakt do 3,137 mg/mL koja je registrovana za vodeni ekstrakt (**Tabela 21**). Iz priloženih rezultata se može zaključiti da je jačina delovanja ispitivanih uzoraka išla u sledećem opadajućem nizu: etanolni, metanolni, vodeni ekstrakti. Svi testirani uzorci pokazali su neznatno slabije dejstvo u odnosu na BHA ($IC_{50}=1,216$ mg/mL), tako da se aktivnost ovih uzoraka u sprečavanju izbeljivanja β -karotena može opisati kao umerena do jaka.

Heracleum orphanidis: Vrsta *H. orphanidis* u ovoj metodi dala je sledeće rezultate: uzorak sa najjačim dejstvom je bio metanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke sa izmerenom IC_{50} koncentracijom od 4,281 mg/mL, dok je vodeni ekstrakt pokazao najslabiji efekat ($IC_{50}=17,460$ mg/mL). Nadzemni deo biljke posedovao je jači antioksidativni potencijal. Rezultati dodatno ukazuju na najbolji efekat metanolnih ekstrakata, dok su etanolni pokazali neznatno jače dejstvo od vodenih ekstrakata (**Tabela 21**).

Angelica pancicii: Prema dobijenim rezultatima za ekstrakte *A. pancicii*, najbolji antioksidativni efekat demonstrirao je etanolni ekstrakt nadzemnog dela sa koncentracijom IC_{50} od 2,453 mg/mL (**Tabela 21**). Najveće izmerene vrednosti detektovane su za vodeni ekstrakt korena gde IC_{50} vrednost iznosi 14,001 mg/mL. U β -karoten/linolna kiselina metodi, ekstrakti nadzemnog dela pokazali su jaču aktivnost u poređenju sa ekstraktima dobijenim iz korena. Uočeno je da su svi ekstrakti nadzemnog dela približno iste jačine, dok je među ekstraktima korena najefikasniji metanolni ekstrakt (**Tabela 21**). Antioksidans BHA imao je veći potencijal od svih ekstrakata *A. pancicii* u sprečavanju obezbojavanja β -karotena.

Tabela 21. Rezultati DPPH, ABTS i β -karoten/linolna kiselina testova

Vrsta	Uzorak	Deo biljke	DPPH	ABTS	β -karoten/linolna
			IC ₅₀ (mg/mL)	mg vit. C/g SE	kiselina IC ₅₀ (mg/mL)
<i>F. macedonica</i>	ME	Vršni deo	0,492 ± 0,012 ^a	1,631 ± 0,008 ^b	2,478 ± 0,011 ^a
		Nad.deo	0,634 ± 0,008 ^a	0,233 ± 0,005 ^d	3,522 ± 0,031 ^b
	EE	Vršni deo	0,735 ± 0,010 ^a	1,690 ± 0,002 ^b	3,120 ± 0,009 ^b
		Nad. deo	1,107 ± 0,004 ^b	1,477 ± 0,002 ^b	4,987 ± 0,014 ^b
	VE	Vršni deo	1,174 ± 0,005 ^b	0,814 ± 0,009 ^c	5,024 ± 0,041 ^b
		Nad. deo	1,814 ± 0,015 ^b	0,603 ± 0,005 ^c	6,011 ± 0,022 ^{bc}
<i>E. sibthorpiana</i>	ME	Nad. deo	1,731 ± 0,005 ^b	0,802 ± 0,008 ^c	4,258 ± 0,036 ^b
		Koren	5,443 ± 0,007 ^d	0,381 ± 0,006 ^d	6,037 ± 0,016 ^c
	EE	Nad.deo	2,892 ± 0,021 ^c	1,119 ± 0,016 ^b	5,789 ± 0,023 ^{bc}
		Koren	6,588 ± 0,004 ^d	0,332 ± 0,003 ^d	7,193 ± 0,017 ^c
	VE	Nad. deo	1,671 ± 0,006 ^b	1,020 ± 0,007 ^b	7,556 ± 0,012 ^c
		Koren	6,813 ± 0,004 ^d	0,397 ± 0,007 ^d	8,933 ± 0,024 ^{cd}
EU	Nad. deo	1,020 ± 0,008 ^b	2,021 ± 0,008 ^a	n.i.	
<i>L. ochridanum</i>	ME	Nad. deo	0,122 ± 0,011 ^a	1,632 ± 0,009 ^b	2,361 ± 0,011 ^b
	EE	Nad. deo	0,115 ± 0,002 ^a	1,558 ± 0,004 ^b	2,005 ± 0,008 ^b
	VE	Nad.deo	0,127 ± 0,000 ^a	2,172 ± 0,005 ^a	3,137 ± 0,023 ^c
	EU	Nad. deo	1,882 ± 0,009 ^b	n.i.	n.i.
<i>H. orphanidis</i>	ME	Nad. deo	0,550 ± 0,011 ^a	0,642 ± 0,004 ^c	4,281 ± 0,01 ^b
		Koren	1,859 ± 0,020 ^b	0,260 ± 0,002 ^d	7,782 ± 0,020 ^c
	EE	Nad. deo	0,667 ± 0,010 ^a	0,605 ± 0,002 ^c	6,587 ± 0,012 ^c
		Koren	1,758 ± 0,010 ^b	0,209 ± 0,000 ^d	9,856 ± 0,014 ^d
	VE	Nad. deo	0,697 ± 0,018 ^a	1,126 ± 0,000 ^b	8,512 ± 0,028 ^{cd}
		Koren	2,810 ± 0,034 ^c	0,195 ± 0,001 ^d	17,460 ± 0,024 ^f
EU	Nad. deo	2,020 ± 0,020 ^c	n.i.	n.i.	
<i>A. pancicii</i>	ME	Nad. deo	0,291 ± 0,009 ^a	0,874 ± 0,002 ^c	2,980 ± 0,02 ^{ab}
		Koren	0,397 ± 0,012 ^a	0,898 ± 0,003 ^c	4,941 ± 0,07 ^b
	EE	Nad. deo	0,255 ± 0,013 ^a	1,102 ± 0,001 ^b	2,453 ± 0,002 ^a
		Koren	0,473 ± 0,003 ^a	1,060 ± 0,005 ^b	5,544 ± 0,004 ^{ab}
	VE	Nad. deo	0,283 ± 0,010 ^a	0,977 ± 0,006 ^c	2,541 ± 0,008 ^a
		Koren	0,411 ± 0,008 ^a	0,637 ± 0,001 ^c	14,001 ± 0,011 ^e
Standardi		BHA	0.131 ± 0.012 ^a	n.i.	1,216 ± 0,018 ^a
		BHT	0.140 ± 0.003 ^a	n.i.	n.i.
		Vit. C	0.030 ± 0.008 ^a	n.i.	n.i.
		Kvercetin hidtat	n.i.	2,749 ± 0,004 ^a	n.i.

n.i.- nije identifikovano

Uporednom analizom dobijenih rezultata, može se konstatovati da su testirani ekstrakti pokazali slabiju antioksidativnu aktivnost u odnosu na antioksidans BHA. Najjači antioksidans je etanolni ekstrakt nadzemnog dela *A. pancicii* (IC₅₀=2,453), koji je imao upola slabiji efekat od BHA (IC₅₀ =1,216 mg/mL) (**Tabela 21**). Najslabije dejstvo pokazao je vodeni ekstrakt korena *H.*

orphanidis. Vršni deo *F. macedonica* je imao bolji efekat od nadzemnog dela biljke, dok je kod ostalih vrsta nadzemni deo efektivniji od korena. Metanolni ekstrakti su najaktivniji, dok su vodeni ekstrakti ispitivanih vrsta najslabiji. Na prezentovanih rezultatima evidentno je da je *L. ochridanum* bila najpotentnija vrsta u sprečavanju izbeljivanja β -karotena. Sledili su ekstrakti nadzemnog dela *A. pancicii*, *F. macedonica*, pa ekstrakti nadzemnog dela *E. sibthorpiana*. Najslabije aktivnosti i najveće IC₅₀ koncentracije imali su vodeni ekstrakti *H. orphanidis* i *A. pancicii* (14,001 mg/mL, odnosno 17,460 mg/mL) (**Tabela 21**).

4.2.1.4. Uporedna diskusija rezultata ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti

Za fenolna jedinjenja kojima obiluju mnogi začini i aromatične biljke iz familije Apiaceae potvrđena je značajna antioksidativna aktivnost, kao i za biljke čiji su oni sastavni deo (Chevolleau i sar., 1992; Stojković i sar., 2009). Kao što je predstavljeno u **Tabeli 21**, u ovoj doktorskoj disertaciji korišćena su tri testa za *in vitro* ispitivanje antioksidativne aktivnosti odabranih biljaka. Najčešće se primenjuje nekoliko različitih testova za određivanje jačine antioksidativnog dejstva, jer se reaktivnost uzoraka razlikuje u odnosu na različite oksidanse i pri različitim eksperimentalnim uslovima (pH, polarnost sredine, emulgatori itd.). Pribegava se primeni više različitih metoda i zbog toga što nijedan test ne odražava u potpunosti kompleksnost dejstva i interakcije antioksidanasa sa slobodnim radikalima. Sve ovo vodi ka tome da rezultati dobijeni pri različitim eksperimentalnim uslovima nisu nužno poredbeni (Orčić, 2010). U okviru ove teze prvi put su predstavljeni rezultati antioksidativnog potencijala vrste *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Na osnovu zabeleženih vrednosti prikazanih u **Tabelama 20.** i **21.** može se zaključiti da je vršni deo vrste *F. macedonica* imao veći antiradikalni kapacitet u odnosu na nadzemni deo biljke, što je bilo u korelaciji sa većim izmerenim koncentracijama fenola i flavonoida u ekstraktima dobijenim iz vršnog dela biljke. Sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost ostalih ispitivanih vrsta bili su veći u nadzemnom delu nego u korenu biljaka. Takođe se može uočiti da su svi ekstrakti bili bogatiji fenolima nego flavonoidima. Kada ne postoji jaka korelacija između sadržaja antioksidativne aktivnosti i fenolnih jedinjenja, to se može objasniti time da se sveukupna slika antioksidativne aktivnosti uzorka može smatrati rezultatom kombinovanog dejstva velikog broja drugih jedinjenja sem fenolnih, kao što su

organske kiseline, peptidi itd. (Gallardo i sar., 2006). Prethodno je pomoću DPPH metode u radu Cecchini i sar. (2010) ispitana sposobnost etarskih ulja plodova i korena *F. campestris* da neutrališu slobodne radikale. Autori tog rada pokazali su da su oba testirana etarska ulja ispoljila antiradikalisku aktivnost sa IC_{50} vrednostima od 0,022 i 0,025 mL/mL, redom (intenzitet aktivnosti je bio izražen preko efekta Troloksa, gde je 1 mg Troloksa bio ekvivalentan 1,69-1,92 mL etarskog ulja). U ovoj disertaciji nisu testirana etarska ulja vrste *Ferulago*, ali se poređenjem aktivnosti ekstrakata *F. macedonica* sa rezultatima tog istraživanja može videti da su testirani ekstrakti posedovali niži antioksidativni kapacitet (**Tabela 21**) u odnosu na etarska ulja *F. campestris*. Tri najzastupljenija kumarina izolovana iz korena vrste *F. campestris* - grandivitin, agasilin i egelinol benzoat i egelinol kao produkt hidrolize egelinol benzoata, ispoljili su dozno zavisnu antioksidativnu aktivnost u radu Basile i sar. (2009). Pokazalo se da su *in vitro* antioksidativni efekti izolovanih kumarina u koncentracijama od 0,01 do 100 μ g/mL bili sledeći: egelinol je bio najaktivniji, a sledili su agasilin i grandivitin, dok je egelinol benzoat bio neaktivan (Basile i sar., 2009). Iz **Tabele 21**. se može videti da su ekstrakti *F. macedonica* takođe ispoljili dozno zavisnu antioksidativnu aktivnost, ali pri znatno višim koncentracijama u odnosu na čista izolovana kumarinska jedinjenja te studije. U ovom istraživanju je prema DPPH rezultatima, etarsko ulje nadzemnog dela *E. sibthorpiana* pokazalo jaku antioksidativnu aktivnost, što je potkrepilo ranije publikovane rezultate za etarsko ulje *E. tenuifolia* subsp. *sibthorpiana*, gde su autori Gokbulut i sar. (2013) pomoću Folin-Ciocalteu reagensa odredili sličan ukupan sadržaj fenola i pomoću DPPH i ABTS testova detektovali koncentraciono zavisnu antioksidativnu aktivnost. Za ekstrakte ove vrste (mešavina 90% metanola, 9% vode i 1% sirćetne kiseline) je prethodno potvrđena umerena antioksidativna aktivnost (Ozcan i Al Juhaimi, 2011), kao i za metanolne ekstrakte *E. sibthorpiana* u ovom radu, iako umerena do slaba. Etarsko ulje iranske vrste *E. platyloba* pokazalo je izuzetnu antioksidativnu aktivnost ($IC_{50}=49,7$ μ g/mL) (Saei-Dehkordi i sar., 2012). Kao što se može videti na osnovu analize u DPPH testu (**Tabela 21**), ulje *E. sibthorpiana* pokazalo je dvostruko bolju efikasnost u neutralisanju DPPH radikala ($IC_{50}=0,02$ mg/mL) od ulja *E. platyloba*. Etarsko ulje i ekstrakti *E. platyloba* su u drugoj studiji bili podvrgnuti testiranju antiradikalskog kapaciteta, gde je u DPPH testu najjaču aktivnost imala polarna sub-frakcija metanolnog ekstrakta, dok je etarsko ulje pokazalo jako dejstvo u svim korišćenim testovima (Gholivand i sar., 2011). Antioksidativnu efikasnost ekstrakata *E. platyloba* potvrdili su i autori Sharafati-chalesshtori i sar. (2012), koji su zabeležili

jače antioksidativno dejstvo vodenog ekstrakta u odnosu na etanolni ekstrakt, ali su oba uzorka bila slabija u odnosu na standard BHT. U ovom istraživanju, antioksidansi BHA i BHT su takođe pokazali jaču aktivnost u odnosu na vodeni i etanolni ekstrakt *E. sibthorpiana*, pri čemu je ukupan sadržaj fenola bio najveći u vodenom, a flavonoida u etanolnom ekstraktu, što je bilo u skladu sa intenzitetima antioksidativnih aktivnosti.

Dobijeni rezultati za ekstrakte vrste *L. ochridanum*, prvi put predstavljeni u ovoj disertaciji, ukazuju na njihovu jaku antioksidativnu aktivnost u poređenju sa aktivnišću antioksidanasa BHA i BHT, nasuprot etarskom ulju ove vrste koje je pokazalo najslabiji kapacitet. Prethodno su objavljeni rezultati za antioksidativni potencijal etarskih ulja i ekstrakata vrsta roda *Laserpitium* kao što su *L. latifolium* (Vereskovski i sar., 1992), *L. zernyi* (Popović, 2013), *L. carduchorum* (Dastan i sar., 2016) itd. Ekstrakti *L. ochridanum* u ovom radu su pokazali koncentraciono zavisnu sposobnost neutralizacije DPPH radikala, kao i prethodno testirani ekstrakti *L. zernyi* u istraživanju Popović (2013). Antioksidativna aktivnost ekstrakta cvasti *L. zernyi* bila je veća od aktivnosti ekstrakta herbe *L. zernyi*, ali i dalje znatno niža od aktivnosti kvercetina. Jači antioksidativni efekat metanolnog ekstrakta cvasti *L. zernyi* objašnjen je većim sadržajem ukupnih fenolnih jedinjenja u odnosu na ekstrakte herbe *L. zernyi*. Tako je i u ovom radu najveća količina ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja vrste *L. ochridanum* detektovana u etanolnom uzorku koji je pokazao i najbolju efikasnost u DPPH i β -karoten/linolna kiselina testu (**Tabela 21**). Najjača antioksidativna aktivnost etil acetatne frakcije metanolnog ekstrakta *L. carduchorum* (IC_{50} =31,1, 38,8 i 55,7 μ g/mL za uzorke u fazi cvetanja, zrelih plodova i u vegetativnoj fazi, redom) dokazana je pomoću nekoliko različitih metoda, dok je najslabiju imala hloroformska frakcija uzoraka (IC_{50} vrednosti su bile > 200 μ g/mL) (Dastan i sar., 2016), što je u poređenju sa rezultatima iz **Tabele 21**. bila skoro upola slabija aktivnost od ekstrakata *L. ochridanum*. U ovom radu, kao i u toj studijim, uočena je snažna linearna korelacija između ukupnog sadržaja fenola i antioksidativne aktivnosti. Najveći ukupni sadržaj fenola imala je etil acetatna frakcija metanolnog ekstrakta (85,3, 61,8 i 40,1 mg GAE/g SE uzorka u fazi cvetanja, zrelih plodova i u vegetativnoj fazi, redom), dok je najniža bila registrovana u hloroformskoj frakciji. Uporedna analiza te studije pokazala je maksimalnu aktivnost ekstrakata u redukciji slobodnih radikala u fazi cvetanja biljke. Takođe, jačina antioksidativne aktivnosti u različitim fazama razvića biljke je bila u skladu sa rastućom koncentracijom fenola. Široko je

prihvaćeno da je antioksidativna aktivnost biljnih ekstrakata u korelaciji sa sadržajem fenolnih jedinjenja (Elmastaş i sar., 2006).

Medicinski značaj brojnih predstavnika roda *Heracleum* potvrđen je u studijama o brojnim biološkim dejstvima, između ostalog i o antioksidativnoj aktivnosti. U ovoj tezi dat je prvi izveštaj o antioksidativnom potencijalu etarskog ulja i ekstrakata vrste *H. orphanidis*. Na osnovu rezultata prezentovanih u **Tabeli 21**, može se konstatovati da je etarsko ulje *H. orphanidis* posedovalo umerenu antioksidativnu aktivnost, što je u saglasnosti sa rezultatima istraživanja autora Firuzi i sar. (2010) koji su pokazali da etarska ulja nadzemnog dela vrsta *H. pastinacifolium*, *H. transcaucasicum*, *H. rechingeri* i *H. persicum* imaju umereno antioksidativno dejstvo. Slični rezultati dobijeni su za etarsko ulje korena vrste *H. transcaucasicum* (Torbat i sar., 2014), gde je kao i za etarsko ulje *H. orphanidis*, izmerena znatno niža antioksidativna aktivnost u odnosu na standardne referentne antioksidanse - askorbinsku kiselinu i BHA. U poređenju sa navedenim kontrolama, etarsko ulje vrste *H. sprengelianum* pokazalo je jači efekat (Karupussamy i Muthuraja, 2011). Analiza antioksidativnog dejstva *H. orphanidis* pokazala je da metanolni ekstrakt korena ne ispoljava značajnu aktivnost u neutralisanju slobodnih radikala (**Tabela 21**), dok je prema rezultatima koje su objavili Dash i sar. (2005, 2006), metanolni ekstrakt korena *H. nepalense* *in vitro* i *in vivo* posedovao jaku antioksidativnu aktivnost kao i stimulativnu aktivnost na funkcionisanje imunog sistema. Približne jačine u neutralisanju slobodnih radikala konstatovani su za metanolne ekstrakte nadzemnog dela vrste *H. orphanidis* u ovom istraživanju i vrste *H. persicum* koji je prethodno testiran od strane Çoruh i sar. (2007). Svi ekstrakti *H. orphanidis* pokazali su umerenu do slabu aktivnost u sprečavanju lipidne peroksidacije u poređenju sa korišćenim standardima, a slične rezultate u β -karoten/linolna kiselina testu demonstrirali su petrol-etarski i metanolni ekstrakt *H. platytaenium* (Dincel i sar. 2013).

Do danas je opisana antioksidativna aktivnost pojedinih vrsta roda *Angelica*, ali nema liretarurnih podataka o antioksidativnom dejstvu vrste *A. pancicii*. U nekim publikacijama prikazana je antioksidativna sposobnost izolovanih fitokonstituenata nekih predstavnika ovog roda. U skladu sa prezentovanim rezultatima za *A. pancicii* u **Tabeli 21**, u prethodnim istraživanjima su različita etarska ulja i ekstrakti vrsta roda *Angelica* pokazali antioksidativnu aktivnost u koncentraciono zavisnom maniru. Tako su etarsko ulje korena *A. koreana* i njegove glavne komponente pokazali značajno dozno zavisnu aktivnost u DPPH testu. Slično rezultatima

dobijenim za *A. panicii* u ovom istraživanju, detektovane antioksidativne aktivnosti uzoraka *A. koreana* bile su slabije u odnosu na sintetičke antioksidanse (Roh i Shin, 2014). Vodeni ekstrakti *A. panicii* pri testiranim koncentracijama nisu pokazali značajan efekat na slobodne radikale, što je prethodno dobijeno i za vodeni ekstrakt korena *A. sinensis* u radu Wu i sar. (2004). Međutim, *in vivo* se pokazalo da polisaharidi ove vrste poseduju značajan hepatoprotektivni efekat, sprečavajući intoksikaciju jetre zahvaljujući njihovom jakom antioksidativnom potencijalu (Yu i sar., 2013). Ka i sar. (2005) okarakterisali su ekstrakt korena *A. tenuissima* i njegove izolovane komponente kao slabo aktivne antioksidanse. Kao što je već spomenuto, ekstrakti korena *A. panicii* demonstrirali su slabo antiradikalsko dejstvo, ali su uzorci nadzemnog dela ove vrste ispoljili potencijal umerene jačine. Kumarini aviprin, oksipeucedanin i oksipeucedanin hidrat, koji su izolovani iz korena *A. panicii* u ovom radu, prethodno su se pokazali kao efikasni antioksidativni i citotoksični agensi (Zahri i sar., 2012). Njihov antioksidativni potencijal je okarakterisan kao umeren (Naseri i sar., 2013; Razavi i sar., 2008; Razavi i sar., 2010), slično aktivnosti metanolnih ekstrakata *A. panicii*. Međutim, Amponsah i sar. (2013), kao i Farooq i sar. (2014) su antioksidativnu aktivnost oksipeucedanin hidrata okarakterisali kao značajnu.

4.2.2. Antimikrobna aktivnost ekstrakata i etarskih ulja

Za determinaciju antimikrobnog potencijala metanolnih, etanolnih i vodenih ekstrakata odabranih vrsta kao i etarskih ulja vrsta *F. macedonica*, *E. sibthirpiana*, *L. ochridanum* i *H. orphanidis* korišćena je metoda mikrodilucije sa ciljem da se utvrdi njihovo inhibično dejstvo na 16 patogenih mikroorganizama, od toga 4 gram pozitivne, 4 gram negativne bakterije i 8 mikrogljiva. U **Tabelama 22-31.** predstavljene su determinisane MIK, MBK i MFK koncentracije. Prema priloženim rezultatima se pokazalo da su testirani uzorci imali koncentraciono zavisnu aktivnost na rast odabranih sojeva mikroorganizama.

4.2.2.1. Usporedna analiza rezultata antibakterijske aktivnosti

Ferulago macedonica: Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskih ulja *F. macedonica* data je u **Tabeli 22.** gde su prikazane minimalne inhibitorne i baktericidne koncentracije (mg/mL). Prema dobijenim rezultatima u ovom radu, ekstrakti *F. macedonica* pokazali su slabiji

efekat u odnosu na korišćeni antibiotik streptomycin, dok su oba etarska ulja ispoljila umereno do jako antibakterijsko dejstvo. MIK vrednosti umerene inhibitorne aktivnosti ekstrakata kretale su se između 4,00-16,00 mg/mL, dok su MBK vrednosti u opsegu od 8,00-28,00 mg/mL. Rezultati su implicirali da su Gram pozitivne bakterije osetljivije na dejstvo svih uzoraka *F. macedonica* (MBK=98,00-17,00 mg/mL), nego Gram negativne bakterije (MBK=9,00-28,00 mg/mL). Poređenjem jačine dejstva ekstrakata vršnog dela (MBK=8,00-17,00 mg/mL) i nadzemnog dela (MBK=8,00-28,00 mg/mL), nije zapažena značajna razlika u jačini njihove aktivnosti (sa izuzetkom metanolnog ekstrakta nadzemnog dela koji je pokazao slabu aktivnost na *E. coli* (MBK=28,00 mg/mL)). Najbolji antimikrobni potencijal imao je metanolni ekstrakt vršnog dela (MBK=9,00-13,00 mg/mL), dok su oba vodena ekstrakta pokazala najslabiji efekat na testirane bakterije (MBK=8,00-17,00 mg/mL). Na osnovu prikazanih rezultata u **Tabeli 22**, može se zaključiti da su najosetljiviji sojevi *B. cereus* i *L. monocytogenes*. Suprotno tome, najotpornije bakterije su *E. coli* i *P. aeruginosa*. Etarska ulja *F. macedonica* su pokazala nešto slabije antibakterijsko dejstvo od aktivnosti pozitivne kontrole (MBK=2,27-9,05 i 2,42-4,82 mg/mL za etarska ulja vršnog i nadzemnog dela, redom; MBK=0,37-1,24 mg/mL za streptomycin). Dok su bakterije *B. cereus* i *L. monocytogenes* jednako osetljive na aktivnost oba etarska ulja, *P. aeruginosa* i *S. typhimurium* su podložnije dejstvu etarskog ulja nadzemnog dela biljke.

Echinophora sibthorpiana: Rezultati prikazani u **Tabeli 23**. ukazuju da su ekstrakti *E. sibthorpiana* imali umerenu antibakterijsku aktivnost na patogene bakterije koje su korišćene u ovom radu. Dobijene MIK vrednosti kretale su se u opsegu od 0,45-12,00 mg/mL, dok su MBK vrednosti između 0,75 mg/mL i 21,00 mg/mL. *M. flavus* i *E. coli* su najrezistentniji sojevi u ovom testu. Najjači antibakterijski efekat pokazali su etanolni ekstrakt korena (MBK=0,50-9,00 mg/mL) i metanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke (MBK=4,50-6,00 mg/mL). Najslabija antibakterijska aktivnost je detektovana za vodene ekstrakte ove vrste. Poredeći te rezultate sa aktivnošću antibiotika streptomicina, svi ekstrakti su pokazali umerenu do slabu efikasnost u kontroli rasta bakterija (**Tabela 23**). Etarsko ulje nadzemnog dela *E. sibthorpiana* pokazalo je jače bakteriostatičko i baktericidno dejstvo u odnosu na ekstrakte ove vrste (MBK=1,35-16,17 mg/mL), ali slabije u odnosu na pozitivnu kontrolu (**Tabela 23**). *B. cereus* i *S. typhimurium* su najosetljivije bakterije na dejstvo uzoraka ove vrste (MBK=1,35 mg/mL, za obe bakterije). Kao najotpornije su se pokazale *L. monocytogenes*, *M. flavus* i *E. coli*.

Laserpitium ochridanum: Ekstrakti *L. ochridanum* imali su umerenu do slabu antibakterijsku aktivnost na sve testirane sojeve (**Tabela 24**). Sa baktericidnim koncentracijama od 1,00 do 5,00 mg/mL, etanolni ekstrakt nadzemnog dela ove vrste je najefikasniji testirani uzorak, dok je vodeni ekstrakt pokazao najniži baktericidni potencijal (MBK=11,00-14,00 mg/mL). Najosetljivije bakterije na dejstvo *L. ochridanum* su *B. cereus* i *S. aureus*, dok su najotpornije *E. coli* i *M. flavus* (MBK=5,00-> 14,00 mg/mL). Rezultati dobijeni mikrodilucionom tehnikom ukazali su na približan nivo osetljivosti Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija na aktivnost ekstrakata *L. ochridanum*. Takođe se može zaključiti da je streptomycin u nižim koncentracijama ispoljio jače baktericidne efekte na bakterije (0,37-1,24 mg/mL) u odnosu na testirane ekstrakte (**Tabela 24**).

Heracleum orphanidis: Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskog ulja vrste *H. orphanidis* predstavljena je u **Tabeli 25**. Na osnovu dobijenih baktericidnih koncentracija se može konstatovati da su testirani uzorci ove vrste bolje inhibirali rast Gram pozitivnih sojeva. Etarsko ulje *H. orphanidis* je najefikasnije u redukciji rasta bakterija, slično antibiotiku streptomycinu (MBK=0,26-1,05 i 0,37-1,24 mg/mL za etarsko ulje, odnosno streptomycin). Ekstrakti su ukupni antibakterijski efekat pokazali u opsegu od 0,20 do > 14,00 mg/mL (MIK=0,20-10,00 mg/mL; MBK=0,30-> 14,00 mg/mL). Vodeni ekstrakti nadzemnog dela i korena posedovali su najnižu antibakterijsku aktivnost, dok su u inhibiciji rasta korišćenih patogeni, aktivnosti metanolnih i etanolnih ekstrakata približne jačine. Najosetljivije bakterije su *B. cereus* i *S. typhimurium*, a *M. flavus*, *L. monocytogenes* i *E. coli* su pokazale najveću otpornost na dejstvo ove vrste (**Tabela 25**).

Angelica pancicii: U **Tabeli 26** dat je prikaz rezultata antibakterijskog potencijala dobijenih ispitivanjem ekstrakata *A. pancicii*. Na osnovu prikazanih podataka uočeno je da metanolni i etanolni ekstrakti ispoljavaju sličnu antibakterijsku aktivnost, veću u odnosu na vodene ekstrakte. Među njima, najpotentniji su etanolni (MBK=0,40-4,00 mg/mL) i metanolni ekstrakt korena (MBK=0,25-5,00 mg/mL), čije su aktivnosti u rangu sa potencijalom streptomicina, sem za bakteriju *L. monocytogenes*. Nasuprot, najniži efekat na bakterije zabeležen je za vodeni ekstrakt nadzemnog dela (MBK=10,00->14,00 mg/mL). Dobijeni

rezultati ukazali su na veći antibakterijski efekat ekstrakata dobijenih iz korena. Značajna razlika u osetljivosti Gram pozitivnih i Gram negativnih sojeva nije uočena. U ovom testu izdvojile su se *B. cereus* i *S. aureus* kao najosteljivije bakterije i *L. monocytogenes*, *M. flavus* i *P. aeruginosa* kao najotporniji sojevi. U poređenju sa streptomycinom, testirani uzorci imali su jaku do umerenu aktivnost na testirane patogene.

Uporednom analizom dobijenih rezultata za antibakterijsku aktivnost odabranih vrsta, uočeno je da su testirani uzorci ispoljili umerenu aktivnost u poređenju sa sintetičkim antibiotikom streptomycinom, pri čemu su etarska ulja pokazala jaču aktivnost u poređenju sa ispitivanim ekstraktima (**Tabele 22-26**). Prema dobijenim vrednostima za bakteriostatičku i baktericidnu aktivnost, može se konstatovati da su među ekstraktima najjači metanolni i etanolni ekstrakt korena *A. pancicii*, a da su vodeni uzorci svih vrsta pokazali najniži potencijal u inhibiciji rasta bakterija. Kao etarsko ulje sa najintenzivnijim dejstvom izdvojilo se ulje vrste *H. orphanidis* (**Tabela 25**), zatim etarsko ulje nadzemnog dela *F. macedonica*, dok je najslabiju aktivnost pokazalo ulje *E. sibthirpiana*. Ekstrakti i ulja dobijeni iz vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica* pokazali su sličan efekat na bakterije, dok je kod drugih vrsta antibakterijska aktivnost korena bila neznatno jačeg inteziteta od dejstva nadzemnog dela biljaka. Poređenjem osetljivosti bakterija na dejstvo testiranih uzoraka, zapaženo je da su Gram pozitivni sojevi bili osetljiviji od Gram negativnih. *B. cereus* i *S. aureus* su najosetljivije bakterije, dok su *M. flavus* i *P. aeruginosa* *L. monocytigenes* i *E. coli* najrezistentniji patogeni. Metanolni i etanolni ekstrakti korena *A. pancicii* i etarsko ulje *H. orphanidis* pokazali su bolju efikasnost od pozitivne kontrole streptomicina (**Tabele 25 i 26**).

Tabela 22. Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskih ulja *F. macedonica* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Bakterije/			Gram (+)				Gram (-)			
<i>F. macedonica</i>	Ei/EU/Standard		<i>B. cereus</i>	<i>M. flavus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>En. cloacae</i>	<i>S. tiphymurium</i>
ME	Vršni deo	MIK	5,00 ± 0,07 ^a	8,00 ± 0,06 ^c	4,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,10 ^c	8,00 ± 0,11 ^c	8,00 ± 0,03 ^c	6,00 ± 0,03 ^b	8,00 ± 0,02 ^c
		MBK	9,00 ± 0,02 ^a	13,00 ± 0,03 ^c	9,00 ± 0,04 ^a	10,00 ± 0,05 ^a	11,00 ± 0,09 ^b	13,00 ± 0,11 ^c	11,00 ± 0,05 ^b	10,00 ± 0,09 ^a
	Nadzemni deo	MIK	6,00 ± 0,07 ^a	8,00 ± 0,08 ^b	5,00 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,03 ^a	8,00 ± 0,04 ^b	16,00 ± 0,05 ^c	4,00 ± 0,06 ^a	8,00 ± 0,08 ^b
		MBK	10,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,00 ^a	9,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,09 ^a	28,00 ± 0,06 ^b	10,00 ± 0,07 ^a	9,00 ± 0,08 ^a
EE	Vršni deo	MIK	10,00 ± 0,05 ^b	12,00 ± 0,07 ^c	8,00 ± 0,01 ^a	10,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,02 ^b	10,00 ± 0,05 ^b	10,00 ± 0,09 ^b	10,00 ± 0,02 ^b
		MBK	12,00 ± 0,02 ^b	14,00 ± 0,08 ^c	10,00 ± 0,12 ^a	11,00 ± 0,04 ^a	14,00 ± 0,03 ^c	12,00 ± 0,03 ^b	14,00 ± 0,08 ^c	11,00 ± 0,18 ^a
	Nadzemni deo	MIK	8,00 ± 0,08 ^a	12,00 ± 0,04 ^c	8,00 ± 0,09 ^a	9,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,03 ^b	8,00 ± 0,04 ^a	10,00 ± 0,11 ^b	10,00 ± 0,04 ^b
		MBK	12,00 ± 0,07 ^b	14,00 ± 0,06 ^c	9,00 ± 0,10 ^a	12,00 ± 0,01 ^b	14,00 ± 0,01 ^c	10,00 ± 0,07 ^a	14,00 ± 0,11 ^c	12,00 ± 0,10 ^b
VE	Vršni deo	MIK	4,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,07 ^c	8,00 ± 0,04 ^b	8,00 ± 0,02 ^b	8,00 ± 0,01 ^b	12,00 ± 0,09 ^c	8,00 ± 0,09 ^b	8,00 ± 0,06 ^b
		MBK	8,00 ± 0,08 ^a	17,00 ± 0,07 ^c	12,00 ± 0,09 ^b	12,00 ± 0,04 ^b	12,00 ± 0,04 ^b	14,00 ± 0,04 ^b	12,00 ± 0,05 ^b	12,00 ± 0,05 ^b
	Nadzemni deo	MIK	8,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,00 ^b	8,00 ± 0,05 ^a	8,00 ± 0,05 ^a	8,00 ± 0,01 ^a	12,00 ± 0,02 ^b	8,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,02 ^a
		MBK	10,00 ± 0,08 ^a	13,00 ± 0,06 ^b	12,00 ± 0,01 ^b	10,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,02 ^b	13,00 ± 0,01 ^b	12,00 ± 0,11 ^b	12,00 ± 0,06 ^b
EU	Vršni deo	MIK	1,11 ± 0,02 ^b	n.i.	0,60 ± 0,04 ^a	n.i.	1,11 ± 0,03 ^b	n.i.	n.i.	2,26 ± 0,05 ^c
		MBK	2,27 ± 0,00 ^a	n.i.	4,50 ± 0,05 ^b	n.i.	4,50 ± 0,03 ^b	n.i.	n.i.	9,06 ± 0,02 ^c
	Nadzemni deo	MIK	1,25 ± 0,08 ^b	n.i.	0,60 ± 0,05 ^a	n.i.	0,60 ± 0,00 ^a	n.i.	n.i.	2,43 ± 0,07 ^c
		MBK	2,42 ± 0,03 ^a	n.i.	4,82 ± 0,01 ^b	n.i.	2,42 ± 0,09 ^a	n.i.	n.i.	4,82 ± 0,03 ^b
Streptomicin	MIK	0,09 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,01 ^c	0,17 ± 0,00 ^b	
	MBK	0,37 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,07 ^b	0,49 ± 0,03 ^a	

*Navedena slova predstvaljaju značajne razlike (p < 0,05)

Tabela 23. Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskog ulja *E. sibthorpiana* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Bakterije/			Gram (+)					Gram (-)		
<i>E. sibthorpiana</i>	Ei/EU/Standard		<i>B. cereus</i>	<i>M. flavus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>En. cloacae</i>	<i>S. tiphymurium</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	3,00 ± 0,08 ^a	4,50 ± 0,00 ^b	3,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,06 ^a	4,50 ± 0,02 ^b	4,50 ± 0,11 ^b	3,00 ± 0,07 ^a	3,00 ± 0,03 ^a
		MBK	4,50 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,02 ^b	4,50 ± 0,01 ^a	4,50 ± 0,03 ^a	6,00 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,09 ^b	4,50 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,03 ^b
	Koren	MIK	4,50 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,03 ^c	1,50 ± 0,01 ^a	4,50 ± 0,06 ^b	4,50 ± 0,03 ^b	4,50 ± 0,04 ^b	6,00 ± 0,00 ^c	4,50 ± 0,00 ^b
		MBK	9,00 ± 0,05 ^b	9,00 ± 0,01 ^b	3,00 ± 0,05 ^a	9,00 ± 0,00 ^b	9,00 ± 0,00 ^b	9,00 ± 0,02 ^b	9,00 ± 0,03 ^b	9,00 ± 0,06 ^b
EE	Nadzemni deo	MIK	3,00 ± 0,00 ^b	1,50 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,02 ^c	4,50 ± 0,01 ^{bc}	3,00 ± 0,07 ^b	3,00 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,10 ^c	3,00 ± 0,04 ^b
		MBK	4,50 ± 0,04 ^a	6,00 ± 0,03 ^b	9,00 ± 0,10 ^c	9,00 ± 0,04 ^c	6,00 ± 0,05 ^b	7,50 ± 0,02 ^{bc}	7,50 ± 0,06 ^{bc}	7,50 ± 0,02 ^{bc}
	Koren	MIK	0,45 ± 0,01 ^a	1,50 ± 0,04 ^b	4,50 ± 0,09 ^d	3,00 ± 0,03 ^c	1,50 ± 0,06 ^b	1,50 ± 0,01 ^b	1,50 ± 0,06 ^b	1,50 ± 0,07 ^b
		MBK	0,75 ± 0,02 ^a	3,00 ± 0,07 ^b	9,00 ± 0,04 ^d	6,00 ± 0,02 ^c	3,00 ± 0,02 ^b	3,00 ± 0,05 ^b	3,00 ± 0,04 ^b	3,00 ± 0,05 ^b
VE	Nadzemni deo	MIK	12,00 ± 0,03 ^b	12,00 ± 0,00 ^b	12,00 ± 0,05 ^b	12,00 ± 0,07 ^b	12,00 ± 0,00 ^b	8,00 ± 0,07 ^a	12,00 ± 0,02 ^b	12,00 ± 0,02 ^b
		MBK	15,00 ± 0,00 ^a	18,00 ± 0,01 ^b	15,00 ± 0,02 ^a	15,00 ± 0,04 ^a	15,00 ± 0,01 ^a	21,00 ± 0,09 ^c	15,00 ± 0,07 ^a	15,00 ± 0,01 ^a
	Koren	MIK	12,00 ± 0,04 ^a	12,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,05 ^a	12,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,11 ^a	12,00 ± 0,11 ^a	12,00 ± 0,00 ^a
		MBK	15,00 ± 0,02 ^a	21,00 ± 0,04 ^c	15,00 ± 0,06 ^a	18,00 ± 0,12 ^b	15,00 ± 0,03 ^a	19,50 ± 0,05 ^b	15,00 ± 0,05 ^a	15,00 ± 0,09 ^a
EU	Nadzemni deo	MIK	0,67 ± 0,03 ^a	1,35 ± 0,08 ^b	2,70 ± 0,03 ^c	0,67 ± 0,06 ^a	0,34 ± 0,00 ^a	1,35 ± 0,07 ^b	0,67 ± 0,05 ^a	0,34 ± 0,07 ^a
		MBK	1,35 ± 0,03 ^a	10,78 ± 0,10 ^b	16,17 ± 0,02 ^c	2,70 ± 0,03 ^a	2,70 ± 0,03 ^a	10,78 ± 0,03 ^b	2,70 ± 0,02 ^a	1,35 ± 0,02 ^a
Streptomycin		MIK	0,09 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,01 ^c	0,17 ± 0,00 ^b
		MBK	0,37 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,07 ^b	0,49 ± 0,03 ^a

*Navedena slova predstvaljaju značajne razlike (p < 0,05)

Tabela 24. Antibakterijska aktivnost ekstrakata *L. ochridanum* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Bakterije/			Gram (+)					Gram (-)		
<i>L. ochridanum</i> Ei/Standard			<i>B. cereus</i>	<i>M. flavus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>En. cloacae</i>	<i>S. tiphymurium</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	0,40 ± 0,06 ^a	4,00 ± 0,02 ^c	3,00 ± 0,04 ^c	0,40 ± 0,10 ^a	3,00 ± 0,00 ^c	4,00 ± 0,01 ^c	2,00 ± 0,01 ^b	2,00 ± 0,00 ^b
		MBK	1,00 ± 0,03 ^a	5,00 ± 0,02 ^b	4,00 ± 0,07 ^b	1,00 ± 0,07 ^b	4,00 ± 0,05 ^b	8,00 ± 0,03 ^c	4,00 ± 0,01 ^b	3,00 ± 0,05 ^b
EE	Nadzemni deo	MIK	0,50 ± 0,02 ^a	2,00 ± 0,01 ^{ab}	0,50 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,05 ^a	0,50 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,02 ^b	1,00 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,06 ^a
		MBK	1,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 0,00 ^b	2,00 ± 0,10 ^a	2,00 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,01 ^a	5,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,02 ^b	2,00 ± 0,05 ^a
VE	Nadzemni deo	MIK	6,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,01 ^b	5,00 ± 0,02 ^a	5,00 ± 0,07 ^a	5,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	5,00 ± 0,10 ^a	10,00 ± 0,01 ^b
		MBK	11,00 ± 0,01 ^a	>14,00 ± 0,03 ^b	11,00 ± 0,01 ^a	11,00 ± 0,00 ^a	11,00 ± 0,02 ^a	>14,00 ± 0,01 ^b	11,00 ± 0,01 ^a	>14,00 ± 0,02 ^b
Streptomicin		MIK	0,09 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,01 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,04 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,01 ^c
		MBK	0,37 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,07 ^b

*Navedena slova predstavljaju značajne razlike ($p < 0,05$)

Tabela 25. Antibakterijska aktivnost ekstrakata i etarskog ulja *H. orphanidis* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Bakterije/			Gram (+)					Gram (-)		
<i>H. orphanidis</i>	Ei/EU/Standard		<i>B. cereus</i>	<i>M. flavus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>En. cloacae</i>	<i>S. tiphymurium</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	0,40 ± 0,01 ^a	2,00 ± 0,06 ^b	1,00 ± 0,07 ^a	0,40 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,10 ^b	4,00 ± 0,01 ^c	2,00 ± 0,03 ^b	2,00 ± 0,00 ^b
		MBK	1,00 ± 0,07 ^a	4,00 ± 0,03 ^b	2,00 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,07 ^b	7,00 ± 0,10 ^c	4,00 ± 0,04 ^b	3,00 ± 0,00 ^b
	Koren	MIK	0,20 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,01 ^b	1,00 ± 0,00 ^b	0,50 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,04 ^b	0,50 ± 0,05 ^a	2,00 ± 0,03 ^c	1,00 ± 0,05 ^b
		MBK	0,50 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,01 ^a	4,00 ± 0,01 ^b	1,00 ± 0,01 ^a	4,00 ± 0,02 ^b	1,00 ± 0,01 ^a	6,00 ± 0,00 ^c	2,00 ± 0,04 ^a
EE	Nadzemni deo	MIK	0,20 ± 0,02 ^a	2,00 ± 0,07 ^b	1,00 ± 0,02 ^{ab}	1,00 ± 0,05 ^{ab}	1,00 ± 0,02 ^{ab}	4,00 ± 0,00 ^c	2,00 ± 0,01 ^b	0,50 ± 0,01 ^a
		MBK	0,30 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,03 ^c	2,00 ± 0,02 ^b	2,00 ± 0,01 ^b	3,00 ± 0,05 ^b	5,00 ± 0,03 ^c	3,00 ± 0,08 ^b	1,00 ± 0,08 ^a
	Koren	MIK	0,40 ± 0,07 ^a	2,00 ± 0,02 ^b	2,00 ± 0,09 ^b	0,30 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,01 ^b	0,40 ± 0,03 ^a	0,50 ± 0,01 ^a	0,50 ± 0,03 ^a
		MBK	0,50 ± 0,01 ^a	5,00 ± 0,07 ^b	8,00 ± 0,10 ^c	0,40 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,01 ^c	0,50 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,00 ^a
VE	Nadzemni deo	MIK	5,00 ± 0,09 ^a	10,00 ± 0,07 ^b	5,00 ± 0,05 ^a	10,00 ± 0,07 ^b	5,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,04 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,01 ^b
		MBK	>14,00 ± 0,05 ^c	>14,00 ± 0,04 ^c	14,00 ± 0,10 ^b	>14,00 ± 0,05 ^c	11,00 ± 0,04 ^a	13,00 ± 0,07 ^b	14,00 ± 0,05 ^b	>14,00 ± 0,08 ^c
	Koren	MIK	5,00 ± 0,03 ^a	10,00 ± 0,01 ^c	5,00 ± 0,02 ^a	5,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 0,07 ^a	8,00 ± 0,02 ^b	5,00 ± 0,02 ^a	5,00 ± 0,02 ^a
		MBK	9,00 ± 0,01 ^a	>14,00 ± 0,10 ^c	11,00 ± 0,01 ^b	7,00 ± 0,02 ^a	11,00 ± 0,02 ^b	9,00 ± 0,01 ^a	10,00 ± 0,01 ^b	10,00 ± 0,02 ^b
EU	Nadzemni deo	MIK	0,13 ± 0,03 ^a	0,26 ± 0,01 ^b	0,26 ± 0,00 ^b	0,13 ± 0,04 ^a	0,13 ± 0,03 ^a	0,26 ± 0,07 ^b	0,26 ± 0,02 ^b	0,13 ± 0,07 ^a
		MBK	0,26 ± 0,02 ^a	0,53 ± 0,00 ^b	1,05 ± 0,07 ^c	0,26 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,00 ^a	0,53 ± 0,05 ^b	1,05 ± 0,01 ^c	0,26 ± 0,03 ^a
Streptomycin		MIK	0,09 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,01 ^c	0,17 ± 0,00 ^b
		MBK	0,37 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,07 ^b	0,49 ± 0,03 ^a

*Navedena slova predstvaljaju značajne razlike (p < 0,05)

Tabela 26. Antibakterijska aktivnost ekstrakata *A. panicii* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Bakterije/			Gram (+)					Gram (-)		
<i>A. panicii</i> Ei/Standard			<i>B. cereus</i>	<i>M. flavus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>En. cloacae</i>	<i>S. tiphymurium</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	0,50 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,06 ^c	2,00 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,11 ^b	4,00 ± 0,02 ^c	1,00 ± 0,04 ^a	1,00 ± 0,01 ^a
		MBK	1,00 ± 0,03 ^a	7,00 ± 0,02 ^b	3,00 ± 0,02 ^a	2,00 ± 0,05 ^a	3,00 ± 0,06 ^a	8,00 ± 0,10 ^b	3,00 ± 0,02 ^a	3,00 ± 0,01 ^a
	Koren	MIK	0,20 ± 0,04 ^a	0,25 ± 0,03 ^a	1,00 ± 0,00 ^b	0,20 ± 0,02 ^a	1,00 ± 0,05 ^c	0,50 ± 0,06 ^b	0,25 ± 0,03 ^a	1,00 ± 0,05 ^c
		MBK	0,25 ± 0,03 ^a	0,50 ± 0,05 ^a	5,00 ± 0,01 ^b	0,25 ± 0,03 ^a	3,00 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,07 ^b
EE	Nadzemni deo	MIK	1,00 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,02 ^b	1,00 ± 0,02 ^a	2,00 ± 0,05 ^a	1,00 ± 0,03 ^a	4,00 ± 0,03 ^b	2,00 ± 0,01 ^a	2,00 ± 0,04 ^a
		MBK	2,00 ± 0,05 ^a	7,00 ± 0,01 ^c	3,00 ± 0,05 ^a	4,00 ± 0,07 ^b	3,00 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,03 ^c	3,00 ± 0,07 ^a	3,00 ± 0,08 ^a
	Koren	MIK	0,30 ± 0,03 ^a	0,40 ± 0,02 ^a	2,00 ± 0,07 ^b	0,20 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,03 ^b	0,30 ± 0,04 ^a	0,30 ± 0,07 ^a	0,30 ± 0,04 ^a
		MBK	0,40 ± 0,01 ^a	0,50 ± 0,07 ^a	4,00 ± 0,00 ^c	0,30 ± 0,01 ^a	2,00 ± 0,02 ^b	0,40 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,03 ^a	0,40 ± 0,00 ^a
VE	Nadzemni deo	MIK	5,00 ± 0,09 ^a	10,00 ± 0,03 ^b	5,00 ± 0,07 ^a	10,00 ± 0,08 ^b	10,00 ± 0,05 ^b	10,00 ± 0,06 ^b	10,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,03 ^b
		MBK	10,00 ± 0,05 ^a	>14,00 ± 0,02 ^b	11,00 ± 0,11 ^a	14,00 ± 0,05 ^b	11,00 ± 0,04 ^a	11,00 ± 0,08 ^a	>14,00 ± 0,05 ^b	>14,00 ± 0,02 ^b
	Koren	MIK	5,00 ± 0,09 ^b	10,00 ± 0,10 ^c	5,00 ± 0,01 ^b	5,00 ± 0,03 ^b	5,00 ± 0,07 ^a	10,00 ± 0,08 ^c	4,00 ± 0,07 ^b	9,00 ± 0,05 ^c
		MBK	6,00 ± 0,02 ^a	>14,00 ± 0,05 ^c	11,00 ± 0,05 ^b	7,00 ± 0,14 ^a	11,00 ± 0,05 ^b	>14,00 ± 0,06 ^c	5,00 ± 0,03 ^a	10,00 ± 0,01 ^b
Streptomycin		MIK	0,09 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,01 ^c	0,17 ± 0,00 ^b
		MBK	0,37 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,07 ^b	0,49 ± 0,03 ^a

*Navedena slova predstvaljaju značajne razlike (p < 0,05)

4.2.2.2. Uporedna analiza rezultata antifungalne aktivnosti

Ferulago macedonica: Iz dobijenih rezultata koji su prikazani u **Tabeli 27**, može se videti da su ekstrakti vrste *F. macedonica* posedovali umerenu do slabu antifungalnu aktivnost, dok su etarska ulja pokazala neznatno slabiju aktivnost u odnosu na mikotik flukonazol. Ekstrakti su ispoljili fungistatički efekat na micelijski rast u koncentracijama od 2,00 do 18,00 mg/mL, dok je fungicidna aktivnost ekstrakata detektovana u opsegu od 4,00 do 42,00 mg/mL. Među testiranim uzorcima, najefikasniji je metanolni ekstrakt vršnog dela biljke (MFK=4,00-18,00 mg/mL), dok je najslabiji vodeni ekstrakt vršnog dela (MFK=14,00-42,00 mg/mL). Rezultati ukazuju da su *P. ochrocloron* (MFK=4,00-17,00 mg/mL) i *T. viride* (MFK=4,00-19,00 mg/mL) najosetljivije testirane gljive. Među najotpornijim gljivama su *A. niger*, *A. ochraceus* i *P. funiculosum*. Prema podacima iz **Tabele 27**, nije uočena značajna razlika između potencijala vršnog i nadzemnog dela ove biljke. Antifungalna aktivnost testiranih ekstrakata je slabija u poređenju sa flukonazolom (2,00 mg/mL). Etarska ulja vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica* su imala jaku antifungalnu aktivnost, približno jednake efikasnosti. Nivo fungistatičke i fungicidne aktivnosti ovih etarskih ulja je malo slabiji u poređenju sa flukonazolom (MFK=2,22-4,82 mg/mL za etarska ulja vršnog i nadzemnog dela redom; MFK=0,03-1,5, mg/mL za flukonazol). Iz **Tabele 27**, može se videti da je mikrogljiva *A. fumigatus* osetljivija na dejstvo oba etarska ulja *F. macedonica* od *T. viride* i *P. funiculosum*.

Echinophora sibthorpiana: Na osnovu priloženih podataka iz **Tabele 28**, može se konstatovati da su ekstrakti ove vrste imali umeren do slab potencijal u suzbijanju rasta micelije testiranih gljiva. Uočeno je da su ekstrakti nadzemnog dela imali snažniju antifungalnu aktivnost u odnosu na ekstrakte korenova. Etanolni ekstrakti su pokazali jači antifungalni potencijal od metanolnih i vodenih ekstrakata. Etanolni ekstrakt nadzemnog dela *E. sibthorpiana* pokazao je najjače inhibitorno dejstvo na testirane mikromicete (MFK=2,50-17,50 mg/mL), dok je vodeni ekstrakt korena imao najniže inhibitorno dejstvo na rast gljiva (u opsegu od 17,50 do >54,00 mg/mL). Najotpornije gljive u ovom testu su *A. niger* i *A. ochraceus*, a najosetljivije *A. versicolor* i *T. viride*. Etarsko ulje *E. sibthorpiana* posedovalo je visok antifungalni kapacitet sa MFK vrednostima u intervalu od 0,34 mg/mL do 10,78 mg/mL, što je bila neznatno slabija

aktivnost u odnosu na dejstvo flukonazola. Na osnovu priloženih rezultata, ovo etarsko ulje pokazalo je najslabije inhibirotno dejstvo na *C. albicans* (**Tabela 28**).

Laserpitium ochridanum: Rezultati antifungalne aktivnosti vrste *L. ochridanum*, prikazani su u **Tabeli 29**. Etarsko ulje ove vrste ispoljilo je najjači antifungalni potencijal sa fungicidnim koncentracijama MFK=0,55-2,20 mg/mL, koje su bile u rangju sa efektivnim koncentracijama flukonazola (MFK=0,03-1,50 mg/mL). Minimalna inhibitorna aktivnost ekstrakata na testirane gljive je bila slabija u odnosu na etarsko ulje. Među ispitivanim ekstraktima, etanolni se izdvojio sa vrednostima za MFK od 5,00 mg/mL do 18,00 mg/mL, zatim metanolni i vodeni ekstrakt (MFK=12,00-18,00 mg/mL) (**Tabela 29**). Najotpornije mikromicete na dejstvo ove biljke su *A. niger* i *A. fumigatus*, a najosetljiviji sojevi su *A. versicolor*, *P. ochrochloron* i *P. funiculosum*. *A. versicolor* je osetljivija na antifungalno dejstvo etarskog ulja *L. ochridanum* (MFK=0,55 mg/mL), nego na dejstvo flukonazola (MFK=1,24 mg/mL).

Heracleum orphanidis: Antifungalna aktivnost ekstrakata vrste *H. orphanidis* predstavljena je u **Tabeli 30**. Na osnovu fungicidnih vrednosti se može videti da su ekstrakti ove vrste pokazali antifungalni potencijal u opsegu od 3,00->18,00 mg/mL. Vodeni ekstrakt je imao najnižu antifungalnu aktivnost (MFK=12,00->18,00 mg/mL). Dejstva metanolnih i vodenih ekstrakata korena su jača od aktivnosti uzoraka nadzemnog dela, dok je u slučaju etanolnih ekstrakata rezultat suprotan. Najbolji ekstrakt u inhibiciji rasta micelije testiranih patogenih gljiva je metanolni ekstrakt korena (MFK=3,00-14,00 mg/mL), ali je mikotik flukonazol pokazao znatno jači antifungalni potencijal (MFK=0,03-1,50 mg/mL). Najosetljivija gljiva na dejstvo ove biljke je *A. versicolor*, dok su *A. niger* i *C. albicans* najotpornije vrste (**Tabela 30**).

Angelica pancicii: Rezultati antifungalne aktivnosti *A. pancicii* prikazani su u **Tabeli 31**. Na osnovu uporednog pregleda dobijenih rezultata zapaža se da su ekstrakti pokazali slab do umeren jak antifungalni potencijal u poređenju sa standardom flukonazolom. Metanolni i etanolni ekstrakti su ispoljili slično inhibirotno dejstvo na rast gljiva, veće od potencijala vodenih ekstrakata. Najjači efekat imao je etanolni ekstrakt korena (MFK=8,00-12,00 mg/mL), suprotno vodenom ekstraktu nadzemnog dela sa najslabijom aktivnošću (MFK=14,00->18,00 mg/mL). Poređenjem antifungalne aktivnosti ekstrakata nadzemnog dela i korena, registrovano je

neznatno jače dejstvo uzoraka korena biljke. Najosteljiviji soj je *P. funiculosum* (MFK=8,00-18,00 mg/mL), pa *C. albicans* i *T. viride*. Kao najotpornije vrste mikromiceta pokazale su se *A. ochraceus* i *A. niger* (MFK=12,00->18,00 mg/mL za obe gljive).

Uporedni pregled rezultata prikazanih u **Tabelama 27-31**. ukazuje na umerenu do slabu antifungalnu aktivnost testiranih ekstrakata odabranih vrsta. Testirana etarska ulja ispoljila su umerenu do jaku fungistatičku i fungicidnu aktivnost. Od testiranih ekstrakata najjači efekat na mikromicete imali su etanolni, pa metanolni ekstrakti, dok su vodeni najslabiji. Kao najjači antifungalni agensi pokazali su se metanolni ekstrakt korena *H. orphanidis*, etanolni ekstrakt korena *A. pancicii* i metanolni ekstrakt vršnog dela *F. macedonica*. Najosetljivije gljive korišćene u ovom radu su *P. ochrocloron*, *A. versicolor* i *T. viride*. Najotporniji patogeni su *A. niger* i *A. ochraceus*. Ekstrakti korenova vrsta *H. orphanidis* i *A. pancicii* su efektivniji u odnosu na nadzemne delove tih biljaka. Među testiranim etarskim uljima, ulje *L. ochridanum* se pokazao kao najpotentnije (**Tabela 29**), dok je najmanji potencijal posedovalo etarsko ulje vrste *E. sibthorpiana* (**Tabela 28**). Etarsko ulje *L. ochridanum* je jedino ispoljilo aktivnost u nivou sintetičkog mikotika flukonazola koji je korišćen kao pozitivna kontrola.

Tabela 27. Antifungalna aktivnost ekstrakata i etarskih ulja *F. macedonica* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Gljive/ <i>F. macedonica</i> Ei/Standard			<i>C. albicans</i>	<i>T. viride</i>	<i>P. ochrochloron</i>	<i>P. funiculosum</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
ME	Vršni deo	MIK	2,00 ± 0,07 ^a	2,00 ± 0,08 ^a	2,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,02 ^b	8,00 ± 0,05 ^b	4,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,08 ^b	12,00 ± 0,06 ^c
		MFK	6,00 ± 0,08 ^a	6,00 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,07 ^a	12,00 ± 0,08 ^b	12,00 ± 0,09 ^b	8,00 ± 0,01 ^b	14,00 ± 0,04 ^c	18,00 ± 0,03 ^c
	Nadzemni deo	MIK	8,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,04 ^a	2,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,09 ^c	8,00 ± 0,05 ^b	8,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,06 ^c	10,00 ± 0,08 ^c
		MFK	16,00 ± 0,03 ^c	6,00 ± 0,15 ^a	4,00 ± 0,01 ^a	14,00 ± 0,12 ^b	12,00 ± 0,09 ^b	12,00 ± 0,10 ^b	14,00 ± 0,01 ^b	18,00 ± 0,08 ^c
EE	Vršni deo	MIK	10,00 ± 0,02 ^b	2,00 ± 0,08 ^a	6,00 ± 0,01 ^b	12,00 ± 0,07 ^c	6,00 ± 0,02 ^b	6,00 ± 0,00 ^b	6,00 ± 0,05 ^b	14,00 ± 0,02 ^c
		MFK	12,00 ± 0,00 ^b	4,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,02 ^a	16,00 ± 0,05 ^c	10,00 ± 0,08 ^b	10,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,02 ^b	19,00 ± 0,04 ^c
	Nadzemni deo	MIK	4,00 ± 0,09 ^a	6,00 ± 0,04 ^a	3,00 ± 0,08 ^a	12,00 ± 0,09 ^b	8,00 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,05 ^a	6,00 ± 0,10 ^a	12,00 ± 0,03 ^b
		MFK	6,00 ± 0,07 ^a	8,00 ± 0,09 ^a	4,00 ± 0,10 ^a	16,00 ± 0,01 ^c	10,00 ± 0,03 ^b	10,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,05 ^b	19,00 ± 0,15 ^c
VE	Vršni deo	MIK	12,00 ± 0,05 ^a	16,00 ± 0,07 ^b	12,00 ± 0,02 ^a	16,00 ± 0,02 ^b	12,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,03 ^a	16,00 ± 0,07 ^b	16,00 ± 0,06 ^b
		MFK	16,00 ± 0,04 ^a	17,00 ± 0,07 ^a	14,00 ± 0,09 ^a	19,00 ± 0,03 ^a	14,00 ± 0,04 ^a	16,00 ± 0,07 ^a	36,00 ± 0,02 ^b	>42,00 ± 0,09 ^b
	Nadzemni deo	MIK	6,00 ± 0,01 ^a	12,00 ± 0,00 ^b	2,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,03 ^b	12,00 ± 0,07 ^b	4,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,07 ^b	18,00 ± 0,02 ^c
		MFK	10,00 ± 0,02 ^a	16,00 ± 0,06 ^a	4,00 ± 0,02 ^a	16,00 ± 0,12 ^a	14,00 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,01 ^a	16,00 ± 0,04 ^a	42,00 ± 0,04 ^b
EU	Vršni deo	MIK	n.i.	0,64 ± 0,04 ^b	n.i.	1,28 ± 0,03 ^c	0,32 ± 0,03 ^a	n.i.	n.i.	n.i.
		MFK	n.i.	4,54 ± 0,07 ^b	n.i.	4,54 ± 0,00 ^b	2,22 ± 0,02 ^a	n.i.	n.i.	n.i.
	Nadzemni deo	MIK	n.i.	1,24 ± 0,03 ^a	n.i.	1,24 ± 0,05 ^a	2,48 ± 0,05 ^b	n.i.	n.i.	n.i.
		MFK	n.i.	4,82 ± 0,03 ^b	n.i.	4,82 ± 0,07 ^b	2,41 ± 0,09 ^a	n.i.	n.i.	n.i.
Flukonazol	MIK	0,02 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,01 ^c	1,00 ± 0,07 ^c	0,25 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,02 ^b	0,13 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,00 ^b	0,25 ± 0,03 ^a	
	MFK	0,03 ± 0,00 ^a	1,50 ± 0,03 ^d	1,50 ± 0,03 ^d	0,50 ± 0,05 ^b	1,00 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,05 ^c	1,00 ± 0,01 ^c	

*Navedena slova predstvaljaju značaj razlike (p < 0,05), n.i. nije identifikovano

Tabela 28. Antifungalna aktivnost ekstrakata i etarskog ulja *E. sibthorpiana* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Gljive/ <i>E. sibthorpiana</i> Ei/Standard			<i>C. albicans</i>	<i>T. viride</i>	<i>P. ochrochloron</i>	<i>P. funiculosum</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	5,00 ± 0,01 ^a	7,50 ± 0,03 ^a	12,50 ± 0,08 ^b	7,50 ± 0,08 ^a	10,00 ± 0,05 ^{ab}	7,50 ± 0,01 ^a	15,00 ± 0,03 ^b	15,00 ± 0,10 ^b
		MFK	7,50 ± 0,00 ^a	15,00 ± 0,06 ^b	17,50 ± 0,04 ^b	15,00 ± 0,09 ^b	15,00 ± 0,09 ^b	15,00 ± 0,04 ^b	17,50 ± 0,12 ^b	20,00 ± 0,03 ^b
	Koren	MIK	5,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,01 ^b	15,00 ± 0,01 ^c	15,00 ± 0,12 ^c	17,50 ± 0,08 ^d	15,00 ± 0,07 ^c	15,00 ± 0,05 ^c	17,50 ± 0,15 ^d
		MFK	7,50 ± 0,07 ^a	12,50 ± 0,07 ^a	20,00 ± 0,05 ^b	20,00 ± 0,03 ^b	20,00 ± 0,02 ^b	20,00 ± 0,00 ^b	20,00 ± 0,01 ^b	22,50 ± 0,11 ^b
EE	Nadzemni deo	MIK	10,00 ± 0,04 ^b	2,50 ± 0,07 ^a	5,00 ± 0,08 ^a	5,00 ± 0,01 ^a	5,00 ± 0,05 ^a	1,25 ± 0,07 ^a	2,50 ± 0,01 ^a	15,00 ± 0,07 ^c
		MFK	12,50 ± 0,06 ^c	5,00 ± 0,09 ^a	7,50 ± 0,02 ^b	7,50 ± 0,01 ^b	7,50 ± 0,08 ^b	2,50 ± 0,05 ^a	7,50 ± 0,01 ^b	17,50 ± 0,09 ^d
	Koren	MIK	15,00 ± 0,07 ^c	4,50 ± 0,00 ^a	7,50 ± 0,06 ^b	7,50 ± 0,09 ^b	10,00 ± 0,09 ^b	5,00 ± 0,06 ^a	5,00 ± 0,00 ^a	15,00 ± 0,03 ^c
		MFK	21,00 ± 0,01 ^c	9,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,06 ^a	15,00 ± 0,10 ^b	10,00 ± 0,03 ^a	10,00 ± 0,10 ^a	21,00 ± 0,02 ^c
VE	Nadzemni deo	MIK	15,00 ± 0,02 ^a	12,50 ± 0,00 ^a	12,50 ± 0,08 ^a	17,50 ± 0,00 ^b	20,00 ± 0,07 ^c	15,00 ± 0,08 ^a	17,50 ± 0,04 ^b	20,00 ± 0,07 ^c
		MFK	17,50 ± 0,07 ^a	15,00 ± 0,01 ^a	17,50 ± 0,07 ^a	20,00 ± 0,05 ^b	23,75 ± 0,08 ^c	17,50 ± 0,09 ^a	20,00 ± 0,02 ^b	23,75 ± 0,08 ^c
	Koren	MIK	17,50 ± 0,08 ^a	20,00 ± 0,03 ^a	17,50 ± 0,02 ^a	15,00 ± 0,07 ^a	17,50 ± 0,02 ^a	15,00 ± 0,05 ^a	40,00 ± 0,03 ^b	40,00 ± 0,15 ^b
		MFK	20,00 ± 0,04 ^a	21,25 ± 0,03 ^a	20,00 ± 0,03 ^a	20,00 ± 0,06 ^a	20,00 ± 0,05 ^a	17,50 ± 0,02 ^a	>54,00 ± 0,03 ^b	>54,00 ± 0,11 ^b
EU	Nadzemni deo	MIK	2,70 ± 0,02 ^c	0,34 ± 0,05 ^a	0,17 ± 0,02 ^a	0,17 ± 0,05 ^a	0,34 ± 0,08 ^a	0,17 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,07 ^a	1,35 ± 0,02 ^b
		MFK	10,78 ± 0,01 ^b	0,67 ± 0,02 ^a	0,34 ± 0,02 ^a	0,67 ± 0,00 ^a	1,35 ± 0,07 ^a	0,34 ± 0,08 ^a	1,35 ± 0,07 ^a	2,70 ± 0,01 ^a
Flukonazol		MIK	0,02 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,01 ^c	1,00 ± 0,07 ^c	0,25 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,02 ^b	0,13 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,00 ^b	0,25 ± 0,03 ^a
		MFK	0,03 ± 0,00 ^a	1,50 ± 0,03 ^d	1,50 ± 0,03 ^d	0,50 ± 0,05 ^b	1,00 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,05 ^c	1,00 ± 0,01 ^c

*Navedena slova predstvaljaju značaj razlike (p < 0,05)

Tabela 29. Antifungalna aktivnost ekstrakata i etarskog ulja *L. ochridanum* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD).

Gljive/ <i>l. ochridanum</i> Ei/Standard			<i>C. albicans</i>	<i>T. viride</i>	<i>P. ochrochloron</i>	<i>P. funiculosum</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	8,00 ± 0,02 ^c	3,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,03 ^b	3,00 ± 0,01 ^a	6,00 ± 0,00 ^b	6,00 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,02 ^b	8,00 ± 0,01 ^c
		MFK	12,00 ± 0,01 ^b	8,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,05 ^a	14,00 ± 0,01 ^b	8,00 ± 0,20 ^a	19,00 ± 0,03 ^c	19,00 ± 0,05 ^c
EE	Nadzemni deo	MIK	6,00 ± 0,10 ^c	5,00 ± 0,05 ^b	4,00 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,10 ^c	4,00 ± 0,01 ^a	4,00 ± 0,03 ^a	6,00 ± 0,00 ^c
		MFK	12,00 ± 0,05 ^b	14,00 ± 0,07 ^b	5,00 ± 0,05 ^a	5,00 ± 0,00 ^a	14,00 ± 0,20 ^b	5,00 ± 0,03 ^a	5,00 ± 0,02 ^a	18,00 ± 0,05 ^c
VE	Nadzemni deo	MIK	12,00 ± 0,01 ^b	10,00 ± 0,01 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	12,00 ± 0,07 ^b	12,00 ± 0,10 ^b	10,00 ± 0,20 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	12,00 ± 0,01 ^b
		MFK	14,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,02 ^a	14,00 ± 0,00 ^a	14,00 ± 0,02 ^a	14,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,07 ^a	14,00 ± 0,05 ^a	18,00 ± 0,10 ^b
EU	Nadzemni deo	MIK	0,55 ± 0,00 ^b	0,55 ± 0,07 ^b	0,28 ± 0,05 ^a	0,55 ± 0,05 ^b	0,55 ± 0,10 ^b	0,28 ± 0,02 ^a	0,55 ± 0,10 ^b	1,10 ± 0,07 ^c
		MFK	1,10 ± 0,02 ^b	1,10 ± 0,03 ^b	1,10 ± 0,01 ^b	2,20 ± 0,01 ^c	2,20 ± 0,07 ^c	0,55 ± 0,00 ^a	1,10 ± 0,02 ^b	2,20 ± 0,00 ^c
Flukonazol		MIK	0,09 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,01 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,04 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,01 ^c
		MFK	0,37 ± 0,02 ^a	0,37 ± 0,00 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,49 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,02 ^a	1,24 ± 0,00 ^c	0,49 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,07 ^b

*Navedena slova predstvaljaju značajne razlike (p < 0,05)

Tabela 30. Antifungalna aktivnost ekstrakata *H. orphanidis* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Gljive/ <i>H. orphanidis</i> Ei/Standard			<i>C. albicans</i>	<i>T. viride</i>	<i>P. ochrochloron</i>	<i>P. funiculosum</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	6,00 ± 0,02 ^b	6,00 ± 0,07 ^b	6,00 ± 0,02 ^b	6,00 ± 0,00 ^b	6,00 ± 0,01 ^b	3,00 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,02 ^b	6,00 ± 0,05 ^b
		MFK	14,00 ± 0,03 ^b	8,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,03 ^a	8,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,02 ^a	18,00 ± 0,05 ^c
	Koren	MIK	4,00 ± 0,03 ^c	3,00 ± 0,02 ^b	2,00 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,01 ^a	3,00 ± 0,05 ^b	2,00 ± 0,01 ^a	2,00 ± 0,01 ^a	3,00 ± 0,07 ^b
		MFK	14,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 0,05 ^a	4,00 ± 0,01 ^a	4,00 ± 0,01 ^a	3,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,00 ^a	14,00 ± 0,03 ^b
EE	Nadzemni deo	MIK	6,00 ± 0,05 ^c	4,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,00 ^b	2,00 ± 0,05 ^a	4,00 ± 0,00 ^b	2,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,03 ^b
		MFK	8,00 ± 0,02 ^c	6,00 ± 0,00 ^b	5,00 ± 0,01 ^a	5,00 ± 0,07 ^a	5,00 ± 0,10 ^a	4,00 ± 0,05 ^a	6,00 ± 0,07 ^b	18,00 ± 0,10 ^d
	Koren	MIK	8,00 ± 0,00 ^b	8,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,00 ^a	8,00 ± 0,01 ^b	4,00 ± 0,02 ^a	4,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,02 ^b	10,00 ± 0,01 ^c
		MFK	14,00 ± 0,02 ^c	10,00 ± 0,01 ^b	8,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	8,00 ± 0,01 ^a	8,00 ± 0,03 ^a	10,00 ± 0,05 ^b	14,00 ± 0,02 ^c
VE	Nadzemni deo	MIK	10,00 ± 0,01 ^a	10,00 ± 0,07 ^a	12,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,03 ^a	10,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,03 ^b	10,00 ± 0,05 ^a	14,00 ± 0,03 ^c
		MFK	18,00 ± 0,08 ^b	14,00 ± 0,03 ^a	16,00 ± 0,03 ^b	12,00 ± 0,01 ^a	18,00 ± 0,05 ^b	16,00 ± 0,10 ^b	16,00 ± 0,02 ^b	>18,00 ± 0,07 ^c
	Koren	MIK	10,00 ± 0,01 ^b	12,00 ± 0,03 ^c	10,00 ± 0,02 ^b	10,00 ± 0,02 ^b	10,00 ± 0,03 ^b	5,00 ± 0,01 ^a	10,00 ± 0,02 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
		MFK	12,00 ± 0,01 ^a	14,00 ± 0,07 ^b	12,00 ± 0,03 ^a	12,00 ± 0,10 ^a	14,00 ± 0,02 ^b	10,00 ± 0,03 ^a	14,00 ± 0,00 ^b	>18,00 ± 0,01 ^c
Flukonazol	MIK	0,02 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,01 ^c	1,00 ± 0,07 ^c	0,25 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,02 ^b	0,13 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,00 ^b	0,25 ± 0,03 ^a	
	MFK	0,03 ± 0,00 ^a	1,50 ± 0,03 ^d	1,50 ± 0,03 ^d	0,50 ± 0,05 ^b	1,00 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,05 ^c	1,00 ± 0,01 ^c	

*Navedena slova predstavljaju značajne razlike (p < 0,05)

Tabela 31. Antifungalna aktivnost ekstrakata *A. panicii* određena mikrodilucionom metodom u mg/mL (SV ± SD)

Gljive/ <i>A. panicii</i> Ei/Standard			<i>C. albicans</i>	<i>T. viride</i>	<i>P. ochrochloron</i>	<i>P. funiculosum</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
ME	Nadzemni deo	MIK	3,00 ± 0,03 ^a	6,00 ± 0,04 ^b	6,00 ± 0,02 ^b	6,00 ± 0,05 ^b	6,00 ± 0,08 ^b	6,00 ± 0,05 ^b	8,00 ± 0,07 ^c	8,00 ± 0,06 ^c
		MFK	8,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,08 ^a	12,00 ± 0,07 ^a	8,00 ± 0,08 ^a	16,00 ± 0,04 ^b	16,00 ± 0,02 ^b
	Koren	MIK	4,00 ± 0,07 ^a	6,00 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,03 ^b	6,00 ± 0,02 ^b	3,00 ± 0,05 ^a	6,00 ± 0,04 ^b	6,00 ± 0,05 ^b	6,00 ± 0,07 ^b
		MFK	14,00 ± 0,04 ^c	10,00 ± 0,08 ^b	10,00 ± 0,05 ^b	10,00 ± 0,08 ^b	4,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,08 ^b	12,00 ± 0,05 ^b	12,00 ± 0,01 ^b
EE	Nadzemni deo	MIK	8,00 ± 0,06 ^b	6,00 ± 0,06 ^a	8,00 ± 0,10 ^b	6,00 ± 0,06 ^a	8,00 ± 0,01 ^b	8,00 ± 0,04 ^b	6,00 ± 0,02 ^a	8,00 ± 0,03 ^b
		MFK	16,00 ± 0,04 ^b	10,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,11 ^a	8,00 ± 0,07 ^a	12,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,05 ^a	16,00 ± 0,07 ^b	16,00 ± 0,05 ^b
	Koren	MIK	6,00 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,11 ^a	8,00 ± 0,08 ^b	6,00 ± 0,04 ^a	8,00 ± 0,00 ^b	6,00 ± 0,03 ^a	6,00 ± 0,03 ^a	6,00 ± 0,01 ^a
		MFK	8,00 ± 0,08 ^a	10,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,03 ^b	8,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,11 ^b	8,00 ± 0,02 ^a	12,00 ± 0,07 ^c	12,00 ± 0,03 ^c
VE	Nadzemni deo	MIK	14,00 ± 0,05 ^c	12,00 ± 0,12 ^b	14,00 ± 0,05 ^c	10,00 ± 0,07 ^a	10,00 ± 0,13 ^a	10,00 ± 0,07 ^a	10,00 ± 0,08 ^a	14,00 ± 0,03 ^c
		MFK	18,00 ± 0,08 ^b	14,00 ± 0,05 ^a	>18,00 ± 0,08 ^b	>18,00 ± 0,05 ^b	>18,00 ± 0,05 ^b	>18,00 ± 0,10 ^b	>18,00 ± 0,09 ^b	>18,00 ± 0,07 ^b
	Koren	MIK	14,00 ± 0,01 ^c	12,00 ± 0,07 ^b	10,00 ± 0,05 ^a	10,00 ± 0,03 ^a	10,00 ± 0,02 ^a	10,00 ± 0,05 ^a	14,00 ± 0,02 ^c	10,00 ± 0,02 ^a
		MFK	16,00 ± 0,03 ^a	16,00 ± 0,08 ^a	18,00 ± 0,09 ^b	16,00 ± 0,10 ^a	18,00 ± 0,08 ^b	18,00 ± 0,03 ^b	>18,00 ± 0,06 ^b	>18,00 ± 0,11 ^b
Flukonazol	MIK	0,02 ± 0,01 ^a	1,00 ± 0,01 ^c	1,00 ± 0,07 ^c	0,25 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,02 ^b	0,13 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,00 ^b	0,25 ± 0,03 ^a	
	MFK	0,03 ± 0,00 ^a	1,50 ± 0,03 ^d	1,50 ± 0,03 ^d	0,50 ± 0,05 ^b	1,00 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,05 ^c	1,00 ± 0,01 ^c	

*Navedena slova predstavljaju značajne razlike (p < 0,05)

4.2.2.3. Uporedna diskusija rezultata antimikrobne aktivnosti

Etarska ulja i biljni ekstrakti kao prirodni, bezbedni i efektivni lekovi zauzimaju posebno mesto u pronalaženju i izučavanju novih potencijalnih antimikrobnih agenasa kao alternative u terapiji infektivnih oboljenja (Upadhyay i sar., 2014). Na osnovu dobijenih podataka u ovoj doktorskoj disertaciji o antimikrobnom potencijalu odabranih vrsta, može se zaključiti da su testirani uzorci pokazali jaču antibakterijsku od antifungalne aktivnosti. Pošto su u ovom radu prvi put objavljeni rezultati antimikrobne aktivnosti vrste *F. macedonica*, ne postoje literaturni podaci sa kojima bi se mogli porediti dobijeni rezultati. Antimikrobni potencijal etarskih ulja drugih vrsta roda *Ferulago* se dosta razlikovao među ispitanim vrstama. Tako je u studiji Taran i sar. (2010), antibakterijski efekat etarskih ulja nadzemnog dela i semena *F. angulata* subsp. *carduchorum* bio najintenzivniji na Gram pozitivne bakterije *S. aureus* i *L. monocytogenes* i Gram negativnu bakteriju *E. coli*, a naši rezultati se poklapaju sa tim literturnim podacima jer je *E. coli* jedna od najotpornijih bakterija na aktivnost ekstrakata *F. macedonica* (**Tabela 22**). Etarsko ulje nadzemnog dela ove biljke je bilo aktivnije od etarskog ulja semena, dok je u ovom istraživanju etarsko ulje vršnog dela neznatno jače od ulja nadzemnog dela *F. macedonica*. Etarsko ulje korena *F. campestris* pokazalo je značajno bolji antibakterijski efekat u odnosu na etarsko ulje plodova te vrste, pri čemu je pokazalo izuzetnu antikandidijaznu aktivnost na *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. glabrata* (Cecchini i sar., 2010). Etarsko ulje cvetova iste vrste je bilo efikasno u inhibiciji bakterija *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* i *E. coli*, a pokazalo je umerenu aktivnost na *Streptococcus mutans* i na *C. albicans*, ali ne i na *Staphylococcus aureus* (Maggi i sar., 2009). Ovi rezultati su potkrepili tradicionalnu primenu *F. campestris* kod ginekoloških problema i opravdali upotrebu etarskog ulja ove vrste kao anti-*Candida* agenasa kod kliničkih izolata koji su otporni na različite sintetičke antibiotike (Ríos i Recio, 2005). U ovom radu su ekstrakti *F. macedonica* ispoljili umereno do slabo dejstvo na bakterije *S. aureus* i *E. coli*, dok je aktivnost ove vrste na *C. albicans* okarakterisana kao slaba (**Tabela 22**). Kumarini egelinol i agasilin, izolovani iz korena *F. campestris*, su pokazali značajnu antibakterijsku aktivnost pri koncentracijama od 16 i 125 µg/mL, dok su ekstrakti *F. macedonica* u ovom radu ispoljili aktivnost iste bakterije pri znatno višim koncentracijama (**Tabele 22-26**). Naročito su ATCC sojevi *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*, *Enterobacter cloacae* i *E. earogenes* bili osetljivi na dejstvo oba kumarina (MIK=16,00 i 32,00

µg/mL za egelinol i agasilin, redom) (Basile i sar., 2009), dok su ekstrakti *F. macedonica* pokazali najbolje dejstvo na *S. aureus*, a najslabije na *E. cloacae*, ali pri mnogo većim koncentracijama. Grupa autora je objavila da je etarsko ulje nadzemnog dela *F. bernardii* pokazalo slab antimikrobni potencijal, ostvarujući inhibitorni efekat samo na *B. subtilis* i *S. aureus*, dok aktivnost na *P. aeruginosa* nije registrovana (Khalighi-Sigaroodi i sar., 2005), slično ekstraktima *F. macedonica* koji su ispoljili bolji efekat na *B. cereus* i *S. aureus* i slabiji na *P. aeruginosa*. Rezultati prezentovani za oba testirana ulja *F. macedonica* ukazuju da su posedovala jako antibakterijsko dejstvo, što se može povezati sa velikom zastupljenošću α -pinena za koji je publikovano da je jedan od najefektivnijih antimikrobnih agenasa koji se pojavljuju u etarskim uljima (Hammer i sar., 2003; Raman i sar., 1995). Obe vrste i *F. bernardii* i *F. macedonica* pokazale su slabo inhibiciju rasta sojeva *C. albicans* i *A. niger* (Khalighi-Sigaroodi i sar., 2005). Suprotno tome, etarsko ulje plodova *F. galbanifera* ispoljilo je jako antimikrobnu aktivnost na *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans* sa MIK vrednostima u opsegu od 62,50-125,00 µg/mL, što je u poređenju sa dejstvom etarskih ulja vršnog i nadzemnog dela *F. macedonica* bila bolja aktivnost (Demirci i sar., 2000).

Do sada je publikovano više radova o antimikrobnoj aktivnosti vrsta roda *Echinophora* (Avijgan i sar., 2006; Eadie, 2004; Entezari i sar., 2009; Glamočlija i sar., 2011; Ozcan i Al Juhaimi, 2011; Saei-Dehkordi i sar., 2012, Sharafati-chalesshtori i sar., 2012). Tako je mikrodilucionom metodom za etarsko ulje *E. tenuifolia* bilo utvrđeno jako antibakterijsko dejstvo na *B. cereus* i *Staphylococcus spp.* (Gokbulut i sar., 2013), što je bilo u saglasnosti sa rezultatima dobijenim za etarsko ulje *E. sibthorpiana* (**Tabela 23**). Pored toga, u drugoj studiji su ekstrakti vrste *E. tenuifolia* u disk difuzionoj metodi pokazali najbolji antifungalni potencijal na rast micelija *Aspergillus alternate*, *A. niger* i *A. parasiticus* koje su bile osetljivije na veće koncentracije testiranih uzorka (Ozcan i Al Juhaimi, 2011). Vrste roda *Aspergillus* su u ovom istraživanju među najotpornijim gljivama, gde je mikromiceta *A. niger* najrezistentnija na dejstvo testiranih ekstrakata. Pokazalo se da je etarsko ulje nadzemnog dela *E. platyloba* bilo efikasno u suzbijanju rasta Gram pozitivnih bakterija *L. monocytogenes*, *S. aureus* i kvasaca *Rhodotorula mucilaginosa* i *R. rubra*, dok je etarsko ulje nadzemnog dela *E. spinosa* pokazalo najbolju aktivnost protiv Gram negativnih bakterija *E. coli*, *P. aeruginosa* i gljive *T. viride* (Glamočlija i sar., 2011; Saei-Dehkordi i sar., 2012). Etarsko ulje nadzemnog dela *E. sibthorpiana* je efikasno u suzbijanju patogena *S. aureus*, *P. aeruginosa* kao i *T. viride* gde je pokazalo bolju aktivnost od

flukonazola (**Tabele 23 i 28**). Bakterije *L. monocytogenes* i *E. coli* su najmanje osetljive na dejstvo ekstrakata i etarskog ulja *E. sibthorpiana* u ovom radu. Avijgan i sar. (2006) su proučavajući antifungalni potencijal etanolnog ekstrakta *E. platyloba* na rast *C. albicans*, dobili MIK vrednosti veće od 2,00 mg/mL. Takođe je objavljeno i jako bakteriostatičko i baktericidno dejstvo etanolnog ekstrakta ove vrste na *Alcaligenes faecalis*, kao i vodenog ekstrakta na *L. monocytogenes* (Sharafati-chalesshtori i sar., 2012), dok je metanolni ekstrakt ispoljio inhibiciju rasta bakterija *S. aureus* i *P. aeruginosa* (Entezari i sar., 2009). Iz priloženih vrednosti u **Tabeli 28**. se može videti da su etanolni ekstrakti *E. sibthorpiana* delovali na vrstu *C. albicans* u koncentracijama od 12,50 i 21,00 mg/mL za nadzemni deo, odnosno koren. Antibakterijska efikasnost ekstrakata *E. sibthorpiana* u ovoj analizi smanjuje se sledećom redom: *S. aureus* > *P. aeruginosa* > *L. monocytogenes*. Kao i u slučaju antioksidativne aktivnosti, koren biljke je imao manji opseg antimikrobne aktivnosti u odnosu na nadzemni deo, što se možda može povezati sa većom ukupnom koncentracijom fenola i flavonoida u tom delu biljke.

Antimikrobni potencijali vrsta *L. garganicum*, *L. zernyi*, *L. latifolium* i *L. ochridanum* su prethodno bili istraženi od strane više autora (Petrović i sar., 2009; Popović i sar., 2015b; Stanković i sar., 2016; Tirillini i sar., 2009). Prema literaturnim podacima, hloroformski ekstrakt podzemnih organa *L. ochridanum* ispoljio je antimikrobnu aktivnost protiv nekih mikroorganizama izazivača kvarenja hrane (Popović i sar., 2015b). U poređenju sa dobijenim rezultatima za iste vrste mikroorganizama, metanolni i etanolni ekstrakti nadzemnog dela *L. ochridanum* u ovom radu imali su jači antimikrobni potencijal (**Tabele 24 i 29**). Etarska ulja podzemnih organa, nadzemnog dela i plodova *L. ochridanum* su najjači efekat pokazala na sojeve *C. albicans* ATCC 24433 i ATCC 10259 (Popović, 2013). Etarsko ulje nadzemnog dela *L. ochridanum* u antifungalnoj analizi ovog rada imalo je jaku inhibitornu aktivnost na vrstu roda *Candida* pri koncentraciji od 1,10 mg/mL, dok su ekstrakti ispoljili efekat u znatno višim količinama (12,00-14,00 mg/mL) (**Tabela 29**). Sem toga, etarska ulja podzemnih organa *L. ochridanum* i *L. zernyi* imala su baktericidni efekat na *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* i *Micrococcus luteus* (Popović, 2013). Ova etarska ulja kao i ulje *L. ochridanum* u našem radu (**Tabela 11**), poseduju visok sadržaj α -pinena za koji je poznato da poseduje jako antibakterijsko svojstvo (Kamatou i Viljoen, 2010). Takođe, metanolni (1,00 mg/mL) i etanolni (2,00 mg/mL) ekstrakti *L. ochridanum* su u ovom radu ispoljili jako dejstvo na *S. aureus*, dok je *M. flavus* otporan i u koncentracijama od 14,00 mg/mL (za vodeni ekstrakt).

Pokazalo se da etarska ulja vrste *L. carduchorum* u različitim fenofazama (vegetativna faza, faza cvetanja i plodonošenja), koja su imala umerenu do jaku inhibitornu aktivnost, nisu delovala na bakteriju *P. aeruginosa* (Dastan i sar., 2016). U istoj studiji je bakterija *B. cereus* bila najosetljiviji mikroorganizam sa MIK vrednostima od 7,50 mg/mL za sve uzorke etarskih ulja (Dastan i sar., 2016). U ovom radu su metanolni i etanolni ekstrakti *L. ochridanum* inhibirali rast *B. cereus* u koncentraciji od 1 mg/mL, dok su svi ekstrakti pokazali aktivnost na Gram negativni bacil *P. aeruginosa*, gde je etanolni ekstrakt delovao u koncentraciji od 2,00 mg/mL (**Tabela 24**). Pokazano je da je jako antimikrobno dejstvo etarskog ulja biljaka u fazi sazrevanja plodova povezano sa visokim sadržajem α -pinena (Silva i sar., 2012; Vuuren i Viljoen, 2007). Sa druge strane, ekstrakti *L. carduchorum* pokazali su umerenu do jaku aktivnost na *B. subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* i *E. coli*, a najjaču aktivnost su imali ekstrakti izolovani iz biljke u fazi cvetanja (Dastan i sar., 2016). Naši rezultati potvrđuju da su ekstrakti *L. ochridanum* ispoljili dobro dejstvo na vrste rodova *Bacillus* i *Staphylococcus*, kao i na bakteriju *E. coli* koja se inače pokazala kao jedna od najrezistentnijih bakterija u ovom radu. Ona nije bila osetljiva na testirane ekstrakte ni pri maksimalnoj korišćenoj koncentraciji ekstrakata od 14,00 mg/mL. Etarska ulja *L. latifolium*, *L. garganicum* i *L. zernyi* su pokazala umereni antimikrobni efekat, dok je antifungalni efekat etarskog ulja *L. ochridanum* u ovoj disertaciji bio neznatno slabiji od dejstva mikotika flukonazola. Ulje je ispoljilo jak inhibitorni efekat na *C. albicans* (MIK=0,55 mg/mL), dok su ekstrakti *L. ochridanum* pokazali dejstvo na *S. aureus* pri inhibitornim koncentracijama od 6,00-12,00 mg/mL (**Tabele 24 i 29**). Sva testirana etarska ulja *L. carduchorum* su imala aktivnost na odabrane vrste mikroorganizama u koncentracijama od 10,00 do 15,00 mg/mL, pa se može zaključiti da je vrsta *L. ochridanum* posedovala jači antimikrobni potencijal od *L. carduchorum* (Dastan i sar., 2016). Rezultati su pokazali da je etarsko ulje *L. ochridanum* efikasnije sprečavalo rast *A. niger* kao najrezistentnijeg mikroorganizma ove studije, od etarskog ulja *L. garganicum* (Tirillini i sar., 2009).

Prema dostupnim literaturnim podacima, publikovano je više radova o antimikrobnim svojstvima vrsta roda *Heracleum* (Asgarpanah i sar., 2012; Dash i sar., 2005; Ergene i sar., 2006; Firuzi i sar., 2009; Habibi i sar., 2010; Işcan i sar., 2004; Kaur i sar., 2006; Kousha i Ringø, 2015). Međutim, nema podataka o prethodnim istraživanjima endemične vrste *H. orphanidis*. U radovima je dokumentovan jak antimikrobni potencijal *H. persicum*, tradicionalno korišćene vrste u Iranu (Asgarpanah i sar., 2012; Sharififar i sar., 2009a). Umereni značaj antimikrobne

aktivnosti etarskih ulja vrsta *H. transcaucasicum*, *H. pastinacifolium* i *H. rechingeri* demonstriran je od strane Firuzi i sar. (2010), gde je *P. aeruginosa* bio najotporniji testirani patogen. U ovom radu je etarsko ulje *H. orphanidis* inhibiralo rast *P. aeruginosa* u koncentracijama manjim od streptomocina (**Tabela 25**). Dash i sar. (2005) su objavili da je metanolni ekstrakt korena *H. nepalense* *in vitro* i *in vivo* posedovao značajnu antimikrobnu aktivnost. U ovoj doktorskoj disertaciji je pokazano da je metanolni ekstrakt korena *H. orphanidis* ispoljio najbolju antifungalnu aktivnost. Dobijene su i niske vrednosti za baktericidne koncentracije za ovaj uzorak, pri čemu je anti-*Staphylococcus* aktivnost bila u rangu sa prethodno detektovanom aktivnošću metanolnog ekstrakta korena *H. nepalense* (Dash i sar., 2005). Etanolni i vodeni ekstrakti *H. spondylium* nisu imali značajan antimikrobni potencijal, ispoljivši jako dejstvo samo na bakteriju *S. aureus* (Ergene i sar., 2006), koja je i u našem istraživanju bila najosetljivija bakterija na dejstvo etanolnog i vodenog ekstrakta korena *H. orphanidis*. Komparacijom antimikrobne aktivnosti etarskih ulja *H. orphanidis* i *H. spondylium* (Işcan i sar. 2003), pokazalo se da je naš uzorak bio efektivniji u ispoljavanju inhibitornog dejstva na sve patogene, sem na *L. monocytogenes* kao najrezistentnije korišćene bakterije u ovom radu. Etarsko ulje *H. rechingeri* je ispoljilo jak antibakterijski efekat na *B. cereus* (Baytop, 1994; Habibi i sar., 2010), dok je u ovoj studiji etarsko ulje inhibiralo rast ovog bacila u nižoj koncentraciji u odnosu na streptomocin (**Tabela 25**). Rezultati rada Torbati i sar. (2014) pokazali su da etarsko ulje korena *H. transcaucasicum* nije posedovalo antimikrobni potencijal, dok je etarsko ulje korena *H. anisactis* pokazalo umerenu do slabu aktivnost na korišćene sojeve, sa najjačim uticajem na *S. epidermidis* i *S. aureus*. Pored *B. cereus*, u ovoj disertaciji je i *S. aureus* bila najsenzitivnija bakterija na aktivnost etarskog ulja *H. orphanidis*. Metanolni i hloroformski ekstrakti nadzemnog dela i korena *H. candicans* su u studiji Kaur i sar. (2006) pokazali aktivnost na *E. coli* i neke vrste roda *Pseudomonas*, dok je petrol-etarski ekstrakt pokazao dejstvo na *S. typhi* i na vrste roda *Pseudomonas*. Metanolni ekstrakt korena te biljke nije imao antifungalnu aktivnost, dok je metanolni ekstrakt nadzemnog dela ispoljio dejstvo samo na gljive roda *Aspergillus*. Metanolni i etanolni ekstrakti *H. orphanidis* u ovom radu su takođe pokazali aktivnost na ove sojeve, s tim da je *S. tiphymurium* bio najosetljiviji mikroorganizam na koji su ekstrakti delovali u koncentraciji od 1,00-3,00 mg/mL. Vodeni ekstrakti *H. orphanidis* pokazali su slabu aktivnost na *M. flavus* i *A. niger*, a slični rezultati zabeleženi su i za vodene ekstrakte *H. persicum* i *H. mantegazzianum* (Kousha i Ringø, 2015).

Antimikrobni potencijal vrste *A. pancicii* nije prethodno izučavan. Od vrsta roda *Angelica* do sada je objavljeno da *A. sylvestris* poseduje jaku antimikrobnu aktivnost (Dzhuneva i sar., 2008). U prethodnom istraživanju autora Widelski i sar. (2009), metanolni ekstrakt plodova *A. lucida* i njegovi izolovani kumarini - izoimperatorin i oksipeucedanin hidrat su pokazali umerenu aktivnost na testirane bakterije. U našoj analizi, metanolni ekstrakt nadzemnog dela *A. pancicii* je posedovao umerenu aktivnost, dok je metanolni ekstrakt korena pokazao jako inhibitorno svojstvo na rast korišćenih bakterija. Pored toga, Gram pozitivne i Gram negativne vrste pokazale su sličnu osetljivost na ekstrakte obe, *A. pancicii* i *A. lucida* vrste, dok je *P. aeruginosa* u obe studije bio najotporniji testirani soj. Poliacetilensko jedinjenje falkarindiol, koje je identifikovano u nadzemnom delu *A. pancicii*, prethodno je bilo izolovano iz vrste *A. dahurica* i pokazalo je jako antibakterijsko dejstvo na veliki broj rezistentnih sojeva bakterije *S. aureus* (Lechnera i sar., 2004). U ovom istraživanju je korišćen soj bakterije *S. aureus* pokazao značajnu osetljivost na dejstvo ekstrakata *A. pancicii*. Rezultati dobijeni za vodene ekstrakte *A. pancicii* koji su demonstrirali slabo antifungalno dejstvo ili potpuno odsustvo aktivnosti pri testiranim koncentracijama (**Tabela 31**), bili su u saglasnosti sa podacima objavljenim za vodeni ekstrakt korena *A. sinensis* i etarsko ulje korena vrste *A. archangelica* (Wedge i sar., 2009). Dok su ekstrakti *A. pancicii* ispoljili umeren efekat na vrstu roda *Candida*, ekstrakti *A. lucida* i njihova izolovana jedinjenja bila su inaktivna protiv tri vrste roda *Candida* (Widelski i sar., 2009). Iz **Tabele 31**. se može uočiti da su korišćene mikrogljive roda *Aspergillus* bile manje podložne delovanju ekstrakata *A. pancicii*, što je u saglasnosti sa zapažanjima autora Roh i Shin (2014) koji su zaključili da su ove gljive bile među otpornijim na efekat etarskog ulja *A. koreana*. Minimalne inhibitorne vrednosti obe vrste *Angelica*, bile su dosta veće od MIK vrednosti koje su dobijene za antibiotike i mikotike koji su korišćeni kao kontrole. Rezultati dobijeni za jedinjenja aviprin, oksipeucedanin i oksipeucedanin hidrat, čije je prisustvo bilo detektovano u metanolnim ekstraktima *A. pancicii*, otkrili su da su ovi kumarini manifestovali dobru antibakterijsku i antifungalnu aktivnost (Mokbel i sar., 2006; Razavi i Zarrini, 2010; Stavri i Gibbons, 2005), dok su metanolni ekstrakti *A. pancicii* pokazali dobru antibakterijsku i umerenu antifungalnu efikasnost na korišćene izolate (**Tabele 26 i 31**).

4.2.3. Anti-QS aktivnost ekstrakata i etarskih ulja

Deo ovog istraživanja bio je posvećen određivanju anti-QS aktivnosti odabranih vrsta i sastojao se od ispitivanja uticaja subMIK koncentracija testiranih ekstrakata i etarskih ulja na selektovane virulentne faktore u tri različita testa. Dobijeni rezultati predstavljeni su u **Tabelama 32-41.** i na **Slikama 38-47.** Prema predstavljenim podacima se može zaključiti da su korišćene koncentracije ekstrakata i etarskih ulja ispitivanih biljaka bile dovoljne da ispolje aktivnost na neku od odabranih QS determinanti bakterije *P. aeruginosa*. U prisustvu nekih testiranih uzoraka kolonije *P. aeruginosa* su bile izmenjene, a uticali su i na pojavu/redukciju flagela kao i na njihov dijаметar. Pored toga je u određenoj meri bila redukovana i sinteza biofilma, dok je uticaj ekstrakata i etarskih ulja na inhibiciju sinteze piocijanina bio najizraženiji.

4.2.3.1. Uporedna analiza rezultata inhibicije kretanja ćelija *P. aeruginosa*

Uporednom analizom rezultata u ovom eksperimentu testirani uzorci su pokazali sposobnost redukcije rasta kolonije i kretanja ćelije *P. aeruginosa* PAO1 (twiching i flagella test). Prema dobijenim rezultatima, kontrola *P. aeruginosa* je brzo rasla (zbog sposobnosti kretanja bakterija pomoću flagela), stvarala široke zone dijametra 12,00 mm, bila je neravnog oblika, regularne površine sa nepravilnim i neravnim ivicama i zamućenim, nejasnim zonama oko kolonije. Flagele su bile regularnih veličina i bakterijke ćelije su činile tanke slojeve.

Ferulago macedonica: Prema rezultatima prezentovanim u **Tabeli 32,** boja kolonija *P. aeruginosa* koje su tretirane ekstraktima i etarskim uljem *F. macedonica* kretala se od providno beličaste (za metanolni i etanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke), preko belo mrke boje (etanolni ekstrakt vršnog dela), do svetlo zelene boje (metanolni ekstrakt vršnog dela biljke). Najbolju redukciju svih testiranih parametara pokazalo je etarsko ulje nadzemnog dela biljke (**Tabela 32** i **Slika 38**). Dijametar kolonije u prisustvu etarskog ulja bio je 7,33 mm, dok je najveći prečnik imala kolonija u prisustvu vodenog ekstrakta nadzemnog dela (16,33 mm). Potpuno odsustvo flagela zabeleženo je za subMIK koncentraciju metanolnog ekstrakta vršnog dela. U prisustvu metanolnog ekstrakta nadzemnog dela, prečnik kolonije bio je manji i flagele su redukovane u odnosu na kontrolu. Poređenjem sa korišćenim antibiotikom streptomycinom,

bolju aktivnost je pokazalo etarsko ulje i metanolni ekstrakt nadzemnog dela *F. macedonica*, dok je u odnosu na ampicilin bolji i metanolni ekstrakt vršnog dela biljke (**Tabela 32** i **Slika 38**).

Echinophora sibthorpiana: Upotrebom koncentracije koja je iznosila 0,5 MIK-a, ekstrakti i etarsko ulje *E. sibthorpiana* su pokazali sledeće rezultate: boja kolonija se kretala od providno bele, beličaste do bledo mrke (**Tabela 33**). Dijametar kolonija koje su rasle u prisustvu testiranih ekstrakata je bio veći (14,00-15,66 mm) u odnosu na kontrolnu koloniju (12,00 mm) i na antibiotike streptomycin (11,00 mm) i ampicilin (13,00 mm). Etarsko ulje nadzemnog dela ove vrste pokazalo je najbolju aktivnost kada se uzmu u obzir svi parametri (boja, izgled i prečnik kolonije; prisustvo, izgled i dijametar flagela) (**Tabela 33**, **Slika 39**). U prisustvu ulja je prečnik kolonije iznosio samo 6,67 mm, nije bilo flagela i boja kolonije je bila beličasta. Od svih testiranih uzoraka ove vrste, samo je etarsko ulje pokazalo jaču aktivnost od sintetičkih antibiotika, dok su ekstrakti imali slabije dejstvo.

Laserpitium ochridanum: Etanolni i vodeni ekstrakt *L. ochridanum* ispoljili su redukciono dejstvo na pokretljivost flagela *P. aeruginosa* (**Tabela 34** i **Slika 40**). Boja tretiranih kolonija se kretala od bele do svetlo zelene i zelene. Oba *L. ochridanum* ekstrakta uticala su na promenu boje kolonije u belu i na povećanje dijametra (14,00 mm i 17,67 mm za etanolni i vodeni ekstrakt, redom), u poređenju sa kontrolnim kolonijama (11,00-13,00 mm) (**Tabela 34**). Primećeno je da je kolonija u prisustvu streptomicina pokazala minimalan rast i maksimalno smanjenje kretanja pomoću flagela koje su bile redukovane u veličini, obliku i broju. Nasuprot, kolonija koja je tretirana ampicilinom imala je regularne ivice i formirala velike izbočine, a mogle su se videti i skoro regularne, neizmenjene flagele koje su bile vrlo slične flagelama kontrole (**Slika 40**). Iz priloženih rezultata predstavljenih u **Tabeli 34**. i **Slici 40**, retke flagele najvećeg dijametra (40-160 µm), bile su prisutne kod kolonije koja je rasla u prisustvu etanolnog ekstrakta *L. ochridanum*. U prisustvu vodenog ekstrakta ove vrste, flagele su bile sitne kao i u prisustvu streptomicina.

Heracleum orphanidis: Rezultati testova pokretljivosti, twitching i flagella test, pokazuju da ekstrakti i etarsko ulje *H. orphanidis* imaju inhibitorski efekat na širenja kolonije i kretanja flagela *P. aeruginosa* PAO1. Kao što je dato u **Tabeli 35**, kolonije su bile bele, svetlo zelene i

zelene boje. Uopšteno, kolonije u prisustvu ekstrakata nadzemnog dela bile su većeg dijametra (15,00-20,33 mm) od onih koje su rasle u prisustvu ekstrakata korena (11,33-16,33 mm). Oblik, broj i veličina (24-40 μm) flagela bili su najviše redukovani u beloj koloniji prečnika 11,33 mm, koja je rasla u prisustvu subMIK koncentracije vodenog ekstrakta korena *H. orphanidis*. Kolonije tretirane etarskim uljem bile su svetlo zelene, redukovanih flagela, dijametra 32-48 μm . Etarsko ulje i vodeni ekstrakt korena bili su bolji agensi od streptomicina i ampicilina po svim posmatranim parametrima. Metanolni i etanolni ekstrakti nadzemnog dela biljke su se pokazali kao najslabiji. Dejstvom metanolnog ekstrakta izmeren je prečnik kolonije od 18,00 mm sa regularnim flagelama dijametra 56-104 μm , dok je maksimalan rast pokazala kolonija tretirana etanolnim ekstraktom nadzemnog dela biljke (20,33 mm), ali su zato flagele bile nešto manjih dimenzija (32-64 μm). Streptomicin je redukovao flagele u velikoj meri i kolonija je pokazala minimalan rast (11,00 mm), dok ampicilin skoro uopšte nije ispoljio uticaj na flagele (**Tabela 35**, **Slika 41**).

Angelica panicii: Posmatranjem kolonija *P. aeruginosa* je uočeno da su 0,5 MIK ekstrakata *A. panicii* dovele do izvesnih promena u tretiranim kolonijama. Boje tih kolonija su se kretala od svetlo zelene do zelene i ivice kolonija su uglavnom bile regularne sa sitnim flagelama, dok neke kolonije nisu imale flagele. Iz rezultata prikazanih u **Tabeli 36**, vidi se da je prečnik kontrolne kolonije bio manji u odsustvu većine testiranih uzoraka *A. panicii*. U **Tabeli 36** i na **Slici 42** se može videti da su maksimalnu aktivnost imali etanolni i vodeni ekstrakt korena, gde su svetlo zelene kolonije bile redukovanih prečnika (9,33 mm i 11,00 mm, redom), kao odsustvo flagela. Ovi uzorci su bili efektivniji u odnosu na streptomicin i ampicilin. Suprotno tome, etanolni i vodeni ekstrakti nadzemnog dela biljke kao i oba metanolna ekstrakta pokazali su slabu aktivnost. Zelene kolonije duplo većeg dijametra (23,67 mm i 23,00 mm, redom) u odnosu na kontrolu (12,00 mm), sa regularnim flagelama (40-160 μm), uočene su u prisustvu etanolnog i vodenog ekstrakta nadzemnog dela biljke.

Kao što je dato u **Tabelama 32-26**, u prisustvu testiranih etarskih ulja i ekstrakata, boja kolonija se kretala od providno bele, beličaste, preko belo mrke, ka svetlo zelenoj i zelenoj boji. Razlika u jačini dejstva različitih biljnih delova bila je zabeležena samo za vrste *H. orphanidis* i *A. panicii*. U oba slučaja su ekstrakti korenova bili efikasniji u redukciji prečnika kolonija,

pojave kao i dijametra flagela *P. aeruginosa*. Najjaču inhibiciju svih posmatranih parametara pokazali su etanolni i vodeni ekstrakt korena *A. panicii* koji su inhibirali širenje kolonije ove bakterije (prečnik 9,33 i 11,00 mm), promenili boju kolonije iz zelene u svetlo zelenu i redukovali flagele (**Tabela 36, Slika 42**). To su bili bolji rezultati u odnosu na aktivnost streptomicina i ampicilina u čijem prisustvu su zelene kolonije bile prečnika 11,00-13,00 mm, dok su flagele bile ili regularne ili redukovane dijametra 16-56 μm . Od etarskih ulja najbolju aktivnost imalo je ulje *E. sibthorpiana* u čijem prisustvu je kolonija bele boje, prečnika 6,67 mm i bez flagela, što je ujedno najjači testirani agens, dok je etarsko ulje *H. orphanidis* najslabije. Poređenjem dobijenih rezultata može se videti da je najveći prečnik kolonije izmeren u prisustvu etanolnog ekstrakta nadzemnog dela *A. panicii* (23,67 mm), a najveće flagele su uočene kod kolonije koja je rasla uz dodatak etanolnog ekstrakta nadzemnog dela *F. macedonica* (do 240 μm) (**Tabela 32, Slika 38**). Među svim testiranim uzorcima, odsustvo flagela bilo je zabeleženo kod metanolnog ekstrakta vršnog dela *F. macedonica*, etarskog ulje *E. sibthorpiana* i etanolnog i vodenog ekstrakt *A. panicii*. Takođe je uočeno da su vodeni ekstrakti pokazali malo jaču aktivnost od metanolnih i etanolnih ekstrakata odabranih vrsta.

Tabela 32. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *F. macedonica* na proces pokretljivosti kod *P. aeruginosa* PAO1

Parametri/ <i>F. macedonica</i> /Standardi	Dijametar kolonije (mm \pm SD)	Dijametar flagela (μm)	Boja kolonije	Ivica kolonije	
ME	Vršni deo	14,33 \pm 1,15	-	Svetlo zelena	Odsustvo flagela
	Nadzemni deo	10,33 \pm 2,08	64 - 160	Belo providna	Mestimične flagele
EE	Vršni deo	13,66 \pm 1,53	40 - 240	Bledo mrka	Regularne flagele
	Nadzemni deo	15,33 \pm 1,53	80 - 240	Belo providna	Regularne flagele
VE	Vršni deo	14,66 \pm 0,58	40 - 160	Beličasta	Redukovane flagele
	Nadzemni deo	16,33 \pm 1,00	40 - 160	Belo mrka	Regularne flagele
EU	Nadzemni deo	7,33 \pm 2,08	16 - 40	Beličasta	Retke flagele
Streptomicin		11,00 \pm 1,00	24 - 56	Zelena	Sitne flagele
Ampicilin		13,33 \pm 5,03	16 - 56	Zelena	Regularne flagele
Kontrola (10⁹ ćel./mL)		12,00 \pm 1,00	56 - 80	Svetlo zelena	Regularne flagele

Tabela 33. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *E. sibthorpiantum* na proces pokretljivosti kod *P. aeruginosa* PAO1

Parametri/ <i>E. sibthorpiantum</i> /Standardi		Dijametar kolonije (mm ± SD)	Dijametar flagela (µm)	Boja kolonije	Ivica kolonije
ME	Nadzemni deo	14,00 ± 4,58	32 - 120	Bela	Retke flagele
	Koren	15,00 ± 2,00	24 - 120	Belo providna	Veoma retke flagele
EE	Nadzemni deo	15,33 ± 1,53	40 - 120	Beličasta	Retke flagele
	Koren	14,00 ± 0,00	80 - 160	Bledo mrka	Regularne flagele
VE	Nadzemni deo	15,66 ± 0,58	56 - 136	Beličasta	Redukovane flagele
	Koren	14,00 ± 1,00	40 - 120	Bledo mrka	Redukovane flagele
EU	Nadzemni deo	6,67 ± 0,51	-	Beličasta	Odsustvo flagela
Streptomycin		11,00 ± 1,00	24 - 56	Zelena	Sitne flagele
Ampicilin		13,33 ± 5,03	16 - 56	Zelena	Regularne flagele
Kontrola (10⁹ ćel./mL)		12,00 ± 1,00	56 - 80	Svetlo zelena	Regularne flagele

Tabela 34. Efekat ekstrakata *L. ochridanum* na proces pokretljivosti kod *P. aeruginosa* PAO1

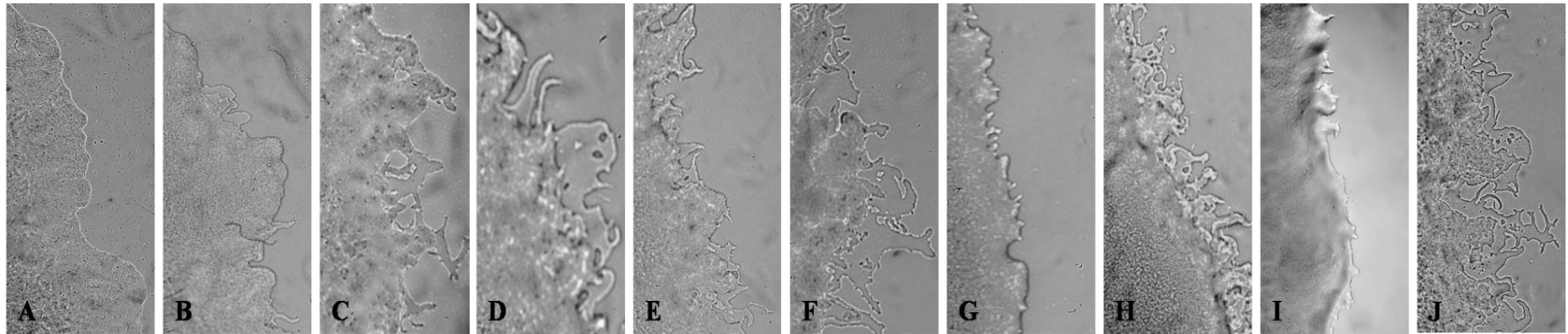
Parametri/ <i>L. ochridanum</i> /Standardi	Dijametar kolonije (mm ± SD)	Dijametar flagela (µm)	Boja kolonije	Ivica kolonije
EE	14.00 ± 2.65	40 - 160	Bela	Retke flagele
VE	17.67 ± 5.51	16 - 80	Bela	Sitne flagele
Streptomycin	11.00 ± 1.00	24 - 56	Zelena	Sitne flagele
Ampicilin	13.33 ± 5.03	16 - 56	Zelena	Regularne flagele
Kontrola (10⁹ ćel./mL)	12.00 ± 1.00	56 - 80	Svetlo zelena	Regularne flagele

Tabela 35. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *H. orphanidis* na proces pokretljivosti kod *P. aeruginosa* PAO1

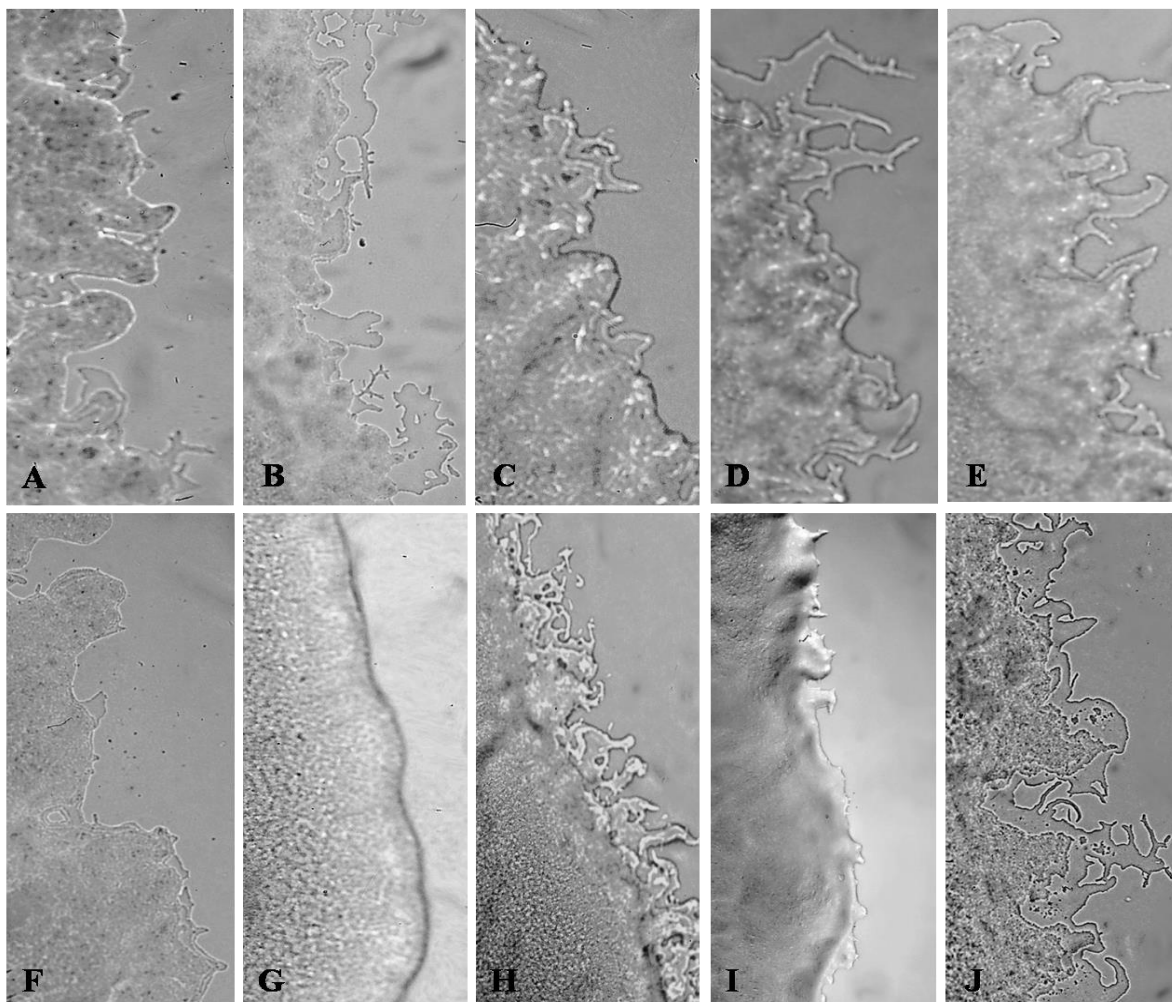
Parametri/ <i>H. orphanidis</i> /Standardi		Dijametar kolonije (mm ± SD)	Dijametar flagela (µm)	Boja kolonije	Ivica kolonije
ME	Nadzemni deo	18,00 ± 3,00	56 - 104	Bela	Regularne flagele
	Koren	12,33 ± 1,15	40 - 64	Bela	Redukovane flagele
EE	Nadzemni deo	20,33 ± 4,51	32 - 64	Svetlo zelena	Sitne flagele
	Koren	16,33 ± 3,21	24 - 56	Svetlo zelena	Regularne flagele
VE	Nadzemni deo	15,00 ± 1,00	32 - 64	Bela	Regularne flagele
	Koren	11,33 ± 1,15	24 - 40	Bela	Redukovane flagele
EU	Nadzemni deo	10,33 ± 0,58	32 - 48	Svetlo zelena	Redukovane flagele
Streptomicin		11,00 ± 1,00	24 - 56	Zelena	Sitne flagella
Ampicilin		13,33 ± 5,03	16 - 56	Zelena	Regularne flagele
Kontrola (10⁹ ćel./mL)		12,00 ± 1,00	56 - 80	Svetlo zelena	Regularne flagele

Tabela 36. Efekat ekstrakata *A. pancicii* na proces pokretljivosti kod *P. aeruginosa* PAO1

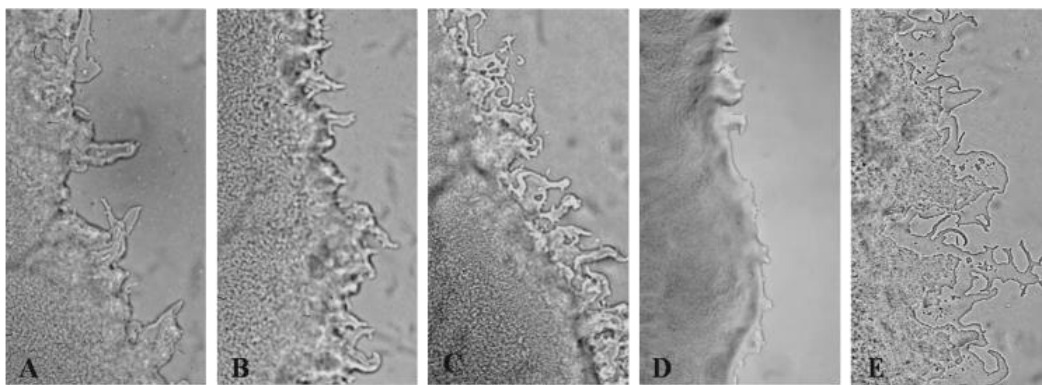
Parametri/ <i>H. orphanidis</i> /Standardi		Dijametar kolonije (mm ± SD)	Dijametar flagela (µm)	Boja kolonije	Ivica kolonije
ME	Nadzemni deo	22,67 ± 2,52	16 - 56	Svetlo zelena	Sitne flagele
	Koren	20,67 ± 8,02	40 - 96	Zelena	Sitne flagele
EE	Nadzemni deo	23,67 ± 6,51	56 - 128	Zelena	Regularne flagele
	Koren	9,33 ± 1,53	-	Svetlo zelena	Odsustvo flagela
VE	Nadzemni deo	23,00 ± 12,12	40 - 160	Zelena	Regularne flagele
	Koren	11,00 ± 1,00	-	Svetlo zelena	Odsustvo flagela
Streptomicin		11,00 ± 1,00	24 - 56	Zelena	Sitne flagele
Ampicilin		13,33 ± 5,03	16 - 56	Zelena	Regularne flagele
Kontrola (10⁹ ćel./mL)		12,00 ± 1,00	56 - 80	Svetlo zelena	Regularne flagele



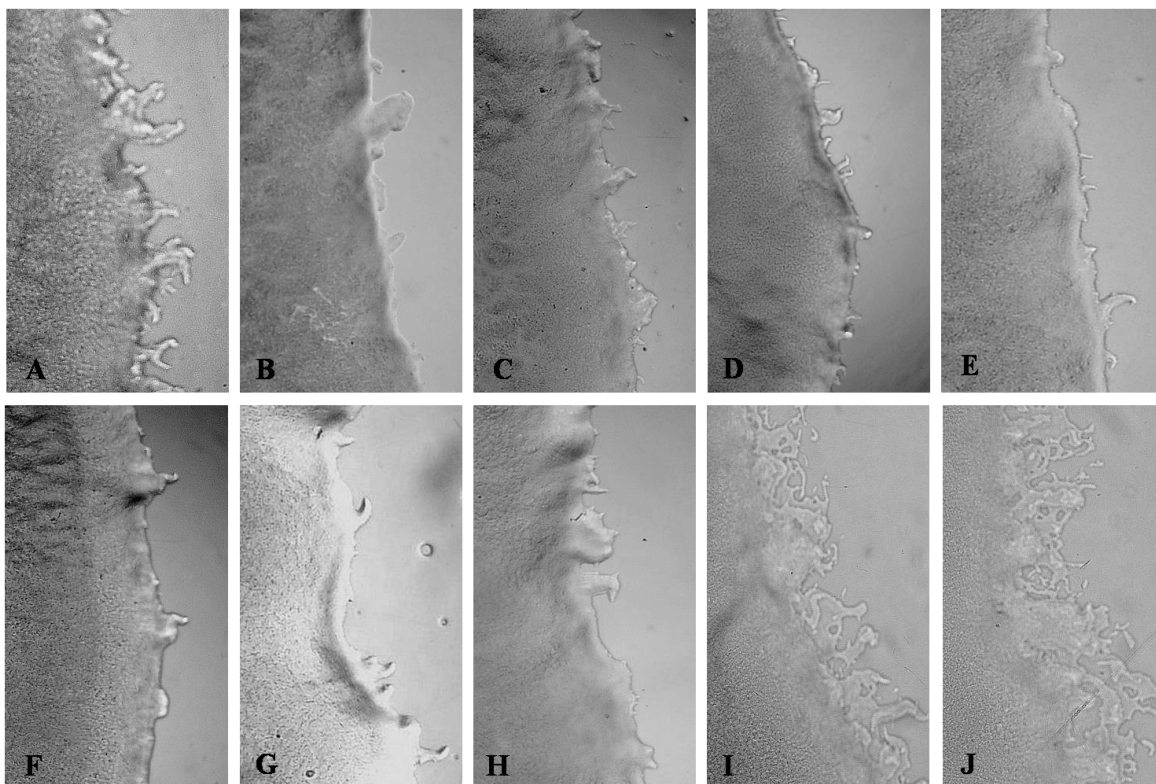
Slika 38. Ivice kolonija bakterije *P. aeruginosa* koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata i etarskog ulja *F. macedonica*. Bakterijske kolonije koje su rasle u prisutvu 0,5 MIK ekstrakata (A-F) i etarskog ulja *F. macedonica* (G); *P. aeruginosa* u prisustvu ampilicina formira regularne izbočine (H); *P. aeruginosa* u prisustvu streptomicina ima redukovane izbočine (I); kontrola *P. aeruginosa* formira ravne, široke kolonije, iregularnog oblika u odsustvu testiranih ekstrakata i etarskog ulja (I). Svetlosna mikroskopija - uveličanje: (A-D) x 100 (K. S. Mileski).



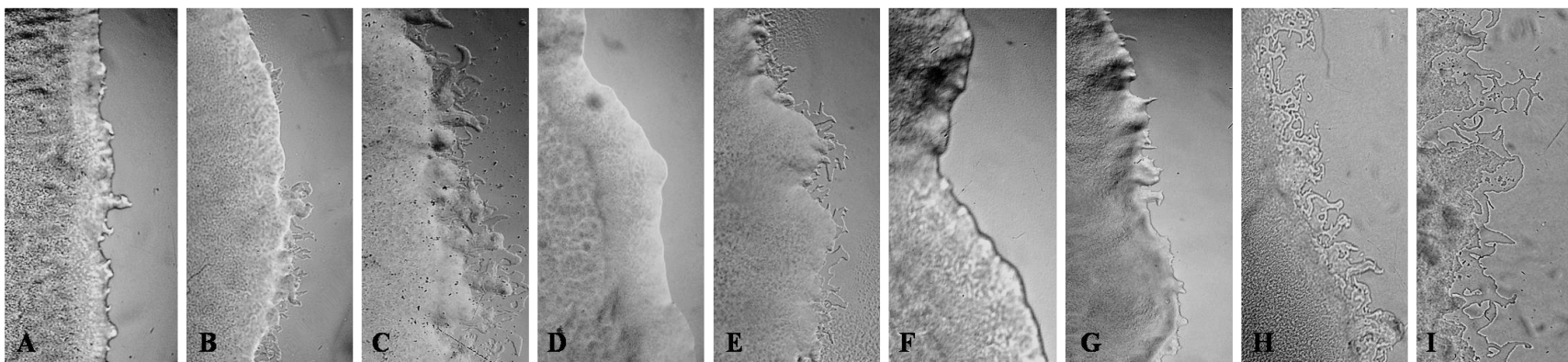
Slika 39. Ivice kolonija bakterije *P. aeruginosa* koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata i etarskog ulja *E. sibthorpiana*. Kolonije bakterije koje su rasle u prisutvu 0,5 MIK ekstrakata (A-F) i etarskog ulja *E. sibthorpiana* (G); *P. aeruginosa* u prisustvu ampilicina formira regularne izbočine (H); *P. aeruginosa* u prisustvu streptomicina ima redukovane izbočine (I); kontrola *P. aeruginosa* formira ravne, široke kolonije, iregularnog oblika u odsustvu testiranih ekstrakata (J). Svetlosna mikroskopija - uveličanje: (A-D) x 100 (foto: K. S. Mileski).



Slika 40. Ivice kolonija bakterije *P. aeruginosa* koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata *L. ochridanum*. Kolonije bakterije koje su rasle u prisutvu 0,5 MIK ekstrakata *L. ochridanum* (A-B); *P. aeruginosa* u prisustvu ampilicina formira regularne izbočine (C); *P. aeruginosa* u prisustvu streptomicina ima redukovane izbočine (D); kontrola *P. aeruginosa* formira ravne, široko proširene kolonije, iregularnog oblika u odsustvu testiranih ekstrakata (E). Svetlosna mikroskopija - uveličanje: (A-D) x 100 (foto: K. S. Mileski).



Slika 41. Ivice kolonija *P. aeruginosa* koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata i etarskog ulja *H. orphanidis*. Kolinija bakterije koja je rasla u prisustvu 0,5 MIK ekstrakata (A-F) i etarskog ulja *H. orphanidis* (G); *P. aeruginosa* koja je rasla u prisustvu 0,5 MIK streptomicina ima redukovane izbočine (H); *P. aeruginosa* u prisustvu ampicilina je formirala regularne izbočine (I); *P. aeruginosa* formira ravne, široke kolonije, iregularnog oblika u odsustvu testiranih uzoraka (J). Svetlosna mikroskopija - uveličanje: (A-D) x 100 (foto: K. S. Mileski).



Slika 42. Ivice kolonija bakterije *P. aeruginosa* koje su rasle u prisustvu ili odsustvu ekstrakata *A. pancicii*. Kolonije bakterije koje su rasle u prisutvu 0,5 MIK ekstrakata *A. pancicii* (A-F); *P. aeruginosa* u prisustvu streptomicina formirala je redukovane izbočine (G); *P. aeruginosa* u prisustvu ampilicina imala je regularne izbočine (H); kontrola *P. aeruginosa* formira ravne, široke kolonije, iregularnog oblika u odsustvu testiranih uzoraka (I). Svetlosna mikroskopija - uveličanje: (A-D) x 100 (foto: K. S. Mileski).

4.2.3.2. Uporedna analiza rezultata formiranja biofilma *P. aeruginosa* PAO1

Ferulago macedonica: Rezultati dati u **Tabeli 37.** ukazuju na slabu aktivnost ili na potpuno odsustvo dejstva ekstrakata i etarskog ulja *F. macedonica* pri korišćenim koncentracijama (0,125 do 0,5 MIK) u redukciji formiranja biofilma. Redukcija sinteze biofilma zapažena je samo pri upotrebi nekih koncentracija (najviše pri 0,125 MIK) pojedinih uzoraka. Opseg smanjenja formiranja biofilma pri upotrebi testiranih uzoraka kretao se od 2,93% za 0,125 MIK vodenog ekstrakta nadzemnog dela biljke do 28,22% za 0,5 MIK etarskog ulja nadzemnog dela *F. macedonica*. Posle etarskog ulja, najbolju aktivnost pokazao je etanolni ekstrakt vršnog dela biljke pri koncentraciji od 0,25 MIK. Iz **Tabele 37.** se može videti da metanolni ekstrakti uopšte nisu ispoljili aktivnost na formiranje biofilma. Antibiotici streptomycin i ampicilin imali su jaču aktivnost od ekstrakata i etarskog ulja ove vrste.

Echinophora sibthorpiana: Prema prikazanim rezultatima dobijenim u ovom eksperimentu (**Tabela 38**), uočeno je da su samo metanolni i vodeni ekstrakti korena pokazali aktivnost pri svim testiranim koncentracijama (0,5-0,125 MIK). Takođe je uočeno da etanolni ekstrakti ne poseduju sposobnost efikasnog inhibiranja sinteze biofilma bakterije *P. aeruginosa*. Nasuprot, najveća redukcija produkcije biofilma bila je izmerena u prisustvu 0,5 MIK metanolnog ekstrakta korena (59,65%), dok se biofilm najviše produkovao u prisustvu 0,125 MIK istog uzorka, koji je redukovao svega 0,29% njegove sinteze. U poređenju sa antibioticima streptomycinom i ampilicinom, jače redukciono svojstvo pokazao je samo metanolni ekstrakt u koncentraciji od 0,5 MIK (**Tabela 38**).

Laserpitium ochridanum: U **Tabeli 39.** je prezentovan pregled rezultata efekata ekstrakata *L. ochridanum* na formiranje biofilma bakterije *P. aeruginosa*. Etanolni ekstrakt pokazao je dozno zavisnu inhibitornu aktivnost, redukujući od 8,63% pri upotrebi 0,125 MIK količine ekstrakta, do 63,88% biofilma formiranog pri upotrebi 0,5 MIK ekstrakta. Rezultati su pokazali da etanolni ekstrakt *L. ochridanum* redukuje sintezu biofilma efikasnije u odnosu na oba antibiotika, dozvoljavajući formiranje biofilma u opsegu od 36,12% do 91,37%. Testirane subMIK koncentracije vodenog ekstrakta nisu pokazale nikakav efekat u supresiji formiranja biofilma *P. aeruginosa* (**Tabela 39**). U prisustvu streptomicina (49,40%-88,36%) i ampilicina

(56,46%-92,16%), sinteza biofilma se odvila u užem intervalu, pri čemu je detektovano jače dejstvo streptomocina u redukciju formiranja biofilma.

Heracleum orphanidis: U **Tabeli 40.** su prezentovani rezultati efekata etarskog ulja i ekstrakata *H. orphanidis* na formiranje biofilma *P. aeruginosa*. Demonstrirano je da su subMIK količine testiranih uzoraka *H. orphanidis* bile dovoljne za redukciju sinteze biofilma i da su svi testirani uzorci pokazali su izvesnu anti-biofilm aktivnost. Ekstrakti i etarsko ulje *H. orphanidis* su omogućili formiranje biofilma u opsegu od 52,66% do 81,64%. Poređenjem sa antibioticima, formiranje biofilma se odvijalo u širem opsegu (od 49,40% do 92,16%). Etanolni ekstrakt nadzemnog dela biljke je imao najjaču inhibitornu aktivnost na sintezu biofilma, redukujući od 32,13% do 47,34% njegove sinteze, dok je najmanju aktivnost pokazalo etarsko ulje *H. orphanidis* koje je umanjilo formiranje biofilma za 18,33%-19,08%. Dobijeni rezultati pokazuju da vodeni ekstrakti ispoljavaju slabije anti-biofilm dejstvo u poređenju sa metanolnim i etanolnim ekstraktima. Takođe su u suzbijanju sinteze biofilma bili efektivniji ekstrakti nadzemnog dela biljke (25,36%-47,34%) od ekstrakata korena (22,22%-33,33%) (**Tabela 40**).

Angelica panicii: Nakon procene sposobnosti subMIK ekstrakata vrste roda *Angelica* na formiranje biofilma *P. aeruginosa*, dobijeni su rezultati koji su predstavljeni u **Tabeli 41.** Najuočljivija redukcija sinteze biofilma bila je u prisustvu 0,125 MIK testiranih uzoraka. Metanolni i etanolni ekstrakti oba dela biljke dozvolili su stvaranje biofilma u manjem procentu u odnosu na vodene ekstrakte, a metanolni i etanolni ekstrakti korena pokazali su najjaču antibiofilm efikasnost. U poređenju sa referentnim antibioticima, može se zaključiti da su ekstrakti *A. panicii* redukovali formiranje biofilma u širem opsegu u čijem prisustvu je sinteza biofilma bila je u intervalu od 17,36% do 74,53%, dok se u prisustvu ampicilina i streptomocina kretala od 49,40% do 92,16%. Veća inhibitorna aktivnost je uočena za 0,125 MIK etanolnog ekstrakta korena (82,64%), nasuprot 0,25 MIK vodenog ekstrakta korena koja je redukovala 25,47% formiranja biofilma.

U **Tabelama 37-41.** prezentovani su rezultati efekata testiranih etarskih ulja i ekstrakata na formiranje biofilma *P. aeruginosa* PAO1. Uzorci su testirani u koncentracijama od 0,5, 0,25 i 0,125 MIK vrednosti. Demonstrirano je da su subMIK količine pojedinih uzoraka bile dovoljne

za redukciju sinteze biofilma. Odabrane vrste su pokazale značajne razlike u ispoljavanju anti-biofilm aktivnosti koja je predstavljena u sledećem opadajućem nizu: *A. panicii*, *H. orphanidis*, *L. ochridanum*, *E. sibthorpiana*, *F. macedonica*. Nije primećena značajna razlika u jačini dejstva ekstrakata dobijenih iz različitih biljnih delova. Dok su metanolni i etanolni ekstrakti ispoljili dejstvo približne jačine, vodeni su bili manje efikasni u suzbijanju sinteze biofilma ove bakterije. Među etarskim uljima najmanji procenat biofilma se formirao u prisustvu ulja *H. orphanidis* (od 80,6% do 91,16%), što je bilo slabije dejstvo u odnosu na streptomycin i ampicilin (56,46-92,16% i 49,40-88,36%, redom), dok etarsko ulje *E. sibthorpiana* nije ispoljilo delovanje na sintezu biofilma. Među testiranim ekstraktima najefikasnije je sintezu biofilma u odnosu na kontolu inhibirao etanolni ekstrakt korena *A. panicii* (u opsegu od 53,02% do 82,64%). Neki uzorci (vodeni ekstrakt *L. ochridanum*, etanolni ekstrakti *E. sibthorpiana* i metanolni ekstrakti *F. macedonica*) nisu pokazali anti-biofilm potencijal.

Tabela 37. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *F. macedonica* na proces formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1 (%)

<i>F. macedonica</i> /Standardi		Formiranje biofilma*		
		0,5 MIK (% ± SD)	0,25 MIK (% ± SD)	0,125 MIK (% ± SD)
ME	Vršni deo	n.i.*	n.i.	n.i.
	Nadzemni deo	n.i.	n.i.	n.i.
EE	Vršni deo	n.i.	n.i.	86,70 ± 0,00
	Nadzemni deo	n.i.	96,18 ± 0,78	81,60 ± 1,18
VE	Vršni deo	n.i.	76,17 ± 1,21	80,41 ± 0,95
	Nadzemni deo	n.i.	n.i.	97,07 ± 0,53
EU	Nadzemni deo	71,78 ± 2,04	87,72 ± 1,08	n.i.
Ampicilin		69,16 ± 0,65	56,46 ± 0,46	92,16 ± 0,37
Streptomycin		49,40 ± 0,46	70,97 ± 0,36	88,36 ± 0,42

*Procenat formiranja biofilma se računa prema jednačini: $((SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića} - SR_{A_{620}} \text{ tretiranog bunarčića}) / SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića}) \times 100$.

Vrednosti su predstavljene kao $SV \pm SD$.

*n.i. nije identifikovano

Tabela 38. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *E. sibthorpiana* na proces formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1 (%)

<i>E. sibthorpiana</i> /Standardi		Formiranje biofilma*		
		0,5 MIK (% ± SD)	0,25 MIK (% ± SD)	0,125 MIK (% ± SD)
ME	Nadzemni deo	75,15 ± 1,35	n.i.	n.i.
	Koren	40,35 ± 2,51	66,52 ± 2,03	99,71 ± 0,82
EE	Nadzemni deo	n.i.	n.i.	n.i.
	Koren	n.i.	n.i.	n.i.
VE	Nadzemni deo	n.i.	92,11 ± 0,88	n.i.
	Koren	86,84 ± 1,65	71,05 ± 1,72	77,37 ± 1,45
EU	Nadzemni deo	n.i.	n.i.	68,42 ± 2,20
Ampicilin		69,16 ± 0,65	56,46 ± 0,46	92,16 ± 0,37
Streptomicin		49,40 ± 0,46	70,97 ± 0,36	88,36 ± 0,42

*Procenat formiranja biofilma se računa prema jednačini: $((SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića} - SR_{A_{620}} \text{ tretiranog bunarčića}) / SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića}) \times 100$.

Vrednosti su predstavljene kao SV ± SD.

*n.i. nije identifikovano

Tabela 39. Efekat ekstrakata *L. ochridanum* na proces formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1 (%)

<i>L. ochridanum</i> /Standardi		Formiranje biofilma*		
		0,5 MIK (% ± SD)	0,25 MIK (% ± SD)	0,125 MIK (% ± SD)
EE nadzemni deo		36,12 ± 1,73	60,82 ± 1,05	91,37 ± 0,42
VE nadzemni deo		n.i.	n.i.	n.i.
Ampicilin		69,16 ± 0,65	56,46 ± 0,46	92,16 ± 0,37
Streptomicin		49,40 ± 0,46	70,97 ± 0,36	88,36 ± 0,42

*Procenat formiranja biofilma se računa prema jednačini: $((SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića} - SR_{A_{620}} \text{ tretiranog bunarčića}) / SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića}) \times 100$.

Vrednosti su predstavljene SV ± SD.

*n.i. nije identifikovano

Tabela 40. Efekat ekstrakata i etarskog ulja *H. orphanidis* na proces formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1 (%)

<i>H. orphanidis</i> /Standardi		Formiranje biofilma*		
		0,5 MIK (% ± SD)	0,25 MIK (% ± SD)	0,125 MIK (% ± SD)
ME	Nadzemni deo	70,53 ± 0,50	65,94 ± 1,53	66,91 ± 1,58
	Koren	77,78 ± 2,34	68,84 ± 2,47	66,67 ± 1,82
EE	Nadzemni deo	67,87 ± 1,65	66,43 ± 2,73	52,66 ± 2,71
	Koren	69,08 ± 0,87	72,22 ± 1,27	77,05 ± 0,78
VE	Nadzemni deo	74,64 ± 1,24	69,32 ± 1,48	63,53 ± 1,53
	Koren	74,88 ± 2,65	75,12 ± 0,65	75,36 ± 2,43
EU	Nadzemni deo	81,64 ± 2,73	80,92 ± 2,05	81,16 ± 2,73
Ampicilin		69,16 ± 0,65	56,46 ± 0,46	92,16 ± 0,37
Streptomicin		49,40 ± 0,46	70,97 ± 0,36	88,36 ± 0,42

*Procenat formiranja biofilma se računa prema jednačini: $((SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića} - SR_{A_{620}} \text{ tretiranog bunarčića}) / SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića}) \times 100$.
Vrednosti su predstavljene SV ± SD.

Tabela 41. Efekat ekstrakata *A. pancicii* na proces formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1 (%)

<i>A. pancicii</i> /Standardi		Formiranje biofilma *		
		0,5 MIK (% ± SD)	0,25 MIK (% ± SD)	0,125 MIK (% ± SD)
ME	Nadzemni deo	65,22 ± 1,87	47,83 ± 1,06	47,92 ± 1,37
	Koren	52,43 ± 0,50	40,38 ± 0,86	34,54 ± 0,50
EE	Nadzemni deo	53,58 ± 2,34	54,73 ± 1,53	43,77 ± 2,42
	Koren	46,98 ± 2,37	25,66 ± 0,58	17,36 ± 1,58
VE	Nadzemni deo	62,26 ± 2,47	74,15 ± 2,35	31,70 ± 1,82
	Koren	72,83 ± 0,85	74,53 ± 2,21	69,62 ± 1,06
Ampicilin		69,16 ± 0,65	56,46 ± 0,46	92,16 ± 0,37
Streptomicin		49,40 ± 0,46	70,97 ± 0,36	88,36 ± 0,42

*Procenat formiranja biofilma se računa prema jednačini: $((SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića} - SR_{A_{620}} \text{ tretiranog bunarčića}) / SR_{A_{620}} \text{ kontrolnog bunarčića}) \times 100$.
Vrednosti su predstavljene kao SV ± SD.

4.2.3.3. Uporedna analiza rezultata sinteze piocijanina *P. aeruginosa* PAO1

Ferulago macedonica: SubMIK koncentracije ekstrakata i etarskog ulja *F. macedonica* u ovom testu imali su daleko efikasniju aktivnost na smanjenje produkcije pigmenta piocijanina nego u redukciji sinteze biofilma *P. aeruginosa* (Slika 43). Nije uočena razlika u jačini delovanja ekstrakata vršnog i nadzemnog dela ove vrste. Najbolju aktivnost pokazalo je etarsko ulje nadzemnog dela u čijem prisustvu je sintetisano svega 5,22% piocijanina. Najbolji u inhibiciji produkcije pigmenta među ekstraktima bio je etanolni ekstrakt nadzemnog dela (19,05%).

Suprotno tome, najveća koncentracija piocijanina izmerena je u prisustvu metanolnog ekstrakta nadzemnog dela (68,6%) što je bilo manje u odnosu na količinu toksina detektovanu u prisustvu komercijalnih antibiotika streptomicina i ampicilina (84,27% i 97,59%, redom). Može se konstatovati da su svi testirani uzorci *F. macedonica* imali bolje delovanje u odnosu na ova dva sintetička jedinjenja (**Slika 43**).

Echinophora sibthorpiana: Prema priloženim rezultatima (**Slika 44**) se može zaključiti da su svi ekstrakti i etarsko ulje vrste *E. sibthorpiana* imali jaku anti-piocijanin aktivnost. Nije uočena razlika u jačini sprečavanja sinteze pigmenta između ekstrakata nadzemnog dela i korena biljke. Etarsko ulje nadzemnog dela posedovalo je najveći potencijal na osnovu nivoa redukcije koji je iznosio 130,86% u odnosu na kontrolu *P. aeruginosa* (sintetisano 141,55% pigmenta). Najslabiji u sprečavanju njegove produkcije bio je metanolni ekstrakt korena u čijem prisustvu je bilo sintetisano 35,22% pigmenta, što je opet bolji rezultat u odnosu na streptomicin i ampicilin koji su korišćeni u ovom istraživanju (84,27 i 97,59%, redom) (**Slika 44**). Poređenjem ekstrakata može se zaključiti da su metanolni bili najslabiji, dok su etanolni ekstrakti posedovali najistaknutiji potencijal. Svi ekstrakti *E. sibthorpiana* bili su efikasniji (10,69%-35,22%) od pozitivnih kontrola u ovom testu.

Laserpitium ochridanum: SubMIK koncentracije *L. ochridanum* uzoraka testirane su na sposobnost inhibicije produkcije pigmenta piocijanina i rezultati su prikazani na **Slici 45**. Upotrebljene koncentracije ekstrakata bile su dovoljne da redukuju sintezu ovog virulentnog pigmenta. Može se videti da je jača inhibicija produkcije piocijanina bila detektovana za vodeni ekstrakt *L. ochridanum*. U prisustvu ekstrakata ove vrste je bila prisutna značajno niža količina piocijanina (23,46% i 18,07% za etanolni i vodeni ekstrakt, redom), nego u kontrolnom uzorku (141,55%). Testirani ekstrakti su bili bolji u prevenciji sinteze pigmenta u odnosu na korišćene antibiotike, gde se u prisustvu ampicilina odigrao veći nivo produkcije piocijanina (**Slika 45**).

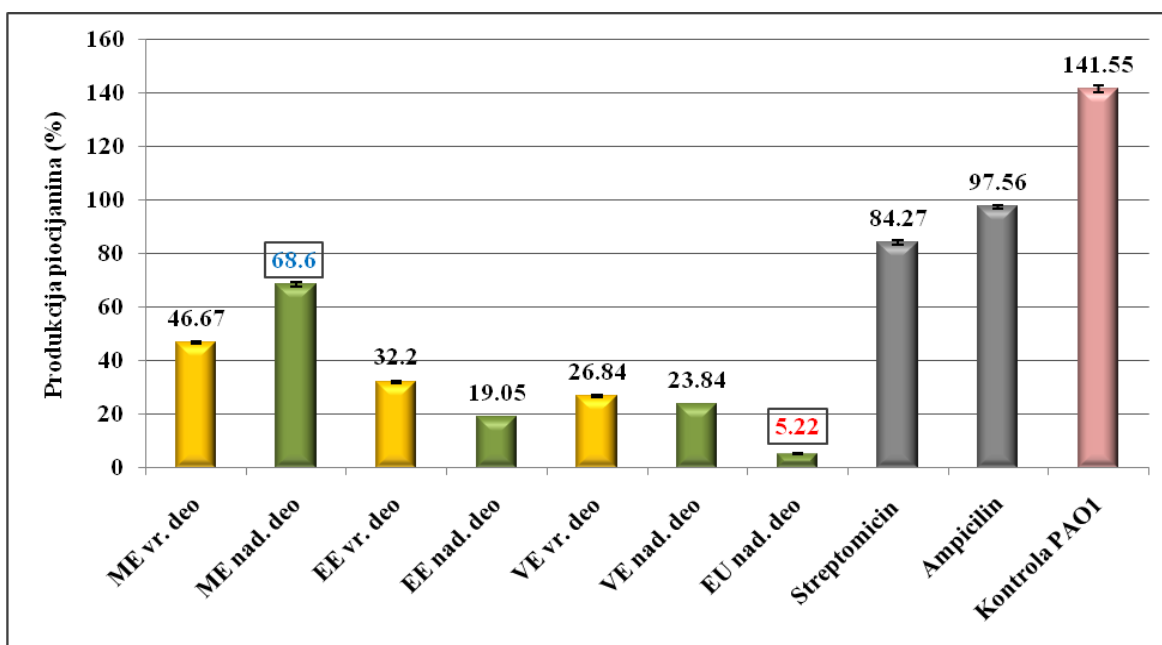
Heracleum orphanidis: Kvantifikacija inhibitorne aktivnosti ekstrakata i etarskog ulja vrste *H. orphanidis* na produkciju piocijanina predstavljena je na **Slici 46**. Dodatak subMIK količina ovih uzoraka uticala je na sintezu pigmenta u izvesnom stepenu, a njegovo prisustvo je bilo zapaženo zelenom obojenošću uzoraka. Na osnovu dobijenih podataka može se videti da se

piocijanin manje produkovao u prisustvu ekstrakata i etarkog ulja *H. orphanidis* (41,07%-102,97%), nego u kontrolnom uzorku (141,55%). Dodatkom etarskog ulja i nekih ekstrakata ove vrste bio je redukovan nivo pigmentacije više nego upotrebom antibiotika. Najjača inhibicija zabeležena je za etarsko ulje i etanolni ekstrakt nadzemnog dela ove biljke. Etarsko ulje *H. orphanidis* (41,03%), etanolni ekstrakti nadzemnog dela i korena vrste (47,20 i 83,40%, redom) i vodeni ekstrakt korena (64,52%) su uspešnije sprečavali sintezu pigmenta od oba sintetička antibiotika (84,27% i 97,56% za streptomycin i ampicilin, redom). Najveća količina piocijanina zabeležena je dodatkom metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena (102,97% i 97,78%, redom).

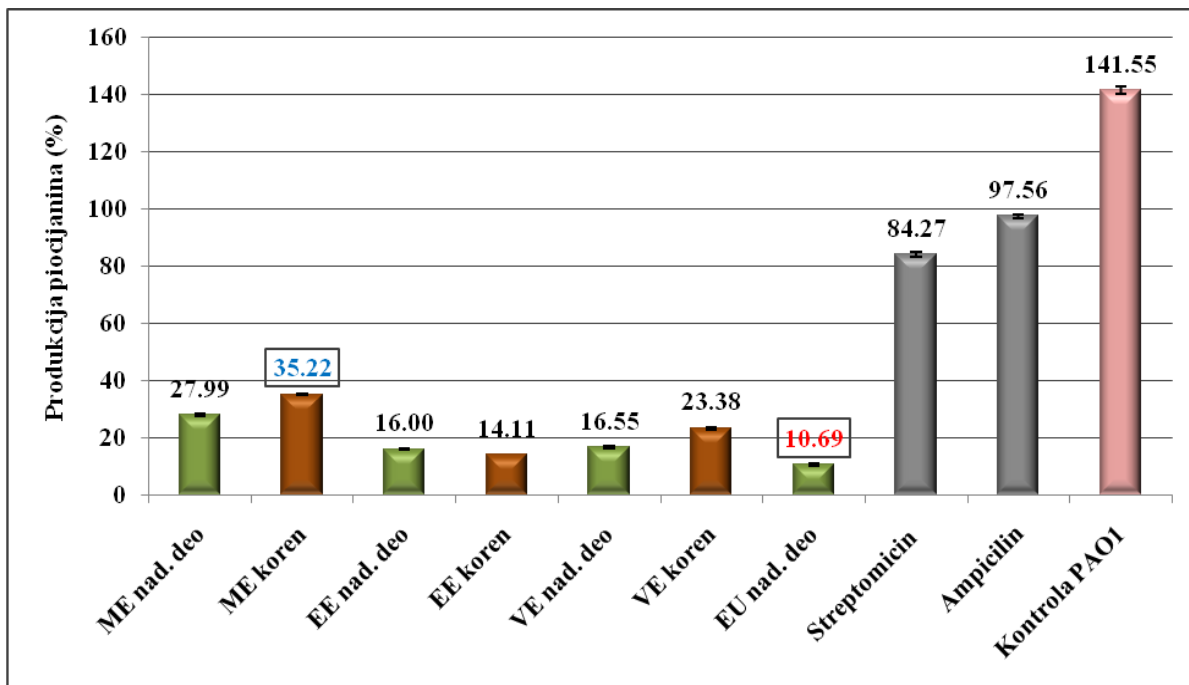
Angelica pancicii: Dobijeni rezultati prikazani na **Slici 47**. predstavljaju potencijal ekstrakata *A. pancicii* koncentracije 0,5 MIK da smanje sintezu piocijanina. Svi uzorci su demonstrirali izvesno inhibitorno dejstvo na produkciju ovog zelenog pigmenta (77,49%-114,59%) u poređenju sa nivoom sinteze piocijanina u kontroli (141,55%). Najveći potencijal pokazao je etanolni ekstrakt nadzemnog dela (77,49%) koji je imao bolju redukcionu sposobnost od streptomicina (84,27%). U odnosu na ampicilin (97,56%), vodeni ekstrakt korena takođe je pokazao jači anti-piocijanin efekat (84,68%). Etanolni i vodeni ekstrakti posedovali su sličan potencijal, veći u poređenju sa metanolnim ekstraktima vrste *A. pancicii*. Nije bila uočena razlika u jačini aktivnosti ekstrakata dobijenih iz nadzemnog dela i korena biljke.

Efekat agenasa u ovom kolorimetrijskom testu prati se preko redukcije zelene pigmentacije uzoraka koja potiče od toksičnog pigmenta piocijanina i poredi se intenzitet boja uzoraka sa obojenošću kontrolnog PAO1 uzorka. Pokazalo se da su 0,5 MIK koncentracije testiranih uzoraka bile dovoljne da efikasno redukuju koncentraciju sintetisanog pigmenta (**Slike 43-47**). Vrsta *E. sibthorpiana* se pokazala kao najefikasnija u anti-piocijanin testu, slede *L. ochridanum*, *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je od testiranih etarskih ulja, ulje vrste *F. macedonica* bilo najsnažnije u inhibiciji sinteze piocijanina (5,22%), zatim ulje *E. sibthorpiana* (10,69%) za koja se ujedno pokazalo da su bili i najjači testirani agensi. Najslabije je bilo etarsko ulje *H. orphanidis* (41,03%). Od ekstrakata je najefikasniji bio etanolni ekstrakt korena *E. sibthorpiana* (14,11%), zatim vodeni ekstrakt nadzemnog dela *L. ochridanum* (18,08%) i etanolni ekstrakt nadzemnog dela *F.*

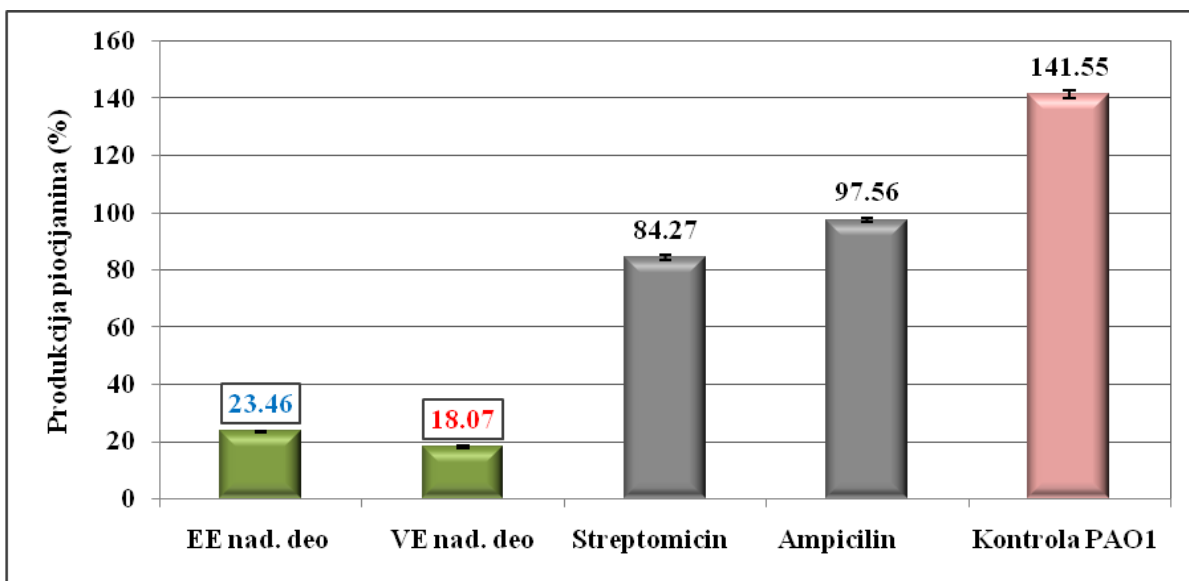
macedonica (19,05%). Najslabiji efekat u sintezi piocijanina pokazali su metanolni ekstrakti nadzemnog dela *A. panicii* (114,59%) i *H. orphanidis* (102,97%), što je bila niža koncentracija sintetisanog pigmenta u odnosu na kontrolu *P. aeruginosa* (141,55%). Sumirajući sve dobijene rezultate, nije uočena značajna razlika u aktivnosti različitih biljnih delova odabranih vrsta. Metanolni ekstrakti svih vrsta bili su najmanje efikasni u sposobnosti inhibicije sinteze piocijanina, dok su etanolni i vodeni imali približno isti intenzitet dejstva. Od sva tri anti-QS testa, korišćeni uzorci analiziranih vrsta su pokazali najbolji efekat u ovom testu, što je dodatno potkrepilo anti-QS sposobnosti i inhibitorni uticaj ovih biljaka na komunikaciju među bakterijama.



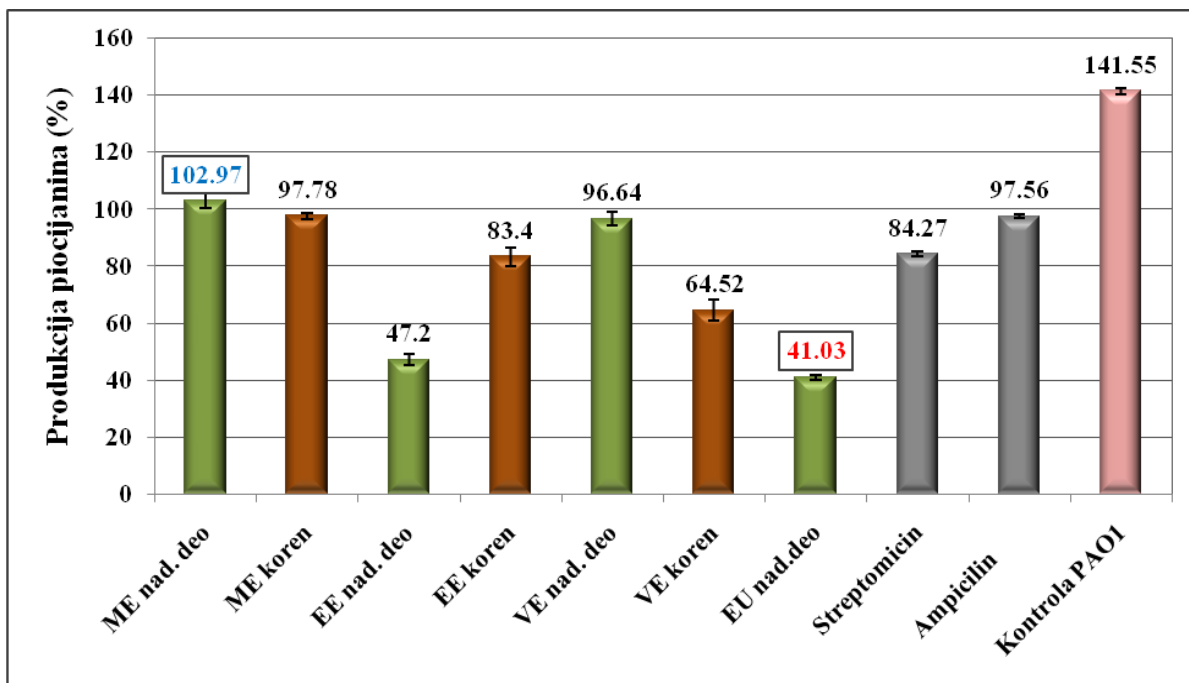
Slika 43. Redukcija produkcije piocijanina *P. aeruginosa* PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka *F. macedonica* i antibiotika



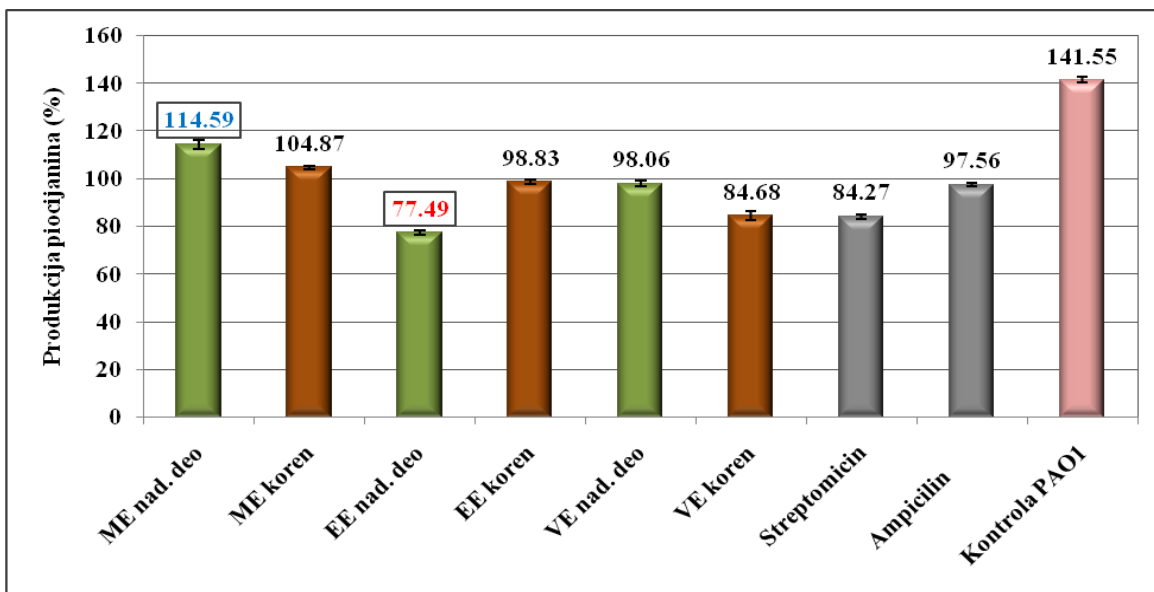
Slika 44. Produkcija pocijanina *P. aeruginosa* PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka *E. sibthorpiana* i antibiotika



Slika 45. Produkcija pocijanina *P. aeruginosa* PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka *L. ochridanum* i antibiotika



Slika 46. Produkcija piocijanina *P. aeruginosa* PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka *H. orphanidis* i antibiotika



Slika 47. Produkcija piocijanina *P. aeruginosa* PAO1 u prisustvu subMIK (mg/mL) uzoraka *A. pancicii* i antibiotika

4.2.3.4. Usporedna diskusija rezultata anti-QS aktivnosti

Deo ovih istraživanja je bio posvećen ispitivanju anti-QS aktivnosti odabranih vrsta porodice Apiaceae. Dobijeni rezultati u ovom radu su od velike važnosti jer predstavljaju prve objavljene podatke o anti-QS dejstvu ovih predstavnika. Razvoj inovativnih anti-infektivnih agenasa bazira se na inhibiciji QS sistema tj. interakciji agensa sa mehanizmom međučelijske komunikacije koji učestvuje u regulaciji i sposobnosti preživljavanja nekih bakterija (Petrović i sar., 2014; Sepahi i sar., 2015; Soković i sar., 2014; Tarighi i Taheri, 2011). *P. aeruginosa* koristi brojne virulentne faktore kao zaštitu od antimikrobnih lekova i imunog odgovora domaćina. Ova bakterija najčešće izaziva oboljenja kod pacijenata nakon operacije i pacijenata koji boluju od kancera (Markou i Apidianakis, 2014; O'Toole i sar., 1998b; Soković i sar., 2014). Njena patogenost zasniva se na adhezivima i membranskim proteinima koji formiranjem biofilma posreduju u vezivanju i kolonizaciji supstrata i odgovorni su za uspešnost invazije bakterije na ćelije domaćina. Pored toga, bakterijski toksini mogu izazvati ozbiljna oštećenja tkiva domaćina (Taylor i Roberts, 2005; Wu i sar., 2008).

Sve je veći broj dokaza da biljke proizvode anti-QS jedinjenja koja, regulišući ekspresiju virulentnih gena, ometaju međučelijsku signalizaciju bakterija (Adonizio i sar., 2006; Bauer i Mathesius, 2004; Teplitski i sar., 2000). Prethodno je pokazano i da biljni ekstrakti poseduju QS inhibitornu aktivnost (Choo i sar. 2006; Chu i sar. 2013; Vatter i sar. 2007). Zbog uspešnih rezultata u dosadašnjim istraživanjima, intenziviran je pronalazak biljaka i sekundarnih metabolita u funkciji prirodnih agenasa u borbi protiv *P. aeruginosa* (Adonizio i sar., 2006; Adonizio i sar., 2008; Al-Hussaini i Mahasneh, 2009; Alvarez i sar., 2012; Khan i sar., 2009; Koh i sar., 2013; Sepahi i sar., 2015). Vrste porodice Apiaceae su u velikoj meri neistražene na posedovanje anti-QS svojstava. Rezultati skrininga subMIK koncentracija testiranih uzoraka odabranih vrsta u ovom radu, pokazali su da su korišćene koncentracije uglavnom ispoljile dejstvo na selektovane virulentne faktore bakterije *P. aeruginosa*. Uočeno je da su se u anti-QS ispitivanju inhibitorni profili testiranih vrsta međusobno dosta razlikovali.

Na osnovu dostupne literatire može se videti da su jedino vrste roda *Angelica* ranije bile podvrgnute ovom vidu ispitivanja. Tako se pokazalo da je među 97 testiranih metanolnih ekstrakata, ekstrakt korena *A. dahurica* bio u grupi sa najjačom anti-QS aktivnošću na *P. aeruginosa* PAO1 i *C. violaceum* CV12472 (Damte i sar., 2013). Inhibitorno dejstvo ekstrakata

korena ove vrste na virulentne determinante *P. aeruginosa* potvrdili su i autori Chong i sar. (2013). Vodeni ekstrakt korena biljke *A. sinensis* takođe je pokazao anti-QS aktivnost na bakterije *P. aeruginosa* PAO1 i *C. violaceum* CV026 (Yeo i Tham, 2012). U analizi ovog rada, oba metanolna ekstrakta *A. panicii* ispoljila su umerenu sposobnost QS inhibicije na sve testirane faktore virulencije *P. aeruginosa* PAO1. Etarska ulja predstavnika porodice Apiaceae kao što su *Ferula asafoetida* i *Dorema aucheri* bila su efikasna u dejstvu na *P. aeruginosa*, ali produkcija piocijanina i biofilma nisu bile pod uticajem etarskog ulja *D. aucheri* (Sepahi i sar, 2015). Slični rezultati su dobijeni i u ovoj disertaciji za etarsko ulje *E. sibthorpina* koje nije pokazalo efekat na smanjenje sinteze biofilma, dok su testirana etarska ulja ostalih vrsta imala slab efekat. S druge strane, sva etarska ulja, uključujući ulje *E. sibthorpiana*, manifestovala su veoma jako anti-piocijanin dejstvo. Među etarskim uljima 21 vrste iz različitih porodica, 4 testirana ulja vrsta iz porodice Apiaceae: *Apium graveolens*, *Foeniculum vulgare*, *Petroselinum crispum* i *Trachyspermum ammi* nisu pokazala anti-QS aktivnost na sojeve *C. violaceum* CV12472 i CVO26 (Khan i sar., 2009). I u našem istraživanju neki ekstrakti nisu imali inhibitorni uticaj na kretanje bakterije *P. aeruginosa*, jer su u njihovom prisustvu boja, izgled i veličina kolonija kao i pojava i promjer flagela ostali nepromenjeni (**Tabela 32-36, Slike 38-42**). Pored etarskog ulja *E. sibthorpiana*, vodeni ekstrakt *L. ochridanum*, etanolni i metanolni ekstrakti *E. sibthorpiana* i *F. macedonica* nisu pokazali anti-biofilm efekat. Etanolni ekstrakti korenova proučavanih vrsta u ovoj studiji su pokazali umereno anti-QS dejstvo, a sličan zaključak za etanolne ekstrakte korenove vrsta *Eryngium aquaticum* i *Foeniculum vulgare* (Apiaceae) imao je i autor Nagy (2010).

Na osnovu rezultata iz **Tabela 32-36**, može se konstatovati da su ekstrakti u ovom radu pokazali umerenu inhibiciju pokretljivosti bakterije *P. aeruginosa*, a dok su etarska ulja odabranih vrsta imala nešto jače dejstvo. Ranije je potvrđeno da se u inicijalnoj fazi formiranja biofilma, kretanje *P. aeruginosa* vrši pomoću specifičnih flagela i pila tipa IV (O'Toole i Kolter, 1998b). Plivajući pokreti kolonije doprinose početnom stadijumu formiranja biofilma ove bakterije (Shrout i sar., 2006). Na taj način kretanje bakterije pomoću ovih struktura igra esencijalnu ulogu u kolonizaciji površine (Verstraeten i sar., 2008). Pokazalo se da furanokumarini ometaju i otežavaju formiranje biofilma kod *P. aeruginosa*, *E. coli* i *S. typhimurium* (Heggens i sar., 2002; Vikram i sar., 2010). Neki kumarinski derivati poseduju antimikrobnu aktivnost (Ojala i sar., 2000; de Souza i sar., 2005), dok drugi pokazuju inhibitorno

dejstvo na virulentne determinante kao što su biofilm i sposobnost kretanja (Lee i sar., 2014; Zeng i sar., 2008). Furanokumarini dihidroksibergamotin i bergamotin ispoljavaju inhibitorno dejstvo na QS mehanizam, tako što utiču na autoinduktorne molekule AI-1 i AI-2 i na taj način ometaju međubakterijsku komunikaciju (Girenavar i sar., 2008). Ovi rezultati potkrepljuju anti-biofilm efekte metanolnih ekstrakata vrsta *H. orphanidis* i *A. pancicii* u kojima je identifikovan najveći broj jedinjenja iz grupe furanokumarina (**Tabele 40 i 41**). Većina naših uzoraka demonstrirala je inhibiciju inicijalne faze formiranja biofilma na dozno zavisani način gde su se efekti razlikovali u zavisnosti od testiranih subMIK koncentracija. Bakterija koristi sposobnost formiranja biofilma koja je kontrolisana putem genske ekspresije, kao faktor rezistencije na antibiotike i zaštitu od imunog sistema domaćina (Soković i sar., 2014). Prethodno je u studiji Gutiérrez-Barranquero i sar. (2015) pokazano da je od 10 analiziranih vrsta bakterija, u prisustvu jedinjenja kumarina, sinteza biofilma značajno bila redukovana kod *P. aeruginosa*, *E. coli*, *V. anguillarum*, *E. tarda* i *S. aureus*. Dodatak kumarina značajno je smanjio formiranje biofilma *P. aeruginosa* PA14, gde se pokazalo da ovo jedinjenje utiče na stvaranje biofilma u fazi sazrevanja, a ne u inicijalnoj fazi. Pošto kumarin nije pokazao antimikrobnu aktivnost u testiranim koncentracijama na *P. aeruginosa*, zaključeno je da je on suprimirao formiranje biofilma nezavisno od uticaja na rast bakterije.

Na osnovu dobijenih vrednosti u ovom radu (**Slike 43-47**), može se zaključiti da je većina testiranih ekstrakata i etarskih ulja bila efikasnija u inhibiciji produkcije pigmenta piocijanina od antibiotika ampilicina i streptomocina. Piocijanin je toksičan, zeleni, pigment koji spada u grupu jedinjenja fenazina i ima ulogu virulentnog faktora bakterije, pa je redukcija njegove sinteze krucijalna za poboljšanje efikasnosti odbrambenog odgovora imunog sistema. Uloga fenazina u formiranju biofilma u fazi sazrevanja je takođe ranije opisana (Ramos i sar., 2010), zato prethodno potvrđen uticaj jedinjenja kumarina na kretanje bakterija u koloniji i sintezu fenazina, može doprineti suzbijanju formiranja biofilma (Gutiérrez-Barranquero i sar. (2015)). Uočeno je da je vodeni ekstrakt *L. ochridanum* imao jaku aktivnost u sprečavanju sinteze ovog pigmenta, ali da pri testiranim subMIK vrednostima nije pokazao redukujući potencijal u sprečavanju pokretljivosti bakterije i formiranja kolonije *P. aeruginosa* (**Tabela 34, Slika 40**). Takođe su zapaženi i oprečni rezultati u aktivnosti etarskog ulja i etanolnog ekstrakta nadzemnog dela *H. orphanidis* u izgledu i veličini kolonija kao i sprečavanja formiranja biofilma (**Tabele 35 i 40**). Iz **Tabela 25 i 40**. se može videti da je antibakterijska aktivnost etarskog ulja ove vrste bila jaka,

dok je anti-biofilm dejstvo ovog ulja bilo najslabije. Ovakvi rezultati mogu se povezati sa mogućnošću postojanja različitih mehanizama delovanja na različite virulentne faktore. U ovom trenutku ne postoji dovoljno informacija o tačnom mehanizmu inhibicije QS komunikacije. Do danas je ponuđeno nekoliko potencijalnih načina dejstava koji se uglavnom baziraju na ometanju QS sistema putem inhibicije biosinteze molekula autoinduktora, njihovoj inaktivaciji ili degradaciji, reakciji sa signalnim receptorima i inhibiciji genetskog regulatornog sistema (Glamočlija i sar., 2015). Razlika u aktivnosti može postojati i zbog kompleksnog hemijskog sastava ekstrakata i etarskih ulja i mogućeg sinergističkog delovanja različitih komponenti, a može sugerisati i na razliku u polarnosti komponenata koje su aktivne u redukciji virulentnosti *P. aeruginosa*. U razmatranje takođe treba uzeti i način dobijanja biljnih ekstrakata i izolovanja etarskih ulja (Adonizio i sar., 2006; Adonizio, 2008; Glamočlija i sar., 2015). Adonizio i sar. (2008) su zaključili da ekstrakti biljaka različito utiču na sintezu biofilma bakterije. U njihovom radu je vodeni ekstrakt *Schefflera actinophylla*, koji prethodno nije pokazao anti-QS potencijal (Adonizio, 2006), korišćen kao negativna kontrola. Među testiranim agensima u ovom radu, vodeni ekstrakti svih vrsta su generalno ispoljili najslabiji anti-QS potencijal. Svi dobijeni podaci o proučavanim vrstama u ovoj disertaciji potkrepljuju upotrebu viših biljaka kao prirodnih anti-infektivnih agenasa i kao prirodnih izvora bogatih anti-QS jedinjenjima.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- ▶ U ovom radu izvršena je kvantitativna i kvalitativna (GC-FID i GC-MS) analiza hemijskog sastava etarskih ulja *F. macedonica*, *E. sibthorpiana*, *L. ochridanum*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Ovde su prvi put prezentovani rezultati fitohemijskog istraživanja etarskih ulja vrsta *F. macedonica* i *H. orphanidis*.
- ▶ Za hemijski sastav etarskih ulja analiziranih vrsta bilo je karakteristično prisustvo monoterpenskih i seskviterpenskih ugljovodonika, njihovih oksidovanih formi, fenilpropanoida, masnih kiselina i njihovih derivata - estara, alkohola i drugih jedinjenja.
- ▶ U sastavu etarskih ulja vršnog i nadzemnog dela vrste *F. macedonica* detektovano je prisustvo velike količine α -pinena (43,10% i 22,78%) i sabinena (26,73% i 15,46%). U etarskom ulju nadzemnog dela *E. sibthorpiana* dominantne komponente su metil eugenol (60,40%), *p*-cimen (11,18%) i α -felandren (10,23%). Etarsko ulje *L. ochridanum* sadrži najveće koncentracije sabinena (22,8%), viridiflorola (14,7%) i α -pinena (11,4%). U etarskom ulju *H. orphanidis* kao najzastupljenija jedinjenja pronađeni su *n*-oktanol (39,57%), *n*-oktil heksanoat (17,62%) i *n*-oktil acetat (14,12%). Glavne komponente etarskog ulja nadzemnog dela *A. pancicii* bile su bornil acetat (8,08%), *n*-oktanol (5,82%), kesan (4,26%) i β -selinen (4,25%).
- ▶ Pomoću sistema HPLC-DAD-ESI-ToF dobijeni su priliminarni rezultati o hemijskom sastavu metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena vrsta *H. orphanidis* i *A. pancicii* koji su prvi put predstavljeni u ovoj disertaciji.
- ▶ Kumarini su bili najzastupljenija grupa jedinjenja metanolnih ekstrakata nadzemnog dela i korena *H. orphanidis* i *A. pancicii*. U nadzemnom delu *H. orphanidis* identifikovano je 18 jedinjenja, dok je u ekstraktu korena nađeno 25 komponenti, gde je pored furanokumarina zabeleženo prisustvo jedne masne kiseline, falkarinona, farnezilacetona i 5-sinapoil-kininske kiseline. U nadzemnom delu *A. pancicii* eksperimentalno su determinisana 52, a u korenu 53 jedinjenja. Pored kumarina, u analiziranim uzorcima ove vrste nađeni su i hromoni, halkoni, poliacetileni, benzofuranski derivati, masna kiselina i masni alkohol.

- ▶ Iz ekstrakata korena *A. pancicii* izolovano je i identifikovano ukupno sedam jedinjenja, od toga šest poznatih furanokumarina: *t*-OMe-oksipeucedanin hidrat, oksipeucedanin hidrat, oksipeucedanin, saksalin, ostrutol, izoimperatorin i jedno novo jedinjenje iz klase hromona-acetilknidimol A (-5,7-dihidroksi-6-(2'-Z-butenil-5'-acetoksi)-2-metil hromon) koji do sada nije izolovan.
- ▶ Etarska ulja, metanolni, etanolni i vodeni ekstrakti analiziranih vrsta, kao i referentna jedinjenja, u ovom radu su bili podvrgnuti određivanju *in vitro* antioksidativne, antimikrobne i anti-QS aktivnosti.
- ▶ U ovom istraživanju kolorimetrijski su određeni ukupni sadržaji fenola i flavonoida ekstrakata i to su prvi podaci objavljeni za proučavane vrste. Najveća zastupljenost fenola bila je registrovana u etanolnom ekstraktu nadzemnog dela *A. pancicii*. Kod *F. macedonica*, vršni deo je posedovao veću ukupnu koncentraciju fenola od nadzemnog dela, dok je njihova količina kod ostalih vrsta bila veća u nadzemnom delu nego u korenu. Najveću vrednost ukupnog sadržaja fenola imale su vrste *L. ochridanum* i *A. pancicii*, dok je u uzorcima ostalih vrsta izmerena približna količina fenolnih jedinjenja.
- ▶ Najveći ukupni sadržaj flavonoida određen je u etanolnom ekstraktu *L. ochridanum*. U poređnom analizom zabeležena je najveća koncentracija flavonoida u svim ekstraktima *L. ochridanum*, kao i metanolnim i etanolnim ekstraktima vrste *A. pancicii*. Veća ukupna koncentracija flavonoida je bila detektovana u ekstraktima vršnog dela *F. macedonica* i nadzemnog dela ostalih vrsta.
- ▶ U svim korišćenim testovima za određivanje antioksidativne aktivnosti se pokazalo da je sposobnost uzoraka da neutrališu slobodne radikale bila dozna zavisna. Prema DPPH rezultatima, jačine antioksidativne aktivnosti odabranih vrsta predstavljene su u sledećem opadajućem nizu: *L. ochridanum* > *A. pancicii* > *F. macedonica* > *H. orphanidis* > *E. sibthorpiana*. Najniže IC₅₀ koncentracije imali su ekstrakti vrste *L. ochridanum*. Zapaženo je da su se metanolni ekstrakti izdvojili kao najjači antioksidansi, da su uzorci vršnog dela *F. macedonica* bili efikasniji u odnosu na uzorke nadzemnog dela biljke, dok je kod ostalih vrsta nadzemni deo bio efikasniji u odnosu na koren. Testirana etarska ulja su ispoljila slabije dejstvo i odnosu na ekstrakte. Ekstrakti *L. ochridanum* su imali dejstvo koje je poredivo sa aktivnošću standarda BHA, BHT i vitamina C.

- ▶ Rezultati ABTS analiza pokazali su da je etarsko ulje *E. sibthorpiana* posedovalo najjaču antioksidativnu aktivnost. Vodeni ekstrakt nadzemnog dela *L. ochridanum* izdvojio se kao najefikasniji testirani ekstrakt. U poređenju sa standardom kvercetin hidratom, ovi uzorci su ispoljili neznatno slabiju aktivnost. Prema izmerenim vrednostima u ovom testu, najjače antioksidativnu efikasnost imali su svi ekstrakti *L. ochridanum*, vršni deo *F. macedonica*, nadzemni deo *E. sibthorpiana* i *A. pancicii*.
- ▶ Uoredna analiza rezultata testa β -karoten/linolna kiselina pokazala je da je *L. ochridanum* bila najpotentnija vrsta u sprečavanju izbeljivanja β -karotena, zatim ekstrakti nadzemnog dela *A. pancicii* i *F. macedonica*. Najefikasniji u ovom testu bio je etanolni ekstrakt nadzemnog dela *A. pancicii*, iako upola slabiji u odnosu na BHA. Vršni deo *F. macedonica* je pokazao bolji efekat u sprečavanja obezbojavanja β -karotena od nadzemnog dela biljke, dok je kod ostalih vrsta nadzemni deo bio jači od korena. Metanolni ekstrakti su se i u ovoj analizi izdvojili kao najaktivniji uzorci.
- ▶ Metodom mikrodilucije određene su MIK, MBK i MFK vrednosti i determinisan je antimikrobni potencijal analiziranih biljaka protiv 16 patogenih mikroorganizama. Testirani uzorci su ispoljili umereno dejstvo u poređenju sa antibiotikom streptomycinom, pri čemu su etarska ulja imala jaču aktivnost u odnosu na ekstrakte od kojih su se kao najjači izdvojili metanolni i etanolni ekstrakt korena *A. pancicii*. Etarsko ulje vrste *H. orphanidis* je posedovalo najintenzivnije dejstvo među testiranim uljima. *B. cereus* i *S. aureus* su bile najosetljivije bakterije, a najrezistentnije *M. flavus*, *L. monocytigenes*, *E. coli* i *P. aeruginosa*. Metanolni i etanolni ekstrakti korena *A. pancicii* i etarsko ulje *H. orphanidis* su bili aktivni protiv bakterija u nivou efikasnosti antibiotika streptomicina.
- ▶ Uoredni pregled rezultata antifungalne aktivnosti implicira na umerenu do slabu efikasnost ekstrakata i umerenu do jaku efikasnost etarskih ulja analiziranih vrsta, gde je najpotentnije bilo etarsko ulje *L. ochridanum*. Kao najjači antifungalni agensi među ekstraktima pokazali su se metanolni ekstrakt korena *H. orphanidis* i vršnog dela *F. macedonica* i etanolni ekstrakt korena *A. pancicii*. Etanolni ekstrakti su bili najbolji antifungalni agensi. Etarsko ulje *L. ochridanum* ispoljilo je sličnu inhibitornu aktivnost na gljive kao sintetički antimikotik. Najjače dejstvo proučavanih vrsta zabeleženo je protiv *P. ochrocloron*, *A. versicolor* i *T. viride*. Najotpornije gljive su bile *A. niger* i *A. ochraceus*.

- ▶ Pri određivanju anti-QS aktivnosti odabranih vrsta se pokazalo da su korišćene koncentracije ekstrakata i etarskih ulja bile dovoljne da ispolje inhibitorno dejstvo na neku od selektovanih QS determinanti bakterije *P. aeruginosa*. Boja kolonija se u prisustvu uzoraka kretala od providno bele do zelene. Razlika u jačini dejstva biljnih delova bila je zabeležena samo kod vrsta *H. orphanidis* i *A. pancicii* gde su ekstrakti korena bili efikasniji od ekstrakata nadzemnog dela biljke. Najjači testirani agens bilo je etarsko ulje *E. sibthorpiana*, a među ekstraktima su u inhibiciji svih testiranih parametara (boja, izgled i prečnik kolonije; prisustvo, izgled i dijametar flagela) bili najjači etanolni i vodeni ekstrakti korena *A. pancicii* koji su pokazali bolje dejstvo u odnosu na aktivnost streptomicina i ampicilina.
- ▶ SubMIK količine pojedinih uzoraka su u određenoj meri redukovale sintezu biofilma *P. aeruginosa*. Odabrane vrste su pokazale značajne razlike u ispoljavanju anti-biofilm aktivnosti, koja je predstavljena u sledećem opadajućem nizu: *A. pancicii* > *H. orphanidis* > *L. ochridanum* > *E. sibthorpiana* > *F. macedonica*. Među ekstraktima, najefikasniji u inhibiciji sinteze biofilma u odnosu na kontolu bio je etanolni ekstrakt korena *A. pancicii*, dok je među etarskim uljima to bilo ulje *H. orphanidis*.
- ▶ U određivanju anti-QS aktivnosti, najizraženiji je bio uticaj 0,5 MIK koncentracije uzoraka na inhibiciju sinteze piocijanina. U ovom eksperimentu se među ispitivanim vrstama kao najefikasnija pokazala *E. sibthorpiana*, zatim *L. ochridanum*, *F. macedonica*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*. Naj snažniju inhibiciju sinteze ovog pigmenta imala su etarska ulja *F. macedonica* i *E. sibthorpiana*. Najefikasniji ekstrakti bili su etanolni ekstrakt korena *E. sibthorpiana*, vodeni ekstrakt nadzemnog dela *L. ochridanum* i etanolni ekstrakt nadzemnog dela *F. macedonica*. Etanolni i vodeni ekstrakti su posedovali bolje dejstvo od metanolnih ekstrakata u inhibicije sinteze piocijanina. Od sva tri anti-QS testa, proučavane biljke imale su najbolji efekat u ovom testu, što je potkrepilo njihova anti-QS svojstva i inhibitorni uticaj na međucelijsku komunikaciju bakterije *P. aeruginosa*.
- ▶ Dobijeni rezultati o hemijskom sastavu i biološkoj aktivnosti pet odabranih predstavnika familije Apiaceae (*F. macedonica*, *E. sibthorpiana*, *L. ochridanum*, *H. orphanidis* i *A. pancicii*) predstavljaju solidnu osnovu za dalja aplikativna istraživanja koja bi mogla da ukažu na potencijalni značaj ovih vrsta kao prirodnih prehrambenih i lekovitih sirovina.

6. LITERATURA

- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corp., Carol Stream, Illinois, USA.
- Adcock, J. W., Betts, T. J. (1974). A chemotaxonomic survey of essential oil constituents in the tribe *Laserpitieae* (fam. Umbelliferae). *Planta Medica*, 26, 52-64.
- Adonizio, A. L., Downum, K., Bennett, B. C., Mathe, K. (2006). Anti-quorum sensing activity of medicinal plants in southern Florida. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 427-435.
- Adonizio, A. L. (2008). Anti-quorum sensing agents from South Florida medicinal plants and their attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity. FIU Electronic Theses and Dissertations, 13, 14-21.
- Agnihotri, V. K., Thappa, R. K., Meena, B., Kapahi, B. K., Saxena, R. K., Qazi, G. N., Agarwal, S.G. (2004). Essential oil composition of aerial parts of *Angelica glauca* growing wild in North-West Himalaya (India). *Phytochemistry*, 65, 2411-2413.
- Ahmad, V. U., Jassbi, A. R., Pannahi, M. S. C. (1999). Analysis of the essential oil of *Echinophora sibthorpiana* Guss. by means of GC, GC/MS and ¹³C-NMR techniques. *Journal of Essential Oil Research*, 11, 107-108.
- Akgül, A., Chialva, F. (1989). Constituents of the essential oil of *Echinophora tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 4, 67-68.
- Akihisa, T., Tokuda, H., Hasegawa, D., Ukiya, M., Kimura, Y., Enjo, F., Suzuki, T., Nishino, H. (2006). Chalcones and other compounds from the exudates of *Angelica keiskei* and their cancer chemopreventive effects. *Journal of Natural Products*, 69, 38-42.
- Akihisa, T., Tokuda, H., Ukiya, M., Iizuka, M., Schneider, S., Ogasawara, K., Mukainaka, T., Iwatsuki, K., Suzuki, T., Nishino, H. (2003). Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudate of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects. *Cancer Letters*, 201, 133-137.
- Al-Bakri, A. G., Othman, G., Afifi, F. U. (2010). Determination of the antibiofilm, anti-adhesive, and anti-MRSA activities of seven *Salvia* species, *Pharmacognosy Magazine*, 6(24), 264-270.
- Al-Hussaini, R., Mahasneh, A. M. (2009). Microbial growth and quorum sensing antagonist activities of herbal plants extrats. *Molecules*, 14, 3425-3435.

- Ali, A., Tabanca, N., Ozek, G., Ozek, T., Aytac, Z., Bernier, U. R., Agramonte, N. M., Başer K. H. C., Khan. I. A. (2015). Essential Oils of *Echinophora lamondiana* (Apiales: Umbelliferae): A relationship between chemical profile and biting deterrence and larvicidal activity against mosquitoes (Diptera: Culicidae), *Journal of Medical Entomology*, 52, 93-100.
- Amadi, E., Uzoaru, P., Nwaziri, A., Iroha, I. (2013). Antibiotic resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Enugu and Abakaliki, Nigeria. *The Internet Journal of Infectious Diseases*, 7(1), 9474.
- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T., Tonogai, Y. (2002). Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive, *Food Chemistry*, 77(1), 47-56.
- Amalaradjou, M. A. R., Venkitanarayanan, K. (2011). Effect of trans-cinnamaldehyde on inhibition and inactivation of *Cronobacter sakazakii* biofilm on abiotic surfaces. *Journal of Food Protection*, 74(2), 200-208.
- Ameen, B. A. H. (2014). Phytochemical study and cytotoxic activity of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss, from Kurdistan-region of Iraq. *International Journal of Innovative Research in Advanced Engineering*, 1, 2349-2163.
- Amin, G. (2008). Popular medicinal plants of Iran. Tehran University of Medical Sciences Press, Tehran, str. 130.
- Amirghofran, Z., Bahmani, M., Azadmehr A., Javidnia, K., Miri, R. (2009). Immunomodulatory activities of various medicinal plant extracts: effects on human lymphocytes apoptosis, *Immunological Investigations*, 38, 181-192.
- Amponsah, K. I., Fleischer, C. T., Dickson, A. R., Annan, K., Thoss, V. (2013). Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activity of furanocoumarins and sterolin from the stem bark of *Ficus exasperate* Vahl (Moraceae). *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2, 880-887.
- Andreev, N. (1984). *Angelica pancicii* Vand. U: Red Data Book of the People's Republic of Bulgaria (prvo izdanje). Velčev, V. (uredio). Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, str. 266.
- Appendino, G., Cravotto, G., Nano, G. M. (1993). Sesquiterpene lactones from *Laserpitium gallicum*. *Phytochemistry*, 33, 883-886.

- Appendino, G., Valle, G. M., Gariboldi, P. (1987). Sesquiterpene lactols from *Laserpitium halleri*. *Phytochemistry*, 26, 1755-1757.
- Asgarpanah, J., Mehrabani, D. G., Ahmadi, M., Ranjbar, R., Ardebily, S.-A. M. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer. *A review Journal of Medicinal Plants Research*, 6(10), 1813-1820.
- Asghari, G. R., Sajjadi, S. E., Sadraei, H., Yaghobi, K. H. (2003). Essential oil constituents of *Echinophora platyloba* DC. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 185-186.
- Avijgan, M., Hafizi, M., Saadat, M., Nilforoushzadeh, M. A. (2006). Antifungal effect of *Echinophora platyloba*'s extract against *Candida albicans*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 285-289.
- Avijgan, M., Mirzadeh, F., Nia, E. A. (2012). The comparative study of anti-fungal effect of pharmaceutical products containing hydroalcoholic extract of *Echinophora platyloba* DC and fluconazole in women with chronic recurrent vaginitis caused by *Candida albicans*. *Journal of Research in Medical Sciences*, 1, 103-107.
- Avramenko, L. G., Nikonov, G. K. (1971). Saxalin, a new furocoumarin from *Angelica saxatilis* roots. *Khimija Prirodnikh Soyedineniy*, 7, 830-831.
- Baba, K., Matsuyama, Y., Fukumoto, M., Kozawa, M. (1983). Chemical studies of *Angelica ursina* Maxim. *Yakugaku Zasshi*, 103, 1091-1095.
- Baba, K., Matsuyama, Y., Ishida T., Inoue, M., Kozawa, M. (1982). Studies on coumarins from the root of *Angelica pubescens* Maxim. V. Stereochemistry of angelols A-H. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 30, 2036-2044.
- Baba, K., Nakata, K., Taniguchi, M., Kido, T., Kozawa, M. (1990). Chemical components of *Angelica keiskei*. Part 7. Chalcones from *Angelica keiskei*. *Phytochemistry*, 29, 3907-3910.
- Baba, K., Kawanishi, H., Taniguchi, M., Kozawa, M. (1994). Chromone glucoside from *Cnidium japonicum*. *Phytochemistry*, 35, 221-225.
- Baek, N. I., Ahn, E. M., Kim, H. Y., Park, Y. D. (2000). Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica*. *Archives of Pharmacal Research*, 23, 467-470.
- Bai, A. J., Rai, V. R. (2014). Quorum sensing inhibitory and anti-biofilm activity of essential oils and their *in vivo* efficacy in food systems. *Food Biotechnology*, 28(3), 269-292.

- Bandopadhyay, M., Seshadri, T. R. (1970). Components of *Heracleum candicans*. *Indian Journal of Chemistry*, 8(9), 855-856.
- Barnes, B. J., Wiederhold, N. P., Micek, S. T., Polish, L. B., Ritchie, D. J. (2003). *Enterobacter cloacae ventriculitis* successfully treated with cefepime and gentamicin: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy*, 23(4), 537-542.
- Başer, K. H. C., Erdemgil, F. Z., Özek, T. (1994). Essential oil of *Echinophora tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin. *Journal of Essential Oil Research*, 6, 399-400.
- Başer, K. H. C., Kurkcuoglu, M., Malyer, H., Bicakci, A. (1998). Essential oil of six *Echinophora* species from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 10, 345-351.
- Başer, K. H. C., Duman, H. (1997). Composition of the essential oil of *Laserpitium petrophilum* Boiss. et Heldr. *Journal of Essential Oil Research*, 9, 707-708.
- Başer, K. H. C., Demirci, B., Ozek, T., Akalin, E., Ozhatay, N. (2002). Micro-distilled volatile compounds from *Ferulago* species growing in Western Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 40, 466-471.
- Başer, K. H. C., Biçakçi, A., Malyer, H. (2000). Composition of the essential oil of *Echinophora lamondiana* B. Yildiz et Z. Bahçecioglu. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 147-148.
- Basile, A., Sorbo, S., Spadaro, V., Bruno, M., Maggio, A., Faraone, N., Rosselli, S. (2009). Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae). *Molecules*, 14, 939-952.
- Bassler, B. L. (1999). How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, 2, 582-587.
- Batzing, B. L. (2001). *Microbiology an introduction*. State University Collage of New York at Cortland, New York, USA.
- Bauer, W. D., Mathesius, U. (2004). Plant responses to bacterial quorum sensing signals. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(4), 429-433.
- Baytop, T. (1994). *Turkish Plant Names*. Institution of Atatürk Culture, Turkish Language Institution, Ankara, str. 578
- Beck, J. J., Chou, S.-C. (2007). The structural diversity of phthalides from the Apiaceae. *Journal of Natural Products*, 70, 891-900.
- Belenovskaya, L. M., Sinitskii, V. S., Tumbaa, H. (1977). 7-Isopentenylcoumarin from *Heracleum dissectum*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 4, 574.

- Berger, R. G. (2007). *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer, Science & Business Media, Heidelberg, Germany.
- Bille, J., Doyle, M. P. (1991). *Listeria and Erysipelotrix*. U: *Manual of clinic microbiology* (peto izdanje). Balows, A., Herrmann, L. K., Isenberg, D. K., Shadomy, J. H. (uredili). American Society for Microbiology, Washington D. C., str. 287-295.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*, 1199-1200.
- Bohusch, R. (2014). *Biological activities of essential oils: An update*. Magistra der Pharmazie, Diplomstudium Pharmazie, UniStG, Wien, Austria.
- Booth, C. (1971). *Fungal culture media*. U: *Methods in microbiology* (četvrto izdanje). Norris, J. R., Ribbons, D. W. (uredili). Academic Press, London.
- Bošković, A. (2009). *Parametri oksidativnog stresa i ateroskleroza*. Seminarski rad, Univerzitet u Beogradu.
- Breed, R. S. (1957). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (sedmo izdanje). Murray, E. G. D., Smith, N. R. (uredili). Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
- Britton, G. (1983). *The biochemistry of natural pigments*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Brković, L. D., Čomić, Lj., Solujić-Sukdolak, S. (2006). Antibacterial activity of some plants from family Apiaceae in relation to selected phytopathogenic bacteria. *Kragujevac Journal of Science*, *28*, 65-72.
- Bruneton, J. (1996). *Phytochimie et de pharmacognosie, Technique and documentation lavoisier*, str. 278.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, *94*, 223- 253.
- Caia, Y., Luob, Q., Sunc, M., Corkea, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, *74*, 2157-2184.
- Cakilcioglu, U., Turkoglu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, *132*, 165-175.
- Camara, M., Williams, P., Hardman, A. (2002). Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk. *Lancet Infectious Diseases*, *2*, 667-676.

- Carbonnier, J., Molho, D. (1982). Furocoumarins in *Archangelica officinalis* and *Angelica silvestris*. Distribution of 5-beta-cyclolavandulyloxy-psoralen in the genus *Angelica*. *Planta Medica*, *44*, 162-165.
- Cecchini, C., Coman, M. M., Cresci, A., Tirillini, B., Cristalli, G., Papa, F., Sagratini, G., Vittoria, S., Maggi, F. (2010). Essential oil from fruits and roots of *Ferulago campestris* (Besser) Grecescu (Apiaceae): composition and antioxidant and anti-*Candida* activity. *Flavour and Fragrance Journal*, *25*, 493-502.
- Celik, A., Arslan, I., Herken, E. N., Ermis, A. (2013). Constituents, oxidant-antioxidant profile, and antimicrobial capacity of the essential oil obtained from *Ferulago sandrasica* Peşmen and Quézel. *International Journal of Food Properties*, *16*, 1655-1662.
- Chacko, S., Singh, O. V., Sethuraman, M. G., George, V. (2001). Coumarins from *Heracleum candolleianum*. *Indian Drugs*, *38*(11), 594-596.
- Chalchat, J. C., Özcan, M. M., Figueredo, G., Chalard P. (2011). The effect of harvest years on chemical composition of essential oil of pickling herb (*Echinophora tenuifolia* subsp. *sibthorpiana*) leaves used as medicinal plant. *Acta Botanica Hungarica*, *53*, 73-77.
- Chang, K., Anderson, D., Dan, A. (2009). Inhibiting biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*: A two-pronged attack. *Young Scientists Journal*, *2*(7), 8-13.
- Chen, Q., Li, P., He, J., Zhang, Z., Liu, J. (2008). Supercritical fluid extraction for identification and determination of volatile metabolites from *Angelica dahurica* by GC-MS. *Journal of Separation Science*, *31*, 3218-3224.
- Chen, Y. F., Tsai, H. Y., Wu, T. S. (1995). Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. *Planta Medica*, *61*, 2-8.
- Chen, S. W., Min, L., Li, W. J., Kong, W. X., Li, J. F., Zhang, Y. J. (2004). The effects of angelica essential oil in three murine tests of anxiety. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, *79*, 377-382.
- Chen, Y. L., Lee, C. Y., Huang, K. H., Kuan, Y. H., Chen, M. (2015). Prescription patterns of chinese herbal products for patients with sleep disorder and major depressive disorder in Taiwan. *Journal of Ethnopharmacology*, *171*, 307-316.
- Chevolleau, S., Mallet, F. J., Ucciani, E., Gamisans, J., Gruber, M. (1992). Antioxidant activity of laeves of some mediterranean plants. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, *69*, 1269-1271.

- Chi, H. J. (1975). Bisabolangelone from *Angelica spp.* *Yakhakhoe Chi*, 19, 115-117.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., Lugtenberg, B. J. J. (2013). Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist*, 157, 503-523.
- Chizzola, R. (2007). Composition of the essential oil from *Laserpitium gallicum* grown in the wild in southern France. *Pharmaceutical Biology*, 45, 182-184.
- Chizzola, R., Novak, J., Franz, C. (1999). Fruit oil of *Laserpitium siler* L. grown in France. *Journal of Essential Oil Research*, 11, 197-198.
- Chmielewski, R. A. N., Frank, J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(1), 22-32.
- Choi, Y. K., Cho, G-S., Hwang, S., Kim, B. W., Lim, J. H., Lee, J-C., Kim, H. C., Kim, W-K., Kim, Y. S. (2010). Methyl eugenol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation. *Free Radical Research*, 44, 925-935.
- Chong, Y. M., Yin, W. F., Chan, K. G. (2013). The discovery of *Angelica dahurica* roots extracts exhibiting anti-quorum sensing properties. *Planta Medica*, 10, 79-PL34.
- Choo, J. H., Rukayadi, Y., Hwang, J. K. (2006). Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. *Letters of Applied Microbiology*, 42, 637-641.
- Chopra, A., Kaur, M., Navpreet, D., Lalit, A., (2015). A review of chromone-biologically active pharmacophores. *Journal of Harmonal Research in Pharmacy*, 4(2), 162-172.
- Christensen, P. L., Brandt, K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 683-693
- Chu, W., Zhou, S., Jiang, Y., Zhu, W., Zhuang, X., Fu, J. (2013). Effect of traditional Chinese herbal medicine with antiquorum sensing activity on *Pseudomonas aeruginosa*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 7 pages.
- Circosta, C., De Pasquale, Ri., Palumbo, D. R., Samperi, S., Occhiuto, F. (2006). Estrogenic activity of standardized extract of *Angelica sinensis*. *Phytotherapy Research*, 20, 665-669.
- Cisowski, W. (1985). Furanocoumarins of *Angelica silvestris* L. roots. *Polish Journal of Chemistry*, 59, 1149-1152.

- Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically (2009). Approved Standards (osmo izdanje). Clinically and Laboratory Standards Institute, CLSI publication, Wayne, M07-A8.
- Çoruh, N., Celep, A. G. S., Özgökçe, F. (2007). Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food Chemistry*, *100*, 1237-1242.
- Costerton, J. W. (1999). Introduction to biofilms (discussion). *International Journal of Antimicrobial Agents*, *11*, 217-221.
- Costerton, J. W. Stewart, P. S. Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, *284*(5418), 1318-1322.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., De Beer, D., Caldwell, D., Korber, D., James. G. (1994). Biofilms, the customized microniche (minireview). *Journal of Bacteriology*, *176*, 2137-2142.
- Costerton, W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology*, *49*, 711-745.
- Crowden, R. K., Harborne, J. B., Heywood, V. H. (1969). Chemosystematics of the Umbelliferae - a general survey. *Phytochemistry*, *8*, 1963-1984.
- Crozier, A. (2006). Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. Vliford, M. N. C., Ashihara, H. (uredili). Blackwell publishing ltd.
- Cui, Q., Zhang, Y., Wang, N., Lan, S. (2011). Optimization of supercritical carbon dioxide extraction technology of *Angelica dahurica* by uniform design and GC×GC/TOF MS analysis of extracts. *Zhong cheng Yao*, *33*, 1260-1262.
- da Silva, A. C. R., Lopes, P. M., de Azevedo, M. M. B., Costa, D. C. M., Alviano, C. S., Alviano, D. S. (2012). Biological activities of α -pinene and β -pinene enantiomers. *Molecules*, *17*(6), 6305-6316.
- da Silva-Rocha, W. P., Lemos, V. L. D. B., Svidizisnki, T. I. E., Milan, E. P., Chaves, G. M., (2014). *Candida* species distribution, genotyping and virulence factors of *Candida albicans* isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients of two geographic regions of Brazil. *BMC Oral Health*, **14**, 20.

- Dall'Acqua, S., Maggi, F., Minesso, P., Salvagno, M., Papa, F., Vittori, S., Innocenti, G. (2010). Identification of non-alkaloid acetylcholinesterase inhibitors from *Ferulago campestris* (Besser) Grecescu (Apiaceae). *Fitoterapia*, 81, 1208-1212.
- Damte, D., Gebru, E., Lee, S.-J., Suh, J.-W., Park, S.-C. (2013). Evaluation of anti-quorum sensing activity of 97 indigenous plant extracts from Korea through bioreporter bacterial strains *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 5, 042-046.
- Daniels, R., De Vos, D. E., Desair, J., Raedschelders, G., Luyten, E., Rosemeyer, V., Verreth, C., Schoeters, E., Vanderleyden, J. I., Michiles, J. (2002). The *cin* quorum sensing locus of *Rhizobium etil* CNPAF512 affects growth and symbiotic nitrogen fixation. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 462-468.
- Daouk, K. D., Dagher, M. S., Sattout, J. E. (1995). Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. *Journal of Food Protection*, 58, 1147-1149.
- Dash, S., Nath, L. K., Bhise, S., Bhuyan, N. (2005). Antioxidant and antimicrobial activities of *Heracleum nepalense* D Don root. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 4(1), 341-347.
- Dash, S., Nath, L. K., Bhise, S., Kar, P., Bhattacharya, S. (2006). Stimulation of immune function activity by the alcoholic root extract of *Heracleum nepalense* D. Don. *Indian Journal of Pharmacology*, 38, 336-640.
- Dashek, W. V. (2006). Biomolecules II: Biologically important molecules. U: Plant cell biology. Dashek, W. V., Harrison, M. (uredili). Science Publishers, Enfield, NH, USA, str. 76-106.
- Dastan, D., Salehi, P., Maroofi, H. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities on *Laserpitium carduchorum* Hedge & Lamond essential oil and extracts during vary growing stages. *Chemistry & Biodiversity*, doi: 10.1002/cbdv.201600087.
- Davey, M. E., O'Toole, G. A. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 847-867.
- De Kievit, T. R. (2009). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environmental Microbiology*, 11, 279-288.
- de Souza, S. M., Monache, F. D., Smânia, A. Jr. (2005). Antibacterial activity of coumarins. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(9-10), 693-700.

- de Vries, G. A., Cormane, R. H. (1969). A study on the possible relationships between certain morphological and physiological properties of *Aspergillus fumigatus* Fres. and its presence in, or on, human and animal (pulmonary) tissue. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, 39(3), 241-253.
- Deghirmencioghlu, N., Göçmen, D., Daghdelen, A., Daghdelen, F. (2005). Influence of tarhana herb (*Echinophora sibthorpiana*) on fermentation of tarhana, Turkish traditional fermented food. *Food Technology and Biotechnology*, 43(2), 175-179.
- Delaram, M., Kheiri, S., Hodjati, M. R. (2011). Comparing the effects of *Echinophora platyloba*, fennel and placebo on pre-menstrual syndrome. *Journal of Reproduction & Infertility*, 12, 221-226.
- Delaram, M., Sadeghiyan, Z. (2010). The effect of *Echinophora platyloba* extract on primary of dysmenorrhea. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 13, 61-67.
- Della Loggia, R. (2000). Pharmacognosy of medicinal plants. Proceedings of the I conference on medicinal and aromatic plants of Southeast European countries and IV meeting, Days of Medicinal Plants, Aranđelovac, Srbija, str. 11-14.
- Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Gazouli, M., Tan, K., Economakis, C. (2000). Chemical analysis and antimicrobial studies on three species of *Ferulago* from Greece. *Planta Medica*, 66, 560-563.
- Demirci, S., Özkan, E. E. (2014). Ethnobotanical studies of some Apiaceae plants in Kahramanmaraş and a review of their phytochemical studies. *Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University*, 44(2), 241-250.
- Demirci, F., Iscan, G., Guven, K., Kirimer, N., Demirci, B., Başer, K. H. C. (2000). Antimicrobial activities of *Ferulago* essential oils. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55, 886-889.
- Derakhshan, S., Sattari, M., Bigdeli, M. (2010). Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid integrity of *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacognosy Magazine*, 6(21), 57-61.
- Đermanović, M. (1990). Hemijsko ispitivanje biljaka iz roda *Laserpitium* L. (Umbelliferae). Doktorska disertacija, Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, str. 1-92.

- Đermanović, M., Stefanović, M., Đermanović, V., Milovanović, M. (1996). Structure elucidation of the sesquiterpene lactones from plant species *Laserpitium latifolium* L. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 3, 3-10.
- Dewick, P. M. (2009). Medicinal natural products: a biosynthetic approach (treće izdanje). John Wiley & Sons Ltd., New York, USA.
- Dietrich, L. E. P., Petersen, A., Price-Whelan, A., Whiteley, M., Newman, D. K. (2006). The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 61(5), 1308-1321.
- Dincel, D., Hatipoğlu, S. D., Gören, A. C., Topçu, G. (2013). Anticholinesterase furocoumarins from *Heracleum platytaenium*, a species endemic to the Ida Mountains. *Turkish Journal of Chemistry*, 37, 675-683.
- Dixon, R. A., Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
- Doneanu, C., Anitescu, G. (1998). Supercritical carbon dioxide extraction of *Angelica archangelica* L. root oil. *Journal of Supercritical Fluid*, 12, 59-67.
- Dong, Y. H., Xu, J. L., Li, X. Z., Zhang, L. H. (2000). AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 3526-3531.
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- Downie, R. S., Ramanath, S., Katzdownie S. D., Llanas, E. (1998). Molecular systematics of Apiaceae subfamily Apioideae: Phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer and plastid RpoC1 intron sequences. *American Journal of Botany*, 85, 563-591.
- Drenkard, E., Ausubel, F. M. (2002). *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature*, 416, 740-743.
- Drew, D. P., Krichau, N., Reichwald, K., Simonsen, H. T. (2009). Guaianolides in Apiaceae: perspectives on pharmacology and biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 8(3), 581-599.
- Driscoll, J. A., Brody, S. L., Kollef, M. H. (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*, 3, 351-368.

- Dzhuneva, S., Konakchiev, A., Evstatieva, L. (2008). Preliminary comparative study of the essential oils of the species of genus *Angelica* L. growing in Bulgaria. Proceedings of the Fifth Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Brno, Czech Republic, str. 140.
- Džamić, M., A. (2016). Biološka aktivnost sekundarnih metabolita. U: Praktikum sa radnom veskom. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, str. 30-35.
- Eadie, M. J. (2004). The Antiepileptic materia medica of *Pediacus dioscurides*. *Journal of Clinical Neuroscience*, 11, 697-701.
- El-Fouly, M. Z., Sharaf, A. M., Shahin, A. A. M., El-Bialy, H. A., Omara, A. M. A. (2015). Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8, 36-48.
- Elmastaş, M., Gülcin, I., Beydemir, S., Küfrevioğlu, O. I., Aboul-Enein, H. Y. (2006). A study on the *in vitro* antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Analytical Letters*, 39(1), 47-65.
- Entezari, M., Hashemi, M., Ashki, M., Ebrahimian, S., Bayat, M., Saraji, A. R. A., Rohani, S. R. (2009). Studying the effect *Echinophora platyloba* extract on bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) and fungi (*Candidia albicans*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*) *in vitro*. *World Journal of Medical Science*, 4, 89-9.
- Erdurak, C. S., Coskun, M., Demirci, B., Başer, K. H. C. (2006). Composition of the essential oil of fruits and roots of *Ferulago isaurica* Pesmen and *F. syriaca* Boiss. (Umbelliferae) from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 118-121.
- Ergene, A., Guler, P., Tan, S., Mrc, S., Hamzaoglu, E., Duran, A. (2006). Antibacterial and antifungal activity of *Heracleum sphondylium* subsp. *artvinense*. *African Journal of Biotechnology*, 5, 1087-1089.
- European Pharmacopoeia (peto izdanje) (2004). 2.8.12 Council of Europe. Strasbourg Cedex, France, 217-218.
- Evergetis, E., Haroutounian, A. S. (2014). Exploitation of Apiaceae family plants as valuable renewable source of essential oils containing crops for the production of fine chemicals. *Industrial Crops and Products*, 54, 70-77.

- Evergetis, E., Michaelakis, A., Haroutounian, S. A. (2013). Exploitation of Apiaceae family essential oils as potent biopesticides and rich source of phellandrenes. *Industrial Crops and Products*, *41*, 365-370.
- Evergetis, E., Michaelakis, A., Kioulos, E., Koliopoulos, G., Haroutounian, S. A. (2009). Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from six Apiaceae family taxa against the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Parasitology Research*, *105*, 117-124.
- Farooq, S., Shakeel-u-Rehman, Dangroo, N. A., Priya, D., Banday, J. A., Sangwan, P. L., Qurishi, M. A., Koul, S., Saxena, A. K. (2014). Isolation, cytotoxicity evaluation and HPLC-quantification of the chemical constituents from *Prangos pabularia*. *Plos One*, *9*, 1-9.
- Firuzi, O., Asadollahi, M., Gholami, M., Javidnia, K. (2010). Composition and biological activities of essential oils from four *Heracleum species*. *Food Chemistry*, *122*, 117-122.
- Fischer, F. C., Svendsen, A. B. (1976). Apterin, a common furanocoumarin glycoside in the umbelliferae. *Phytochemistry*, *15*(6), 1079-80.
- Flemming, H.-C., Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, *8*(9), 623-633.
- Fraternale, D., Flamini, G., Ricci, D. (2014). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Angelica archangelica* L. (Apiaceae) roots. *Journal of Medicinal Food*, *17*, 1043-1047.
- Fraternale, D., Ricci, D., Calcabrini, C., Guescini, M., Martinelli, C., Sestili, P. (2013). Cytotoxic activity of essential oils of aerial parts and ripe fruits of *Echinophora spinosa* (Apiaceae). *Natural Product Communications*, *8*, 1645-1649.
- Furumi, K., Fujioka, T., Fujii, H., Okabe, H., Nakano, Y., Matsunaga, H., Katano, M., Mori, M., Mihashi, K. (1998). Novel antiproliferative falcarindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *8*, 93-96.
- Gallardo, C., Jimenez, L., Garcia-Conesa, M. T. (2006). Hydroxycinnamic acid composition and *in vitro* antioxidant activity of selected grain fractions. *Food Chemistry*, *99*, 455-463.
- Ge, A. H., Ma, W. F., Wang, C. P., Li, J., He, J., Liu, E. W., Adalakum, T. A., Zhang, B. L., Gao, X., Chang, Y. X. (2014). Ultra high performance liquid chromatography with photodiode array detector and quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry

- coupled with discriminant analysis to evaluate *Angelicae pubescentis radix* from different regions. *Journal of Separation Science*, 37, 2523-2534.
- Gebhardt, Y., Witte, S., Forkmann, G., Lukacin, R., Matern, U., Martens, S. (2005). Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae. *Phytochemistry*, 66, 1273-1284.
- Georgiou, C., Koutsaviti, A., Bazos, I., Tzakou, O. (2010). Chemical composition of *Echinophora tenuifolia* subsp. *sibthorpiana* essential oil from Greece. *Records of Natural Products*, 4, 167-170.
- Gholivand, M. B., Rahimi-Nasrabadi, M., Mehraban, E., Niasari, M., Batooli, H. (2011). Determination of the chemical composition and *in vitro* antioxidant activities of essential oil and methanol extracts of *Echinophora platyloba* DC. *Natural Product Research*, 25, 1585-1595.
- Girenavar, B., Cepeda, M. L., Soni, K. A., Vikram, A., Jesudhasan, P., Jayaprakasha, G. K., Pillai, S. D., Patil, B. S. (2008). Grapefruit juice and its furocoumarins inhibit autoinducer signaling and biofilm formation in bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 204-208.
- Glamočlija, J., Ćirić, A., Nikolić, M., Fernandes, A., Barros, L., Calhelh, R. C., Ferreira, C. F. R. I., Soković, M., van Griensven, J. L. D. L. (2015). Chemical characterization and biological activity of Chaga (*Inonotus obliquus*), a medicinal “mushroom”. *Journal of Ethnopharmacology*, 162, 323-332.
- Glamočlija, J. M., Soković, M. D., Šiljegović, J. D., Ristić, M. S., Ćirić, A. D., Grubišić D. V. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Echinophora spinosa* L. (Apiaceae) essential oil. *Records of Natural Products*, 5, 319-323.
- Goh, E. B. Yim, G. Tsui, W. McClure, J. Surette, M. G. Davies, J. (2002). Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(26), 17025-17030.
- Gokbulut, I., Bilenler, T., Karabulut I. (2013). Determination of chemical composition, total phenolic, antimicrobial and antioxidant activities of *Echinophora tenuifolia* essential oil. *International Journal of Food Properties*, 16, 1442-1451.

- Golfakhrabadi, F., Khanavi, M., Ostad, S. N., Saeidnia, S., Vatandoost, H., Abai, M. R., Hafizi, M., Yousefbeyk, F., Rad, R. Y., Baghenegadian, A., Ardekani, S. R. M. (2015). Biological activities and composition of *Ferulago carduchorum* essential oil. *Journal of arthropod-borne diseases*, 9(1) 104.
- Gomes, C., Moreira, R. G., Castell-Perez, E. (2011). Poly (DLlactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles with entrapped trans-cinnamaldehyde and eugenol for antimicrobial delivery applications. *Journal of Food Science*, 76(2), N16- N24.
- Gonzalez, J. A., Estevez-Braun, A., Estevez-Reyes, R., Bazzocchi, I. L., Moujir, L., Jimenez, I. A., Ravelo, A. G., Gonzalez, A. G. (1995). Biological activity of secondary metabolites from *Bupleurum salicifolium* (Umbelliferae). *Experientia*, 51, 35-39.
- Graland, S. (2004). The complete book of Herbs & spices. Frances Lincoln Limited, London, UK.
- Gravesen, S., Frisvad, J. C., Samson, R. A. (2004). Microfungi, Munksgaard, Copenhagen, Denmark.
- Grudniak, A. M., Kurek, A., Szarlak, J., Wolska, K. I. (2011). Oleanolic and ursolic acids influence affect the expression of the cysteine regulon and the stress response in *Escherichia coli*. *Current Microbiology*, 62(4), 1331-1336.
- Gupta, B. D., Banerjee, S. K., Handa, K. L. (1976). Alkaloids and coumarins of *Heracleum wallichii*. *Phytochemistry*, 15(4), 576.
- Gupta, B. D., Banerjee, S. K., Handa, K. L., Atal, C. K. (1978). 5-Hydroxy-8-(1',1'-dimethylallyl)psoralen and 5-hydroxyangelicin, two new coumarins from *Heracleum thomsoni*. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, 16B(1), 38-40.
- Gurбуza, O., Gocmena, D., Ozmenb, N., Dagdelenc, F. (2010). Effects of yeast, fermentation time, and preservation methods on tarhana. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 40, 263-275.
- Gutiérrez-Barranquero, A. J., Reen, F. J., McCarthy, R. R., O'Gara, F. (2015). Deciphering the role of coumarin as a novel quorum sensing inhibitor suppressing virulence phenotypes in bacterial pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 3303-3316.

- Habibi, Z., Eshaghi R., Mohammadi, M., Yousefi, M. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Heracleum rechingeri* Manden from Iran. *Natural Product Research*, 24, 1013-1017.
- Hajhashemi, V., Sajjadi, S. E., Heshmati, M. (2009). Anti-inflammatory and analgesic properties of *Heracleum persicum* essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 475-480.
- Hajimehdipoor, H., Shekarchi, M., Aghighi, A., Hamzeloo-Moghadam, M. (2014). Evaluating the acetylcholinesterase inhibitory activity of *Ferulago angulata* and *Ferulago subvelutina*. *Research Journal of Pharmacognosy*, 1, 39-43.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (2003). Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 853-860.
- Hanel, H., Raether, W. (1998). A more sophisticated method of determining the fungicidal effect of water-insoluble preparations with a cell harvester, using miconazole as an example. *Mycoses*, 31, 148-154.
- Harborne, J. B. (1994). The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman & Hall, Cambridge, UK.
- Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Harkar, S., Razdan, T. K., Waight, E. S. (1984). Steroids, chromone, and coumarins from *Angelica officinalis*. *Phytochemistry*, 23, 419-426.
- Harmala, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Nyiredy, S., Sticher, O., Tornquist, K., Kaltia, S. (1992). Strategy for the isolation and identification of coumarins with calcium antagonistic properties from the roots of *Angelica archangelica*. *Phytochemical Analysis*, 3, 42-48.
- Hata, K., Kozawa, M., Baba, K., Yen, K. Y., Yang, L. L. (1974). Coumarins from the roots of *Angelica morii*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 22, 957-961.
- Hata, K., Kozawa, M., Baba, K., Yen, K. Y. (1971). Coumarins from the roots of *Angelica laxiflora*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 19, 640-642.
- Heggors, J. P., Cottingham, J., Gusman, J., Reagor, L., McCoy, L., Carino, E., Cox, R., Zhao, J. G. (2002). The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and *in vitro* toxicity. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8, 333-340.

- Heidarian, E., Saffari, J., Jafari-Dehkordi, E. (2014). Hepatoprotective action of *Echinophora platyloba* DC leaves against acute toxicity of acetaminophen in rats. *Journal of Dietary Supplements*, 11, 53-63.
- Heywood, V. H. (1971). The biology and chemistry of Umbelliferae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 64, 438-452.
- Hinneburg, I., Dorman, H. J. D., Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected herbs and spices. *Food Chemistry*, 97(1), 122-129.
- Høiby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z., Moser, C., Jensen, P., Molin, S., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., Bjarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International Journal of Oral Science*, 3, 55-65.
- Holub, M., Toman J., Herouthe, V. (1987). Phylogenetic relationships of the Asteraceae and Apiaceae based on phytochemical characters. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15, 321-326.
- Hoult, J. R. S., Payá, M. (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology*, 27, 713-722.
- Hu, M. (2007). Commentary: bioavailability of flavonoids and polyphenols: call to arms. *Molecular Pharmacology*, 4(6), 803-806.
- Hua, J. M., Moon, T. C., Hong, T. G., Park, K. M., Son, J. K., Chang, H. W. (2008). 5-Methoxy-8-(2-hydroxy-3-butoxy-3-methylbutyloxy)-psoralen isolated from *Angelica dahurica* inhibits cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase in mouse bone marrow-derived mast cells. *Archives of Pharmacal Research*, 31, 617-621.
- Inoue, A., Taniguchi, M., Shibano, M., Wang, N-H., Baba, K. (2010). Chemical studies on the root of *Heracleum candicans* Wall. (Part 3). *Journal of Natural Medicines*, 64(2), 175-181.
- Işcan, G., Özek, T., Özek, G., Duran, A., Başer, K. H. C. (2004). Essential oils of three species of *Heracleum*. Anticandidal activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 40, 544-547.
- Işcan, G., Demirci, F., Kürkcüoğlu, M., Kıvanc, M., Başer, K. H. C. (2003). The bioactive essential oil of *Heracleum sphondylium* L. subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58c, 195-200.
- Iwashina, T. (2003). Flavonoid function and activity to plants and other organisms. *Biological sciences in space*, 17, 24-44.

- Jagannath, N., Ramakrishnaiah, H., Krishna, V. (2012). Anti-inflammatory and anticancer activity of *Heracleum rigens* Wall. ex DC. *Phytopharmacology*, 3, 61-67.
- Jain, P. K., Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 2(06), 236-240.
- Jacobsen, I. D., Wilson, D., Wächtler, B., Brunke, S., Naglik, J. R., Hube, B. (2012). *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10, 85–93.
- Jakobsen, T. H., van Gennip, M., Phipps, R. K., Shanmugham, S. M., Christensen, D. L., Alhede, M., Skindersoe, E. M., Rasmussen, B. T., Friedrich, K., Uthe, F., Jensen, Ø. P., Moser, C., Nielsen K. F., Eberlh, L., Larsen, T. O., Tanner, D., Høiby N., Bjarnsholt, T., Givskova, M. (2012). Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by quorum sensing, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(5), 2314-2325.
- Jawetz, M. A. (2007). Medical microbiology, (dvadeset četvrto izdanje). McGraw-Hill Medical, str. 832.
- Jimenez, B., Grande, M. C., Anaya, J., Torres, P., Grande, M. (2000). Coumarins from *Ferulago capillaris* and *F. brachyloba*. *Phytochemistry*, 53(8), 1025-1031.
- Joa, H., Vogl, S., Atanasov, A. G., Zehl, M., Nakel, T., Fakhrudin, N., Heiss, E. H., Picker, P., Urban, E., Wawrosch, C., Saukel, J., Reznicek, G., Kopp, B., Dirsch, V. M. (2011). Identification of ostruthin from *Peucedanum ostruthium* rhizomes as an inhibitor of vascular smooth muscle cell proliferation. *Journal of Natural Products*, 74(6), 1513-1516.
- John, J. F., Sharbaugh, J. R., Bannister, E. R. (1982). *Enterobacter cloacae*: Bacteremia, epidemiology, and antibiotic resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 4(1), 13-28.
- Josifović, M. (1973). Flora SR Srbije (peto izdanje). Srpska akademija nauke i umetnosti, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, Beograd.
- Jurica, H. S. (1922). A morphological study of the Umbelliferae. *Botanical Gazette*, 74(3), 292-307.
- Ka, M.-H., Choi, E. H., Chun, H.-S., Lee, K.-G. (2005). Antioxidative activity of volatile extracts isolated from *Angelica tenuissima* roots, peppermint leaves, pine needles, and sweet flag leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4124-4129.

- Kalemba, D., Kunicka, A. (2003) Antibacterial i antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 818-825.
- Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology Advances*, 31, 224-245.
- Kalia, V. C., Purohit, H. J. (2011). Quenching the quorum sensing system: potential antibacterial drug targets. *Critical Reviews in Microbiology*, 37, 121- 140.
- Kamatou, G. P. P., Viljoen, A. M. (2010). A review of application of α -bisabolol and α -bisabololrich oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 1-7.
- Kang, S. Y., Lee, K. Y., Sung, S. H., Park, M. J., Kim, Y. C. (2001). Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships. *Journal of Natural Products*, 64, 683-685.
- Kapetanos, C., Karioti, A., Bojović, S., Marin, P., Veljić, M., Skaltsa, H. (2008). Chemical and principal-component analyses of the essential oils of *Apioideae* taxa (Apiaceae) from central Balkan. *Chemistry & Biodiversity*, 5, 101-119.
- Karakašević, B. (1989). Mikrobiologija i parazitologija (šesto izdanje). Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb.
- Karuppusamy, S., Muthuraja, G. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Heracleum sprengeianum* (Wight and Arnott) essential oils growing wild in Peninsular India. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10, 769-775.
- Kasumova, G. K., Serkerov, S. V. (2011). A new natural methoxyfurocoumarin from *Heracleum pastinacifolium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(3), 358-359.
- Kaufman, C. S., Ceraso, D., Schugurensky, A. (1986). First case report from Argentina of fatal septicemia caused by *Chromobacterium violaceum*. *Journal Of Clinical Microbiology*, 956-958.
- Kaur, M, Thakur, Y, Thakur, M, Chand, R. (2006). Antimicrobial properties of *Heracleum candicans* Wall. *Natural Product Radianc*e, 5, 25-28.
- Khalighi-Sigaroodi, F., Hadjiakhoondi, A., Shahverdi, A. R., Mozaffarian, V. A., Shafiee, A. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ferulago bernardii* Tomk. and M. Pimen. *DARU*, 13, 100-104.

- Khan, M. S. A., Zahin, M., Hasan, S., Husain, F. M., Ahmad, I. (2009). Inhibition of quorum sensing regulated bacterial functions by plant essential oils with special reference to clove oil. *Letters of Applied Microbiology*, 49, 354-360.
- Kiliç, C. S., Ozkan, A. M., Demirci, B., Coşkun, M., Başer, K. H. C. (2010). Essential oil composition of four endemic *Ferulago* species growing in Turkey. *Natural Products Communication*, 5, 1951-1954.
- Kimura, Y., Sumiyoshi, M., Taniguchi, M., Baba, K. (2012). Metabolites of 3'-O-acetylhamaudol isolated from *Angelica japonica* roots, and their antitumor actions. *Nature Partner Journals*, 2, 20-30.
- Klayman, D. L. (1985). Quinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science*, 228, 1049-1055.
- Kobayashi, M., Tawara, T., Tsuchida, T., Mitsuhashi, H. (1990). Studies on the constituents of Umbelliferae plants. XVIII. Minor constituents of *Bupleuri radix*: occurrence of saikogenins, polyhydroxysterols, a trihydroxy C18 fatty acid, a lignan and a new chromone. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 38(11), 3169-3171.
- Koh, C.-L., Sam, C.-K., Yin, W.-F., Li, Y. T., Krishnan, T., Chong, Y. M., Chan, K.-G. (2013). Plant-derived natural products as sources of anti-quorum sensing compounds. *Sensors*, 13, 6217-6228.
- Kollanoor-Johny, A., Mattson, T., Baskaran, S. A., Amalaradjou, M. A., Babapoor, S., March, B., Valipe, S., Darre, M., Hoagland, T., Schreiber, D., Khan, M. I., Donoghue, A. Donoghue, D., Venkitanarayanan K. (2012). Reduction of *Salmonella enterica* serovar enteritidis colonization in 20-day-old broiler chickens by the plant-derived compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2981-2987.
- Komissarenko, N. F., Buziashvili, I. S. (1966). Coumarins from the roots of *Heracleum cyclocarpum*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, 2(4), 287.
- Komissarenko, N. F., Derkach, A. I., Kovalev, I. P., Satsyperova, I. F. (1978). Coumarins of *Heracleum leskovii* roots. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, 2, 184-187.
- Kousha, A., Ringø, E. (2015). Antibacterial effect of aquatic extract of *Heracleum spp.* hogweed plants from Europe on thirteen different bacteria. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 48, 677-680.

- Kovačević, N. (2004). Osnovi farmakognozije (treće izdanje). Srpska školska knjiga, Institut za farmakognozu, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Kovačević, N., Kundaković, T. (2007). Antimikrobna aktivnost sastojaka biljaka. *Arhiv za farmaciju*, 57(4-5), 277-287.
- Kumar, R., Banerjee, S. K., Handa, K. L. (1976). Coumarins of *Heracleum canescens* and *Heracleum pinnatum*. Sources for dermal photosensitizing agents. *Planta Medica*, 30(3): 291-294.
- Küpeli, E., Kartal M., Aslan, S., Yesilada, E. (2006). Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1), 32-37.
- Kürkçüoğlu, M., Işcan, G., Demirci, F., Başer, K. H. C., Malyer, H., Erdoğan, E. (2010). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ferulago confusa* Velen. *Journal of Essential Oil Research*, 22, 490-492.
- Kwon, Y. S., Shin, S. J., Kim, M. J., Kim, C. M. (2002). A new coumarin from the stem of *Angelica dahurica*. *Archives of Pharmacal Research*, 25, 53-56.
- Kylin, M. (2010). *Angelica archangelica* L. Alnarp: The Faculty of landscape Planning, Horticulture and Agriculture Science, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, 435-448.
- Langsrud, S., Sidhu, M. S., Heir, E., Holck, A. L. (2003). Bacterial disinfectant resistance-a challenge for the food industry. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51(4), 283-290.
- Laouer, H., Meriem, K. E., Prado, S., Baldovini, N. (2009). An antibacterial and antifungal phenylpropanoid from *Carum montanum* (Coss. Et Dur.) Benth. Et Hook. *Phytotherapy research*, 23, 1726-1730.
- Lau, G. W., Hassett, D. J., Ran, H., Kong, F. (2004). The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Trends in Molecular Medicine*, 10, 599-606.
- Le Claire, E., Schwaiger, S., Banaigs, B., Stuppner, H., Gafner, F. (2005). Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other Apiaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4367-4372.

- Lechner, D., Gibbons, S., Bucar, F. (2006). Antimycobacterial activity of *Laserpitium siler* L. roots. *Scientia Pharmaceutica 2 Supplement 1*, 74, 94.
- Lechner, D., Stavri, M., Oluwatuyi, M., Pereda-Miranda, R., Gibbons, S. (2004). The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica* (Bai Zhi). *Phytochemistry*, 65, 331-335.
- Lee, J. H., Kim, Y. G., Cho, H. S., Ryu, S. Y., Cho, M. H., Lee, J. (2014). Coumarins reduce biofilm formation and the virulence of *Escherichia coli* O157:H7. *Phytomedicine*, 21, 1037-1042.
- Lee, J. W., Yun, C. Y., Roh, E., Lee, C., Jin, Q., Bang, K. K., Jung, S. H., Lee, D., Lee, M. K., Kim, Y., Hwang B. Y. (2012). Melanogenesis inhibitory bisabolane-type sesquiterpenoids from the roots of *Angelica koreana*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 2927-2931.
- Lee, Y. Y., Lee, S., Jin, J. L., Yun-Choi, H. S. (2003). Platelet anti-aggregatory effects of coumarins from the roots of *Angelica genuflexa* and *A. gigas*. *Archives of Pharmacal Research*, 26, 723-726.
- Lee, J. L., Jung, J. S., Park, S. H., Ha, S. T. (2010). Anti-inflammatory effect of visnagin in lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglial cells. *Archive of Pharmacal Research*, 33, 1843-1850.
- Lewis, S., Camper, A., Ehrlich, G., Costerton, J., Davies, D. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of Bacteriology*, 184, 1140-1154.
- Lewis, K. (2001). Riddle of biofilm resistance (minireview). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 999-1007.
- Li, J. L., Gao, L. X., Meng, F. W., Tang, C. L., Zhang, R., J., Li, J. Y., Luo, C., Li, J., Zhao, W. M. (2015). PTP1B inhibitors from stems of *Angelica keiskei* (Ashitaba). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 2028-2032.
- Li, L., Lu, L., Zhang, W., Zhao, J., Lu, D., Lou, Z. (2011). GC-MS combined with PCA analysis of essential oil from two varieties of *Radix Angelicae Dahuricae*. *Yaowu Fenxi Zazhi*, 31, 112-118.
- Li, Y., Zhang, M., Luo, M., Wu, X., Xiao, Q., Hua, J., Li, X. (2014). Two new linear furanocoumarins from *Angelica apaensis*. *Heterocycles*, 89, 465-471.

- Lin, L-Z., Harnly, J. M. (2008). Identification of hydroxycinnamoylquinic acids of *Arnica* flowers and burdock roots using a standardized LC-DAD-ESI/MS profiling method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10105-10114.
- Liu, J., Chao, Z., Wang, F. (1988). Studies on the chemical constituents of the root of *Heracleum rapula* Franch. *Zhongyao Tongbao*, 13(3), 159-161.
- Liu, J. H., Xu, S. X., Yao, X. S., Kobayashi, H. (1995a). Angelol-type coumarins from *Angelica pubescens* biserrata, and their inhibitory effect on platelet aggregation. *Phytochemistry*, 39, 1099-1101.
- Liu, J. H., Xu, S. X., Yao, X. S., Kobayashi, H. (1995b). Two new 6-alkylcoumarins from *Angelica pubescens* biserrata. *Planta Medica*, 61, 482-484.
- Liu, J. H., Zschocke, S., Reininger, E., Bauer, R. (1998). Inhibitory effects of *Angelica pubescens* biserrata on 5-lipoxygenase and cyclooxygenase. *Planta Medica*, 64, 525-529.
- Liu, Y. Y., Li, L., Zhang, C., Xiao, Y. Q., Zhong, Z. 2006. Studies on chemical constituents in roots of *Heracleum rapula*. *China journal of Chinese materia medica*, 31, 667-668.
- Lo Cantore, P., Iakobellis, S. N. Marko, D. A., Capasso, F., Senatore, F. (2004). Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L and *Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare* (Miller) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 7862-7866.
- Lobiuc, A., Zamfirache, M.-M., Stratu, A. (2012). Physiological aspects in two *Angelica* L. taxa (Apiaceae). *Analele Științificeale I Universității „Al. I. Cuza” Lasis. II a. Biologievegetală*, 58(2), 81-87.
- Magalhaes, P. J. C., Criddle, D. N., Tavares, R. A., Melo, E. M., Mota, T. L., Leal-Cardoso J. H. (1998). Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetae* folius and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpineol. *Phytotherapy Research*, 12, 172-177.
- Maggi, F., Tirillini, B., Papa, F., Sagratini, G., Vittori, S., Cresci, A., Coman, M. M., Cecchini, C. (2009). Chemical composition and antimicrobial of the essential oil of *Ferulago campestris* (Besser) Grecescu growing in central Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, 24, 309-315.
- Maggio, A., Bruno, M., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F. (2013). Chemical composition of the essential oils of three species of apiaceae growing wild in Sicily: *Bonannia graeca*,

- Eryngium maritimum* and *Opopanax chironium*. *Natural Product Communications*, 8(6), 841-844.
- Makarenko, S. P., Konenkina, T. A., Dudareva, L. V. (2007). Fatty acids of vacuolar membrane lipids of plants. *Biologicheskie Membrany*, 24(5), 363-369.
- Manefield, M., Nys, R., Kumar, N., Read, R., Givskov, M., Steinberg, P., Kjelleberg, S. (1999). Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. *Microbiology*, 145, 283-291.
- Marčetić, M. D., Lakušić, B. S., Lakušić, D. V., Kovačević, N. N. (2013). Variability of the root essential oils of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) from different populations in Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 10(9), 1653-1666.
- Marin, P. D. (2003). Biohemijska i molekularna sistematika biljaka. NNK international, Beograd.
- Markou, P., Apidianakis, Y. (2014). Pathogenesis of intestinal *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cancer. *Cellular and Infection Microbiology*, 3, 1-5.
- Masoudi, S., Rustaiyan, A., Ameri, N. (2004). Volatile oils of *Ferulago phialocarpa* Rech. F. et. H. Reidl. and *Leutea elbursensis* Mozaffarian from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 16, 143-144.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Ohgushi, T., Ishiwada, T., Nishida, N., Yoshikawa, M. (2005). Inhibitors of nitric oxide production from the flowers of *Angelica furcijuga*: Structures of hyuganosides IV and V. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 53, 387-392.
- Merfort, I. (2011). Perspectives on sesquiterpene lactones in inflammation and cancer. *Current Drug Targets*, 12(11), 1560-1573.
- Merijanjan, A., Colasurdo, T., Samtak, P., Ullrich, J., Spagnuolo, J. (1980). The furanocoumarins of *Heracleum persicum* L. *Revista Latinoamericana de Quimica*, 11(2), 51-53.
- Micevski, K. (2005). *Laserpitium* L. U: Flora na Republika Makedonija I (šesto izdanje). Matevski V. (uredio). Makednoska Akademija na Naukite i Umetnostite, Skopje.
- Miean, K. H., Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3106-3112.

- Mihajlović, B. (1983). Praktikum za identifikaciju bakterija, kvasaca i plesni. Savez veterinara i veterinarskih tehničara Jugoslavije, Beograd.
- Mileski, K., Džamić, A., Ćirić, A., Grujić, S., Ristić, M., Matevski, V., Marin, P. D. (2014). Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. from Macedonia. *Archives of Biological Sciences*, 66(1), 401-413.
- Mileski, K., Džamić, A., Ćirić, A., Ristić, M., Grujić, S., Matevski, V., Marin P. D. (2015). Composition, antimicrobial and antioxidant properties of endemic species *Ferulago macedonica* Micevski & E. Mayer. *Records of Natural Products*, 9(2), 208-223.
- Mileski, S. K., Ćirić, D. A., Trifunović, S. S., Ristić, S. M., Soković, D. M., Matevski, S. V., Tešević, V. V., Jadranin, B. M., Marin D. P., Džamić, M. A. (2016). *Heracleum orphanidis*: chemical characterization, and comparative evaluation of antioxidant and antimicrobial activities with specific interest in the influence on *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Food & Function*, 7, 4061-4074.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231-237.
- Miller, H. M. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45, 91.
- Miller, N., Rice-Evans, C. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical action assay. *Free Radical Research*, 26, 195-199.
- Milosavljević, S., Bulatović, V., Stefanović, M. (1999). Sesquiterpene lactones from the Yugoslavian wild growing plant families Asteraceae and Apiaceae. *Journal of the Serbian Chemistry Society*, 64, 397-442.
- Milosavljević, S., Jeremić, D., Neveščanin, M., Radovanović, G., Živanović, P., Todorović, B., Slavkowska, V., Vajs, V. (1993). Furo- and pyranocoumarins from plant species *Angelica silvestris* and *Peucedanum austriacum*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 58(12), 997-1001.
- Milovanović, M., Picurić-Jovanović, K., Vučelić-Radović, B., Vrbaski, Z. (1996). Antioxidant effects of flavonoids of *Anthriscus sylvestris* in lard. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(6), 773-776.

- Milovanović, M., Banjac, N., Radović, V. B. (2009). Functional food: rare herbs, seeds and vegetable oils as sources of flavors and phytosterols. *Journal of Agricultural Sciences*, 54(1), 80-93.
- Mira, A., Yamashita, S., Katakura, Y., Shimizu, K. (2015). *In vitro* neuroprotective activities of compounds from *Angelica shikokiana* Makino. *Molecules*, 20, 4813-4832.
- Mirzapour, S., Rafieirad, M., Rouhi, L. (2015). Hydroalcoholic extract of *Ferulago angulata* Improves memory and pain in brain hypoperfusion ischemia in rats. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 10(1), e17451.
- Mizuno, A., Takata, M., Okada, Y., Okuyama, T., Nishino, H., Nishino, A., Takayasu, J., Iwashima, A. (1994). Structures of new coumarins and antitumor-promoting activity of coumarins from *Angelica edulis*. *Planta Medica*, 60, 333-336.
- Mladenović, J. (2006). Ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata unutrašnje kore vrste *Tabebuia impetiginosa*. Diplomski rad, Univerzitet u Beogradu.
- Mohammadi, M., Yousefi, M., Habibi, Z. (2010). Essential oils from stem and leaves of *Angelica urumiensis* (Mozaffarian) from Iran. *Natural Products Research*, 24, 1347-1351.
- Mohammadrezaei, A., Ketabchi, S. (2014). Anti-quorum sensing potential of *Carum copticum* extract. The 1st international conference on new ideas in agricultural, Islamic Azad University, Chorasgan Branch, Isfahan, Iran, str. 26-27.
- Mojab, F., Nickavar, B. (2003). Composition of the essential oil of the root of *Heracleum persicum* from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 245-247.
- Mojab, F., Rustaiyan, A., Jasbi, A. R. (2002). Essential oils of *Heracleum persicum* Desh. ex Fisher leaves. *DARU*, 10, 6-8.
- Molero, G., Dfcz-Orejas, R., Navarro-García, F., Monleoliva, L., Pla, J., Gil, C., Sánchez-Pérez, M., Nombela, C. (1998). *Candida albicans*: Genetics, dimorphism and pathogenicity. *International Microbiology*, 1, 95–106.
- Mokbel, M. S., Watanabe, Y., Hashinaga, F., Suganuma, T. (2006). Purification of the antioxidant and antimicrobial substance of ethyl acetate extracts from buntan (*Citrus grandis* Osbeck) fruit peel. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9, 145-150.

- Moon, H. I., Lee, J. H., Lee, Y. C., Kim, K. S. (2011). Antiplasmodial and cytotoxic activity of coumarin derivatives from dried roots of *Angelica gigas* Nakai *in vitro*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33, 663-666.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- Muckensturm, B., Duplay, D., Robert, P. C., Simonis, M. T., Kienlen, J.-C. (1981). Substances antiappetantes pour insectes phytophages presents dans *Angelica sylvestris* et *Heracleum sphondylium*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 9, 289-292.
- Mulaudzi, R., Ndhlala, R. A., Finnie, J., Van Staden, J. (2009). Antimicrobial, anti-inflammatory and genotoxicity activity of *Alepidea amatymbica* and *Alepidea natalensis* (Apiaceae). *South African Journal of Botany*, 75, 584-587.
- Muntanola-Cvetković, M. (1990). Opšta mikologija. Naučna knjiga, Beograd.
- Murphy, E. M., Nahar, L., Byres, M., Shoe, M., Siakalima, M., Rahman M. M., Gray, A I., Sarker, S. D. (2004). Coumarins from the seeds of *Angelica sylvestris* (Apiaceae) and their distribution within the genus *Angelica*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 203-207.
- Murray, R. D. H. (1978). Progress in the biochemistry of organic natural products (Vol. 35). Springer, New York, NY, USA.
- Nagy, M. M. (2010). Quorum sensing inhibitory activities of various folk-medicinal plants and the thyme-tetracycline effect. Doctoral dissertation, Georgia State University.
- Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., Silva, G. L. (2000). Antimicrobial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31, 247-256.
- Naseri, M., Monsef-Esfehani, H. R., Saeidnia, S., Dastan, D., Gohari, A. R. (2013). Antioxidative coumarins from the roots of *Ferulago subvelutina*. *Asian Journal of Chemistry*, 25(4), 1875-1878.
- Nath, Y., Nazir, B., Handa, K. L. (1961a). Medicinal importance of *Heracleum*. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 23, 303-304.
- Nath, Y., Nazir, B. N., Singh, T. (1961b). Fixed oil from the fruits of *Heracleum candicans*. *Indian Oil and Soap Journal*, 27, 59-62.

- Nemeth, E. (2005). Caway, the genus *Carum*. Harwood academic publishers, Taylor & Francis e-Library, University of horticulture and food industry, Budapest, Hungary.
- Nevas, M., Korhonen, A. R., Lindtröm, M., Turkki, P., Korkeala, H. (2004). Antibacterial efficiency of Finnish spice essential oils against pathogenic and spoilage bacteria. *Journal of Food Protection*, 67, 199-202.
- Ng, W. L., Bassler, B. L. (2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics*, 43, 197-222.
- Nielsen, S. E., Young, J. F., Daneshvar, B., Lauridsen, S. T., Knuthsen, P., Sandström, B., Dragsted, L. O. (1999). Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 81, 447-455.
- Nikolić, V. (1973). Familija Apiaceae. U: Flora Republike Srbije (peto izdanje). Josifović, M. (uredio). Srpska Akademija Nauka i Umetnosti, Beograd, Srbija.
- Niu, X-M., Li, S-H., Jiang, B., Zhao, Q-Sh., Sun, H-D. (2002). Constituents from the roots of *Heracleum rapula* Franch. *Journal of Asian Natural Products Research*, 4(1), 33-41.
- Nivinskiene, O., Butkiene, R., Mockute, D. (2003). Changes in the chemical compositions of essential oil of *Angelica archangelica* L. roots during storage. *Chemija*, 14(1), 52-56.
- Nivinskienė, O., Butkienė, R., Mockutė, D. (2005). Chemical composition of seed (fruit) essential oils of *Angelica archangelica* L. growing wild in Lithuania. *Chemija*, 16(3-4), 51-54.
- Nostro, A., Marino, A., Blanco, A. R., Cellini, L., Di Giulio M., Pizzimenti, F., Sudano, R. A., Bisignano, G. (2009). *In vitro* activity of carvacrol against staphylococcal preformed biofilm by liquid and vapour contact. *Journal of Medical Microbiology*, 58(6), 791-797.
- Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C., Cioni, P. L., Procopio, F., Blanco, A. R. (2007). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, 56(4), 519-523.
- Nostro, A., Scaffaro, R., D'Arrigo, M., Botta, L., Filocamo, A., Marino, A., Bisignano, G. (2012). Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(4), 1029- 1038.

- O'Malley, Y. Q., Reszka, K. J., Rasmussen, G. T., Abdalla, M. Y., Denning, G. M., Britigan, B. E. (2003). The *Pseudomonas* secretory product pyocyanin inhibits catalase activity in human lung epithelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 285, 1077-1086.
- Oh, H., Lee, H. S., Kim, T., Chai, K. Y., Chung, H. T., Kwon, T. O., Jun, J. Y., Jeong, O. S., Kim, Y. C., Yun, Y. G. (2002). Furocoumarins from *Angelica dahurica* with hepatoprotective activity on tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells. *Planta Medica*, 68, 463-464.
- Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., Vuorela, P. (2000). Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 299-305.
- Ojala, T. (2001). Biological screening of plant coumarins. PhD thesis, Faculty of Science, University of Helsinki, Finland.
- Olivero-Verbel, J., Barreto-Maya, A., Bertel-Sevilla, A., Stashenko, E. E. (2014). Composition, anti-quorum sensing and antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(3), 759-767.
- O'Neill, T., Johnson, J. A., Webster, D., Gray, C. A. (2013). The Canadian medicinal plant *Heracleum maximum* contains antimycobacterial diynes and furanocoumarins. *Journal of Ethnopharmacology*, 147(1), 232-237.
- Orčić, D. (2010). Vrste tribusa *Scandiceae* (Apiaceae Lindley 1836, subfam. *Apioideae*) potencijalni izvor biološki i farmakološki aktivnih sekundarnih biomolekula. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija, str. 5.
- Orhan, A. I., Aydin, A., Çölkesen, B. S., Isimer, A. I. (2003). Free radical scavenging activities of some edible fruit seeds. *Pharmaceutical Biology*, 41(3), 163-165.
- Orojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., Bassami, M. R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry*, 120, 765-770.
- O'Toole, G. A., Kolter, R. (1998a). Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Molecular Microbiology*, 28, 449-461.

- O'Toole, G. A., Kolter, R. (1998b). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*, 30, 295-304.
- Ozcan, M. M., Al Juhaimi, F. Y. (2011). Antioxidant and antifungal activity of some aromatic plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 1361-1366.
- Ozdemira, S., Gocmena, D., Yildirim, A., Kumrala, A. (2007). Traditional turkish fermented cereal food: tarhana. *Food Reviews International*, 23, 107-121.
- Özek, T., Demirci, B., Başer, K. H. C. (2002). Comparative study of the essential oils of *Heracleum sphondylium* ssp. *ternatum* obtained by micro- and hydro-distillation methods. *Chemistry of Natural Compounds*, 38, 48-50.
- Özek, T., Özek, G., Başer, K. H. C., Duran, A. (2005). Comparison of the essential oils of three endemic Turkish *Heracleum* species obtained by different isolation techniques. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 605-610.
- Özkan, A. M. G., Demirci, B., Demirci, F., Başer, K. H. C. (2008). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferulago longistylis* Boiss. fruits. *Journal of Essential Oil Research*, 20, 569-573.
- Park, Y. K., Koo, M. H., Ikegaki, M., Contado, J. L. (1997). Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos De Biologia E Tecnologia*, 40, 97-106.
- Pathak, R. P., Manral, K. (1988). Constituents of seeds of *Heracleum canescens* Lindl. *Indian Drugs*, 25(4), 171.
- Pavičić, S. S., Kukrić, Z. Z., Topalić-Trivunović, N. Lj., Davidović, N, A., Žabić, M, M. (2009). Naučni rad, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Banja Luci.
- Pavlović, R., Mladenović, J., Radovanović, B., Aćamović-Đoković, G., Zdravković, J., Zdravković, M. (2011). Antimikrobna aktivnost etanolnih ekstrakata paradajza i paprike. *Zbornik radova Tehnološkog fakulteta u Leskovcu*, 20, 154-159.
- Peev, D., Anchev, M., Ivanova, D., Kozhucharov, S., Petrova, A., Tzoneva, S. (1993). Biodiversity of the higher plants in Bulgaria. Sakalyan, M., Meini, K. (uredili). National Strategy for Preservation of Biodiversity¹, Biodiversity Support Program, str. 73-124.
- Peroutka, R., Schulzová, V., Botek, P., Hajšlová, J. (2007). Analysis of furanocoumarins in vegetables (Apiaceae) and citrus fruits (Rutaceae). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2152-2163.

- Persson, T. T., Hansen, H., Rasmussen, T. B., Skindersoe, M. E., Givskov, M., Neilsen, J. (2005). Rational design and synthesis of new quorum-sensing inhibitors derived from acylated homoserine lactones and natural products from garlic. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 3, 253-262.
- Peters, W., Gilles, H. M. (1995). A colour atlas of tropical medicine and parasitology. Mosby-wolfe, 150-175.
- Petrović, J., Glamočlija, J., Stojković, D., Nikolić, M., Ćirić, A., Fernandes, A., Ferreira, I. C. F. R., Soković, M. (2014). Bioactive composition, antimicrobial activities and the influence of *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing on certain quorum-sensing-regulated functions and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Food & Function*, 5, 3296-3303.
- Petrović, S., Pavlović, M., Popović, V., Couladis, M., Tzakou, O., Milenković, M., Vučićević, D., Niketić, M. (2009). Composition of antimicrobial activity of essential oils from flower and leaf of *Laserpitium zernyi* Hayek. *Journal of Essential Oil Research*, 21, 467-470.
- Picman, A. K. (1986). Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*, 14, 255-281.
- Pimenov, M. G., Leonov, M. V. (1993). The genera of the Umbelliferae: A nomenclator. Royal Botanic Gardens, and Kew and Botanical Garden of Moscow University, London, Russia.
- Pirbalouti, A. G., Setayesh, M., Siahpoosh, A., Mashayekhi, H. (2013). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoids contents of three herbs used as condiments and additives in pickles products. *Herba Polonica*, 59, 51-62.
- Popović, B. V. (2013). Analiza sekundarnih metabolita i ispitivanje farmakološke aktivnosti odabranih vrsta roda *Laserpitium* L. (Apiaceae), Doktorska disertacija, Farmaceutski Fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Popović, V. B., Petrović, S. D., Milenković, M. T., Drobac, M. M., Couladis, M. A., Niketić, S. M. (2015a). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Laserpitium latifolium* L. and *L. ochridanum* Micevski (Apiaceae). *Chemistry & Biodiversity*, 12, 170-176.
- Popović, V., Heyerick, A., Petrović, S., Calenbergh, V. S., Karalić, I., Niketić, M., Deforce, D. (2013b). Cytotoxic activity of *Laserpitium latifolium* L. extract and its daucane and phenylpropanoid constituents. *Records of Natural Products*, 7, 245-249.

- Popović, V., Heyerick, A., Petrović, S., Calenbergh, V. S., Karalić, I., Niketić, M., Deforce, D. (2013a). Sesquiterpene lactones from the extracts of two Balkan endemic *Laserpitium* species and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*, *87*, 102-111.
- Popović, V., Petrović, S., Pavlović, M., Milenković, M., Couladis, M., Tzakou, O., Duraki, S., Niketić, M. (2010). Essential oil from the underground parts of *Laserpitium zernyi*: potential source of alpha-bisabolol and its antimicrobial activity. *Natural Product Communications*, *5*, 307-310.
- Popović, V., Petrović, S., Tomić, M., Stepanović-Petrović, R., Micov, A., Pavlović-Drobac, M., Couladis, M., Niketić, M. (2014). Antinociceptive and anti-edematous activities of the essential oils of two Balkan endemic *Laserpitium* species, *Natural Product Communications*, *9*, 125-128.
- Popović, V., Stojković, D., Nikolić, M., Heyerick, A., Petrović, S., Soković, M., Niketić, M. (2015b). Extracts of three *Laserpitium* L. species and their principal components laserpitine and sesquiterpene lactones inhibit microbial growth and biofilm formation by oral *Candida* isolates. *Food & Function*, *6*, 1205-1211.
- Price-Whelan, A., Dietrich, L. E. P., Newman, D. K. (2006). Rethinking B secondary metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. *Nature Chemical Biology*, *2*, 71-78.
- Priya, K., Yin, W.-F., Chan, K.-G. (2013). Anti-quorum sensing activity of the traditional Chinese herb *Phyllanthus amarus*. *Sensors*, *13*, 14558-14569.
- Purohit, K. V., Andola, H. C., Haider, S. Z., Tiwari, D., Bahuguna, Y. M., Gairola, K. C., Arunachalam, K. (2015). Essential oil constituents of *Angelica glauca* Edgew. roots: an endangered species from Uttarakhand Himalaya (India). *National Academy Science Letters*, *38*(5), 445-447.
- Qiu, J., Feng, H., Lu, J., Xiang, H., Wang, D., Dong, J., Wang, J., Wang, X., Liu, J., Deng, X. (2010). Eugenol reduces the expression of virulence-related exoproteins in *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology*, *76*(17), 5846-5851.
- Raffa, R. B., Iannuzzo, J. R., Levine, D. R., Saeid, K. K., Schwartz, R. C., Sucic, N. T., Terleckyj, O. D., Young, J. M. (2005). Bacterial communication ("Quorum Sensing") via ligands and receptors: A novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *312*, 417-423.

- Rafieian-Kopaei, M., Shahinfard, N., Rouhi-Boroujeni, H., Gharipour, M., Darvishzadeh-Boroujeni, P. (2014). Effects of *Ferulago angulata* extract on serum lipids and lipid peroxidation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-4.
- Rahimi-Nasrabadi, M., Gholivand, M. B., Niasari, M., Vatanara A. (2010). Chemical composition of the essential oil from aerial parts of *Echinophora platyloba* DC. from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9, 53-56.
- Raman, A., Weir, U., Bloomfield, S. F. (1995). Antimicrobial effects of tea-tree oil and its major components on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Letters in Applied Microbiology*, 21, 242-245.
- Ramos, I., Dietrich, L. E. P., Price-Whelan, A., Newman, D. K. (2010). Phenazines affect biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* in similar ways at various scales. *Research in Microbiology*, 161, 187-191.
- Rasmussen, T. B., Skindersoe, M. E., Bjarnsholt, T., Phipps, R. K., Christensen, K. B., Jensen, P. O., Anderson, J. B., Koch, B., Larsen, T. O., Hentzer, M., Eberl, L., Hoiby, N., Givskov, M. (2005). Identity and effects of quorum-sensing inhibitors produced by *Penicillium* species. *Microbiology*, 151, 1325-1340.
- Rastogi, S., Pandey, M. M., Rawat, A. K. S. (2007). Determination of heraclenin and heraclenol in *Heracleum candicans* D.C. by TLC. *Chromatographia*, 66(7/8), 631-634.
- Rawat, A. K. S., Singh, A. P., Singh, D. P., Pandey, M. M., Govindarajana, R., Srivastava, S. (2013). Separation and identification of furocoumarin in fruits of *Heracleum candicans* DC. by HPTLC. *Journal of Chemistry*, 2013, 1-4.
- Razavi, M. S., Zarrini, G. (2010). Bioactivity of aviprin and aviprin-3"-O-Glucoside, two linear furanocoumarins from Apiaceae. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 36(3), 359-362.
- Razavi, M. S., Nazemiyeh, H., Hajiboland, R., Kumarasamy, Y., Delazar, A., Nahar, L., Sarker, D. S. (2008). Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(1), 1-5.
- Razavi, S. M., Ravansalar, A., Mirinejad, S. (2015). The investigation on phytochemicals from *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss, indigenous to central parts of Iran. *Natural Product Research*, 29, 2037-2042.

- Razdan, T. K., Kachroo, V., Harkar, S., Koul, G. L. (1982). Furanocoumarins from *Heracleum canescens*. *Phytochemistry*, 21(4), 923-327.
- Reddy, B. Y. M., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J. (1998). Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47, 535-550.
- Reddy, V. L. N., Jadhav, A. N., Avula, B., Khan, I. A. (2008). Isolation of pyranocoumarins from *Angelica gigas*. *Natural Products Communication*, 3, 785-790.
- Rees, S. B. Harborne, J. B. (1985). The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defense of the chicory plant. *Phytochemistry*, 24, 2225-2231.
- Reichling, J. (2010). Functions and biotechnology of plant secondary metabolites (drugo izdanje). U: Annual Plant Reviews (Vol. 39). Wink, M. (uredio). Blackwell Publishing Ltd.
- Reid, G. (1999). Biofilms in infectious disease and on medical devices. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11, 223-226.
- Remigius, C. (2007). Pharmaceutical biology composition of the essential oil from *Laserpitium gallicum* grown in the wild in Southern France. *Pharmaceutical Biology*, 45, 182-184.
- Remigius, C., Johannes, N., Chlodwig, F. (1999). Fruit oil of *Laserpitium siler* L. grown in France. *Journal of Essential Oil Research*, 11, 197-198.
- Ren, B. A., Park, B. Y., Kim, J. H., Kwon, O. K., Lee, J., Min, B., Ahn, K., Lee, H. (2005a). Coumarins and chromones from *Angelica genuflexa*. *Natural Product Science*, 11, 79-84.
- Ren, D., Zuo, R., Barrios, A. F. G., Bedzyk, A. L., Eldridge, R. G., Pasmore, E. M., Wood, K. T. (2005b). Differential gene expression for investigation of *Escherichia coli* biofilm inhibition by plant extract ursolic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 4022-4034.
- Ríos, J. L., Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 80-84.
- Roberto, G., Cannizo, S., Amico, V., Bizzini, M., Piattelli, A. (1994). Chemical constituents of *ferulago nodosa*. *Journal of Natural Products*, 57, 1731-1733.
- Robles, M., Aregullin, M., West, J., Rodriguez, E. (1995). Recent studies on the zoopharmacognosy, pharmacology and neurotoxicology of sesquiterpene lactones. *Planta medica*, 61, 199-203.

- Rocha-Estrada, J., Aceves-Diez, A., Guarneros, G., de la Torre, M. (2010). The RNPP family of quorum-sensing proteins in Gram-positive bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 913-923.
- Roh, J., Shin, S. (2014). Antifungal and antioxidant activities of the essential oil from *Angelica koreana* Nakai. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-7.
- Roman, M., Baranski, R., Baranska, M. (2011). Nondestructive raman analysis of polyacetylenes in Apiaceae vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7647-7653.
- Romeilah, M. R., Fayed, A. S., Mahmoud, I. G. (2010). Chemical compositions, antiviral and antioxidant activities of seven essential oils. *Journal of Applied Sciences Research*, 6, 50-62.
- Saei-Dehkordi, S. S., Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S., Kousha, S. (2012). Chemical composition and antioxidative activity of *Echinophora platyloba* DC. essential oil and its interaction with natural antimicrobials against food-borne pathogens and spoilage organisms. *Journal of Food Science*, 77, 631-637.
- Sandy, S. M., Foong-Yee, T. (2012). Anti-quorum sensing and antimicrobial activities of some traditional chinese medicinal plants commonly used in South-East Asia. *Malaysian Journal of Microbiology*, 8, 11-20.
- Sanna, V., Roggio, A. M., Siliani, S., Piccinini, M., Marceddu, S., Mariani, A., Sechi, M. (2012). Development of novel cationic chitosan-and anionic alginate-coated poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles for controlled release and light protection of resveratrol. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 5501-5516.
- Sano, K., Yosioka, I., Kitagawa, I. (1975). Studies on coumarins from the root *Angelica decursiva*. II. Stereostructures of decursin, decursidin, and other new pyranocoumarin derivatives. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 23, 20-28.
- Saraswathy, A., Sasikala, E., Purushothaman, K. K. (1990). Chemical investigation on *Heracleum rigens* Wall. *Indian Drugs*, 27(5), 320-322.
- Sardari, S., Mori, Y., Horita, K., Micetich, R. G., Nishibe, S., Daneshtalab, M. (1999). Synthesis and antifungal activity of coumarins and angular furanocoumarins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 7, 1933-1940.
- Sarker, S. D., Eynon, E., Fok, K., Kumarasamy, Y., Murphy, E. M., Nahar, L., Shaheen, E. M., Shaw, N. M., Siakalima, M. (2003). Screening the extracts of the seeds of *Achillea*

- millefolium*, *Angelica sylvestris* and *Phleum pratense* for antibacterial, antioxidant activities and general toxicity. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 3, 157-162.
- Sarker, S. D., Nahar, L. (2004). Natural medicine: The genus *Angelica*. *Current Medicinal Chemistry*, 11(11), 1479-500.
- Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T., Yosioka, I. (1982). The constituents of *Ledebouriella seseloides* Wolff. I. Structures of three new chromones. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 30, 3555-3562.
- Sauer, K., Rickard, A. H., Davies, D. G. (2007). Biofilms and biocomplexity. *Microbe*, 2, 347-353.
- Sayyah, M., Moaied, S., Kamalinejad, M. (2005). Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed. *Journal of Ethnopharmacology*, 98, 209-211.
- Schertzer, J. W., Boulette, M. L., Whiteley, M. (2009). More than a signal: Non-signaling properties of quorum sensing molecules. *Trends in Microbiology*, 17, 189-195.
- Schinkovitz, A., Gibbons, S., Stavri, M., Cocksedge, M. J., Bucar, F. (2003). Ostruthin: An antimycobacterial coumarin from the roots of *Peucedanum ostruthium*. *Planta Medica*, 69(4), 369-371.
- Schulz, H., Jorgensen, B. (2001). Big bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55, 105-137.
- Seo, W. D., Kim, J. Y., Ryu, H. W., Kim, J. H., Han, S. I., Ra, J. E., Seo, K. H., Jang, K. C., Lee, J. H. (2013). Identification and characterisation of coumarins from the roots of *Angelica dahurica* and their inhibitory effects against cholinesterase. *Journal of Functional Foods*, 5, 1421-1431.
- Sepahi, E., Tarighi, S., Ahmadi, F. S., Bagheri, A. (2015). Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by two herbal essential oils from Apiaceae family. *The Journal of Microbiology*, 53, 176-180.
- Shahneh, F. Z., Azadmehr, S. V. A., Hajiaghaee, R., Bandehagh, A., Baradaran, B. (2013a). Cytotoxic activities of *Ferulago angulata* extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 677-682.
- Shahneh, F. Z., Valiyari, S., Azadmehr, A., Hajiaghae, R., Yaripour, S., Bandehagh, A., Baradaran, B. (2013b). Inhibition of growth and induction of apoptosis in fibrosarcoma

- cell lines by *Echinophora platyloba* DC: *In vitro* analysis. *Advances in Pharmaceutical Sciences*, 2013, 1-7.
- Shahneh, F. Z., Valiyari, S., Azadmehr, A., Hajiaghaee, R., Bandehagh, A., Baradaran, B. (2014). *In vitro* cytotoxic and apoptotic activity of four Persian medicine plants on human leukemia and lymphoma cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease 4 (Supplementary 1)*, S415-S420.
- Sharafati-chaeshtori, R., Rafieian-kopaei, M., Mortezaei, S., Sharafati-chaeshtori, A., Amini, E. (2012). Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of *Echinophora platyloba* D.C. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6, 2692-2695.
- Sharififar, F., Moshafi, H. M., Dehghan-Nudehe, G., Alieh, A., Alishahi, F., Pourhemati, A. (2009a). Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 317-322.
- Sharififar, F., Pournourmohammadi, S., Arabnejad, M., Rastegarianzadeh, R., Ranjbaran, O., Purhemmaty, A. (2009b). Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Heracleum persicum* Desf. in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8, 287-292.
- Shimomura, H., Sashida, Y., Nakata, H., Kawasaki, J., Ito, Y. (1982). Plant growth regulators from *Heracleum lanatum*. *Phytochemistry*, 21(9), 2213-15.
- Shrout, J. D., Chopp, D. L., Just, C. L., Hentzer, M., Givskov, M., Parsek, M. R. (2006). The impact of quorum sensing and swarming motility on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation is nutritionally conditional. *Molecular Microbiology*, 62, 1264-1277.
- Sieniawska, E., Glowniak, K. (2011). Identification of the coumarin compounds in the *Mutellina purpurea* extracts. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Medical University of Lublin, Lublin-Polonia, Poland*, 26(13), 97-104.
- Sigurdsson, S., Ögmundsdottir, H., Hallgrímsson, M., Gudbjarnason, S. (2005a). The cytotoxic effect of two chemotypes of essential oils from the fruits of *Angelica archangelica* L. *Anticancer Research*, 25, 1877-1880.
- Sigurdsson, S., Ögmundsdottir, H. M., Hallgrímsson, J., Gudbjarnason, S. (2005b). Antitumour activity of *Angelica archangelica* leaf extract. *In vivo*, 19, 191-194.
- Simić, D. (1998). *Mikrobiologija*, Naučna knjiga, Beograd.

- Simoës, M., Vieira, M. J. (2009). Persister cells in *Pseudomonas fluorescens* biofilms treated with a biocide. Proceedings of the International Conference Processes in Biofilms: Fundamentals to Applications, Davis, Calif, USA. str. 58-62.
- Simoës, M., Simoës, L. C., Machado, I., Pereira, M. O., Vieira, M. J. (2006). Control of flow-generated biofilms with surfactants: evidence of resistance and recovery. *Food and Bioproducts Processing*, 84(4), 338-345.
- Simonović, S. R., Stankov-Jovanović, V. P., Mitić, V. D., Ilić, M. D., Petrović, G. M. Stojanović, G. S. (2014). Chemical composition of *Angelica panicicii* essential oil determined by liquid and headspace GC-MS techniques. *Natural Product Communications*, 9(2), 271-272.
- Singh, B. N., Singh, B. R., Singh, R. L., Prakash, D., Sarma, B. K., Singh, H. B. (2009). Antioxidant and anti-quorum sensing activities of green pod of *Acacia nilotica* L. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 778-786.
- Singh, D. P., Govindarajan, R., Rawat, A. K. S. (2007). Comparison of different analytical HPLC columns for determination of furocoumarins in *Heracleum candicans* fruits. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 31, 421-427.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sodeifian, G., Ansari, K., Bamoniri, A., Mirjalili, B. F. (2011). Study of chemical composition of the essential oil of *Ferulago angulata* (Schelcht) Boiss. from Iran using supercritical fluid extraction and nano scale injection. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6, 161-168.
- Soković, M., Ćirić A., Glamočlija, J., Nikolić, M., van Griensven, J. L. D. L. (2014). *Agaricus blazei* hot water extract shows anti-quorum sensing activity in the nosocomial human pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 19, 4189-4199.
- Song, G., Deng, C., Wu, D., Hu, Y. (2004). Headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic–mass spectrometric analysis of the essential oils of two traditional chinese medicines, *Angelica pubescens* and *Angelica sinensis*. *Chromatographia*, 59, 343-349.

- Song, P., Sun, M., Xu, Z., Wang, N. (2007). Chemical constituents in three plants of *Angelica L.* *Zhongcaoyao*, 38, 833-835.
- Song, Q., Fu, D., Liu, J., Zheng, D., Han, L., Huang, X. (2011). Chemical constituents from *Angelica sinensis*. *Zhongcaoyao*, 42, 1900-1904.
- Spoering, A. L., Lewis, K. (2001). Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing of antimicrobials. *Journal of Bacteriology*, 183, 6746-6751.
- Stanković, N., Mihajilov-Krstev, T., Zlatković, B., Stankov-Jovanović, V., Mitić, V., Jović, J., Čomić, L., Kocić, B., Bernstein, N. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of traditional medicinal plants from the Balkan peninsula. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 78, 21-28.
- Stanković-Nedeljković, N., Kocić, B., Todorović, B., Branković, S., Mladenović-Antić, S. (2011). Serotipizacija i analiza vrsta proizvedenih pigmenata kliničkih izolata *Pseudomonas aeruginosa*. *Vojnosanitetski pregled*, 68(11), 923-929.
- Stavri, M., Gibbons, S. (2005). The antimycobacterial constituents of Dill (*Anethum graveolens*) *Phytotherapy Research*, 19, 938-941.
- Štefan, L., Tepšić, T., Zavidović, T., Urukalo, M., Tota, D., Domitrović, R. (2007). Lipidna peroksidacija i posljedice. *Medicina*, 43, 84-93.
- Stefanović, O., Čomić, Lj., Stanojević, D., Solujić-Sukdolak, S. (2009). Antibacterial activity of *Aegopodium podagraria* L. extract and interreaction between extract and antibiotics. *Turkish Journal of Biology*, 33, 145-150.
- Stojković, S., Petrović, S., Kukić, J., Džamić, A., Ristić, M., Milenković, M., Glamočlija, J., Soković, M., Stojković, D. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of *Seseli rigidum* flower essential oil. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(2), 253-256.
- Strange, R. N. (1993). Plant disease control: Towards environmentally acceptable methods. Chapman and Hall, New York, str. 354.
- Subbiah, K., Muthuraja, G. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Heracleum sprengeianum* (Wight and Arnott) essential oils growing wild in Peninsular India. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10, 769-775.

- Sun, H., Jakupović, J. (1986). Further heraclenol derivatives from *Angelica archangelica*. *Pharmazie*, 41, 888-889.
- Sun, T., Simon, P. W., Tanumihardjo, S. A. (2009). Antioxidant phytochemicals and antioxidant capacity of biofortified carrots (*Daucus carota* L.) of various colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(10), 4142-4147.
- Surveswaran, S., Cai, Y-Z., Corke, H., Sun. M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102, 938-953.
- Šeatović, S. (2005). Istorijat antioksidanasa. *Hemijski pregled*, 46(5), 109-111.
- Tabanca, N., Wedge, E. D., Wang, X., Demirci, B., Başer, K. H. C., Zhou, L., Cutler, J. S. (2008). Chemical composition and antifungal activity of *Angelica sinensis* essential oil against three *Colletotrichum* species. *Natural Product Communication*, 3(7), 1073-1078.
- Tabassum, N., Vidyasagar, G. M. (2013). Antifungal investigations on plant essential oils: A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 19-28.
- Tadić, V. M., Dobrić, S., Marković, G. M., Bojović, D. (2009). Analysis of natural products - sesquiterpene lactones as anti-inflammatory agents. U: The analysis of pharmacologically active compounds and biomolecules in real samples. Injac, R. K. (uredio). Transworld research Network, str. 97-128.
- Takahashi, T., Tsuchida, T., Uno, T., Sekita, S., Satake, M., Yoshida, N. (2005). Study on the botanical origins of "toki". Analysis of chemical constituents of wild *Angelica* species distributed in Hokkaido. *Journal of Natural Medicines (Tokyo)*, 59, 157-163.
- Tan, K. H., Nishida, R. (2012). Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. *Journal of Insect Science*, 12, 1-74.
- Taniguchi, M., Yokota, O., Shibano, M., Wang, N-H., Baba, K. (2005). Four coumarins from *Heracleum yunnanense*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 53(6), 701-704.
- Taran, M., Ghasempour, H. R., Shirinpour, E. (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(1), 10-14.
- Tarighi, S., Taheri, P. (2011). Different aspects of bacterial communication signals. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 27, 1267-1280.
- Tatić, B., Blečić, V. (2002). Familija Apiaceae. Sistematika i filogenija viših biljaka (drugo izdanje). Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, Srbija.

- Taylor, C. M., Roberts, I. S. (2005). Capsular polysaccharides and their role in virulence. *Contributions to Microbiology*, 12, 55-66.
- Telci, I., Hisil, Y. (2008). Essential oil composition of the spice plant *Echinophora tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana* Tutin from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 44, 534-536.
- Tepe, B., Akpulat, H. A., Sokmen, M., Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry*, 97(4), 719-724.
- Teplitski, M., Robinson, J. B., Bauer, W. D. (2000). Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(6), 637-648.
- Thanh, P. N., Jin, W., Song, G., Bae, K., Kang, S. S. (2004). Cytotoxic coumarins from the root of *Angelica dahurica*. *Archives of Pharmacal Research*, 27(12), 1211-1215.
- Tirillini, B., Pagiotti, R., Angelini, P., Pintore, G., Chessa, M., Menghini, L. (2009). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Laserpitium garganicum* from Italy. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 103-110.
- Tolibae, I., Glushenkova, A. I. (1996). Seed lipids of *Heracleum lehmannianum*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 1, 10-14.
- Torbati, M., Nazemiyeh, H., Lotfipour, F., Nemati, M., Asnaashari, S. (2014). Chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Heracleum transcaucasicum* and *Heracleum anisactis* roots essential oil. *Bioimpacts*, 4, 69-74.
- Tosun, F., Kızılay, C. A., Erol, K., Kılıç, F. S., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C. (2008). Anticonvulsant activity of furanocoumarins and the essential oil obtained from the fruits of *Heracleum crenatifolium*. *Food Chemistry*, 107, 990-993.
- Trease, A., Evans, C. (1989). *Pharmacognosy*. Bailliere-Tindall, London, str. 509.
- Truchado, P., López-Gálvez, F., Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Allende, A. (2009). Quorum sensing inhibitory and antimicrobial activities of honeys and the relationship with individual phenolics. *Food Chemistry*, 115, 1337-1344.
- Tsevegsuren, N., Aitzetmuller, K., Vosmann, K. (2004). *Geranium sanguineum* (Geraniaceae) seed oil: A new source of petroselinic and vernolic acid. *Lipids*, 39(6), 571-576.

- Tsui, W. H. W., Yim, G., Wang, H. H. M., McClure, J. E., Surette, M. G., Davies, J. (2004). Dual effects of MLS antibiotics: transcriptional modulation and interactions on the ribosome. *Chemistry and Biology*, 11(9), 1307-1316.
- Tsukatani, T., Suenaga, H., Shiga, M., Noguchi, K., Ishiyama, M., Ezoe, T., Matsumoto, K. (2012). Comparison of the WST-8 colorimetric method and the CLSI broth microdilution method for susceptibility testing against drug-resistant bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 90, 160-166.
- Tucakov, J. (1986). Lečenje biljem. Izdavačka Radna Organizacija "RAD", Beograd.
- Tutin, T. G. (1968). Flora Europaea (drugo izdanje). Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A. (uredili). Cambridge University Press, Cambridge.
- Upadhyay, A., Johny, A. K., Amalaradjou, M. A. R., Baskaran, S. A., Kim, K. S., Venkitanarayanan, K. (2012). Plant-derived antimicrobials reduce *Listeria monocytogenes* virulence factors *in vitro*, and down-regulate expression of virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*, 157(1), 88-94.
- Upadhyay, A., Upadhyaya, I., Kollanoor-Johny, A., Venkitanarayanan, K. (2014). Combating pathogenic microorganisms using plant-derived antimicrobials: A minireview of the mechanistic basis. *BioMed Research International*, 2014, 18 pages.
- Upadhyay, A., Upadhyaya, I., Kollanoor-Johny, A., Venkitanarayanan, K. (2013). Antibiofilm effect of plant derived antimicrobials on *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 36(1), 79-89.
- Valizadeh, H., Mahmoodi, K. F., Alizadeh, Z., Bahadori, M. B. (2014). Isolation and structure elucidation of secondary metabolites from *Echinophora platyloba* DC from Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 13, 15-21.
- Vattem, D. A., Mihalik, K., Crixell, S. H., McLean, R. J. C. (2007). Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. *Fitoterapia*, 78, 302-310.
- Venugopala, K. N., Rashmi, V., Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *Biomed Research International*, 2013, 1-14.
- Vereskovski, V. V., Kuznetsova, Z. P., Loznukho, I. V., Sokolov, I. V., Osokin, D. M. (1992). Phenolic compounds of *Laserpitium latifolium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 28, 631-632.

- Verstraeten, N., Braeken, K., Debkumari, B., Fauvart, M., Fransaer, J., Vermant, J., Michiels, J. (2008). Living on a surface: swarming and biofilmformation. *Trends in Microbiology*, 16, 496-506.
- Vikram, A., Jesudhasan, P. R., Jayaprakasha, G. K., Pillai, B. S., Patil, B. S. (2010). Grapefruit bioactive limonoids modulate *E. coli* O157: H7 TTSS and biofilm. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 109-116.
- Vukojević, J. (2000). Praktikum iz mikologije i lihenologije. NNK International, Beograd.
- Vuuren, S. V., Viljoen, A. (2007). Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1,8-cineole alone and in combination. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(6), 540-544.
- Waksmundzka-Hajnosm, M., Petruczynikm, A., Hajnosm, M. I., Tuzimski, T., Bogucka-Kocka, A., Waksmundzka-Hajnos, A. (2006). Two-dimensional thin-layer chromatography of selected coumarins. *Journal of Chromatographic Science*, 44(8), 510-517.
- Walencka, E., Rozalska, S., Wysokinska, H., Rozalski, M., Kuzma, L., Rozalska, B. (2007). Salvipisone and aethopinone from *Salvia sclarea* hairy roots modulate staphylococcal antibiotic resistance and express anti-biofilm activity. *Planta Medica*, 73, 545-551.
- Wang, B., Liu, X., Zhou, A., Meng, M., Li, Q. (2014). Simultaneous analysis of coumarin derivatives in extracts of *Radix Angelicae pubescentis* (Duhuo) by HPLC-DAD-ESI-MSn technique. *Analytical Methods*, 6, 7996-8002.
- Wang, N. H., Yoshizaki, K., Baba, K. (2001). Seven new bifuranocoumarins, dahuribirin A-G, from Japanese Bai Zhi. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 49, 1085-1088.
- Wang, P., Su, Z., Yuan, W., Deng, G., Li, S. (2012). Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharmaceutical Crops*, 3, 99-120.
- Washington, J. A. (1996). Expression of the activation marker urokinase plasminogen-activator receptor in cultured human central nervous system microglia. *Journal of Neuroscience Research*, 45, 392-399.
- Wedge, D. E., Klun, J. A., Tabanca, N., Demirci, B., Ozek, T., Başer, K. H. C., Liu, Z., Zhang, S., Cantrell, C. L., Zhang, J. (2009). Bioactivity-guided fractionation and GC/MS fingerprinting of *Angelica sinensis* and *Angelica archangelica* root components for antifungal and mosquito deterrent activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 464-470.

- Whitman, W. B., Coleman, D. C., Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 95, 6578-6583.
- Williams, D. (1970). Coumarins of *Angelica hendersonii* (Umbelliferae). *Phytochemistry*, 9(10), 2247.
- Wojdyło, A., Oszmianski, J., Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940-949.
- Wong, P. Y. Y., Kitts, D. D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*, 97, 505-515.
- Wszelaki, N., Paradowska, K., Jamroz, M. K., Granica, S., Kiss, A. K. (2011). Bioactivity-guided fractionation for the butyrylcholinesterase inhibitory activity of furanocoumarins from *Angelica archangelica* L. roots and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9186-9193.
- Wu, H. J., Wang, A. H. J., Jennings, M. P. (2008). Discovery of virulence factors of pathogenic bacteria. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12, 1-9.
- Wu, H., Lee, B., Yang, L., Wang, H., Givskov, M., Molin, S., Høiby, N., Song, Z. (2011). Effects of ginseng on *Pseudomonas aeruginosa* motility and biofilm formation FEMS. *Immunology and Medical Microbiology*, 62(1), 49-56.
- Wu, S.-J., Ng, L.-T., Lin, C.-C. (2004). Antioxidant activities of some common ingredients of traditional Chinese medicine *Angelica sinensis*, *Lycium barbarum* and *Poria cocos*. *Phytotherapy Research*, 18, 1008-1012.
- Yang, Y., Zhang, Y., Ren, F. X., Yu, N. J., Xu, R., Zhao, Y. M. (2013). Chemical constituents in roots of *Angelica polymorpha* Maxim. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 48, 718-722.
- Yankah, V. V., Jones, P. H. (2001a). Phytosterols and health implications-efficacy and nutritional aspects. *Inform*, 12(9), 899-903.
- Yankah, V. V., Jones, P. H. (2001b). Phytosterols and health implications-chemical nature and occurrence. *Inform*, 12(8), 808-811.
- Yankova, E., Cherneva, Z. (2007). Notes on the species distribution of genus *Angelica* in Bulgaria. *Phytologia Balcanica (Sofia)*, 3, 189-192.

- Yeo, S. S.-M., Tham, F.-Y. (2012). Anti-quorum sensing and antimicrobial activities of some traditional Chinese medicinal plants commonly used in South-East Asia. *Malaysian Journal of Microbiology*, 8(1), 11-20.
- Yim, G., McClure, J., Surette, M. G., Davies, J. E. (2011). Modulation of *Salmonella* gene expression by subinhibitory concentrations of quinolones. *Journal of Antibiotics*, 64(1), 73-78.
- Zinger-Yosovich, K., Sudakevitz, D., Imberty, A., Garber, C. N., Gilboa-Garber, N. (2006). Production and properties of the native *Chromobacterium violaceum* fucose-binding lectin (CV-IIL) compared to homologous lectins of *Pseudomonas aeruginosa* (PA-IIL) and *Ralstonia solanacearum* (RS-IIL). *Microbiology*, 152, 457-463.
- Youse, H. A., Kazemian, A., Sereshti, M., Rahmanikhoh, E., Ahmadiania, E., Razaian, M., Maghsoodi, R., Darani, H. Y. (2012). Effect of *Echinophora platyloba*, *Stachys lavandulifolia* and *Eucalyptus camaldulensis* plants on *Trichomonas vaginalis* growth *in vitro*. *Advances in Biomedical Research*, 1, 1-3.
- Yu, F., Li, H., Meng, Y., Yang, D. (2013). Extraction optimization of *Angelica sinensis* polysaccharides and its antioxidant activity *in vivo*. *Carbohydrate Polymers*, 94, 114-119.
- Zahri, S., Razavi, M. S., Moatamed, Z. (2012). Antioxidant activity and cytotoxic effect of aviprin and aviprin-3"-O-D-glucopyranoside on LNCaP and HeLa cell lines. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 26(6), 540-547.
- Zeng, Z., Qian, L., Cao, L., Tan, H., Huang, Y., Xue, X., Shen, Y., Zhou, S. (2008). Virtual screening for novel quorum sensing inhibitors to eradicate biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79, 119-126.
- Zhang, H., Chen, F., Wang, X. (2006). Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum sativum*) oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Research International*, 39, 833-839.
- Zhao, A., Yang, X., Yang, X., Liu, J., Wang, Q., Wang, W. (2012a). A new natural product from root of *Angelica dahurica* cv. Qi Baizhi. *Journal of Chinese Materia Medica*, 37, 2400-2407.
- Zhao, D., Islam, M. N., Ahn, B. R., Jung, H. A., Kim, B. W., Choi, J. S. (2012b). *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of *Angelica decursiva*. *Archives of Pharmacal Research*, 35, 179-192.

Zheng, L. H., Wang, P. J., Li, W., Feng, D. (2014). Chemical composition of essential oil from *Angelica dahurica* roots and its DPPH radical scavenging effect. *Shipin Kexue (Beijing)* 35, 180-183.

Zhongwen, L., Lan, G., Gaoxiong, R., Fading, P., Handong, S. (1993). Coumarins of *Heracleum stenopterum*. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 15(3), 315-316.

Zou, Y., Woo, J., Ahn, J. (2012). Cellular and molecular responses of *Salmonella typhimurium* to antimicrobial-induced stresses during the planktonic-to-biofilm transition. *Letters in Applied Microbiology*, 55(4), 274-282.

Ukupno 502 literaturna navoda

Slike:

Lin, L. Y.-C., Edward, A. (2009). Bacterial bioluminescence, biochemistry and molecular biology, McGill University, Canada. (<http://photobiology.info/Lin.html#TOP>)

Kunkel, D. (2007). Microscopy, Inc. (<http://www.denniskunkel.com/detail/10043.html>)

Spisak korišćenih linkova (09.08.2016):

www.flickr.com

footage.framepool.com

atlas.sund.ku.dk

visualsunlimited.photoshelter.com

microbitos.wordpress.com

en.wikipedia.org

betacrumb.com

www.gettyimages.com

www.pinterest.com

inhabitat.com

www.bilgenltd.com.tr

www.sciencenews.org

www.medical-labs.net

enfo.agt.bme.hu

www.gastroscan.ru

www.motherjones.com

fungi.myspecies.info

www.inspq.qc.ca

fungi.myspecies.info

visualsunlimited.photoshelter.com

show.wnmu.edu

www.lookfordiagnosis.com

fungi.myspecies.info

bioweb.uwlax.edu

mycota-crcc.mnhn.fr !

commons.wikimedia.org

mycota-crcc.mnhn.fr

mycota-crcc.mnhn.fr

www.indiamart.com

en.wikipedia.org

en.wikipedia.org

en.wikinoticia.com

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/101616641#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/636489#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12443309#section=Top>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/112500441#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6716#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/khellin#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5319022#section=Top>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/642376#section=Top>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2355#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4114#section=Top>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5469789#section=3D-Conformer>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281148#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12358401#section=Top>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280445#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343#section=2D-Structure>

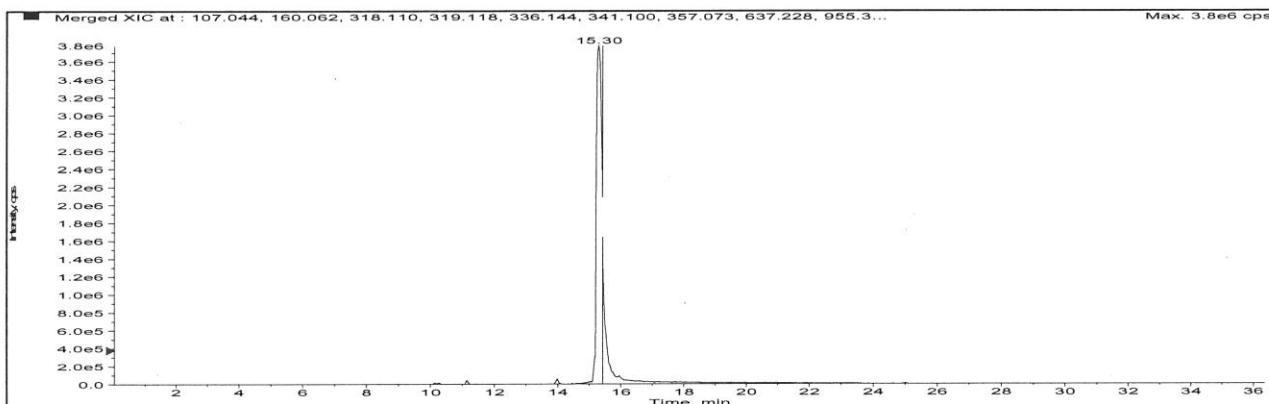
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280863#section=2D-Structure>

7. PRILOG

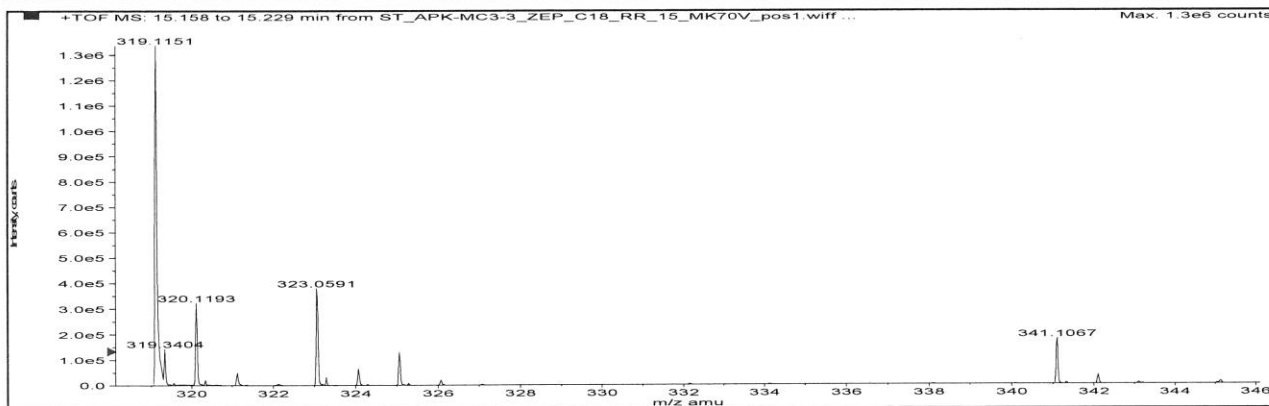
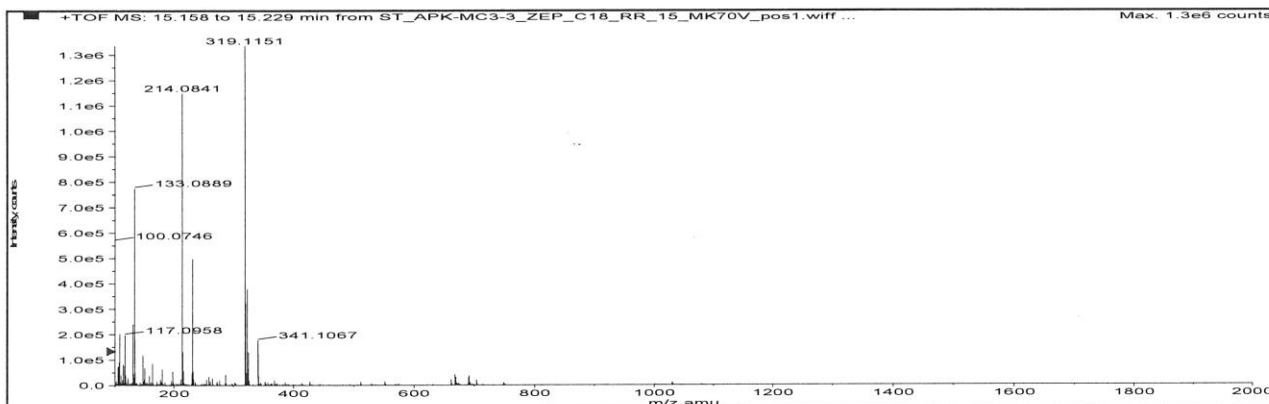
Spektri:

1. Maseni spektar acetilcnidimola A
2. ^1H NMR spektar acetilcnidimola A
3. ^1H - ^1H COSY spektar acetilcnidimola A
4. NOESY spektar acetilcnidimola A
5. ^{13}C NMR spektar acetilcnidimola A
6. DEPT spektar acetilcnidimola A
7. HSQC spektar acetilcnidimola A
8. HSQC spektar (deo spektra) acetilcnidimola A
9. HMBC spektar acetilcnidimola A
10. HMBC spektar (deo spektra) acetilcnidimola A
11. Maseni spektar oksipeucedanina
12. ^1H NMR spektar oksipeucedanina
13. ^1H - ^1H COSY spektar oksipeucedanina
14. NOESY spektar oksipeucedanina
15. ^{13}C NMR spektar oksipeucedanina
16. DEPT spektar oksipeucedanina
17. HSQC spektar oksipeucedanina
18. HMBC spektar oksipeucedanina

Spektar 1



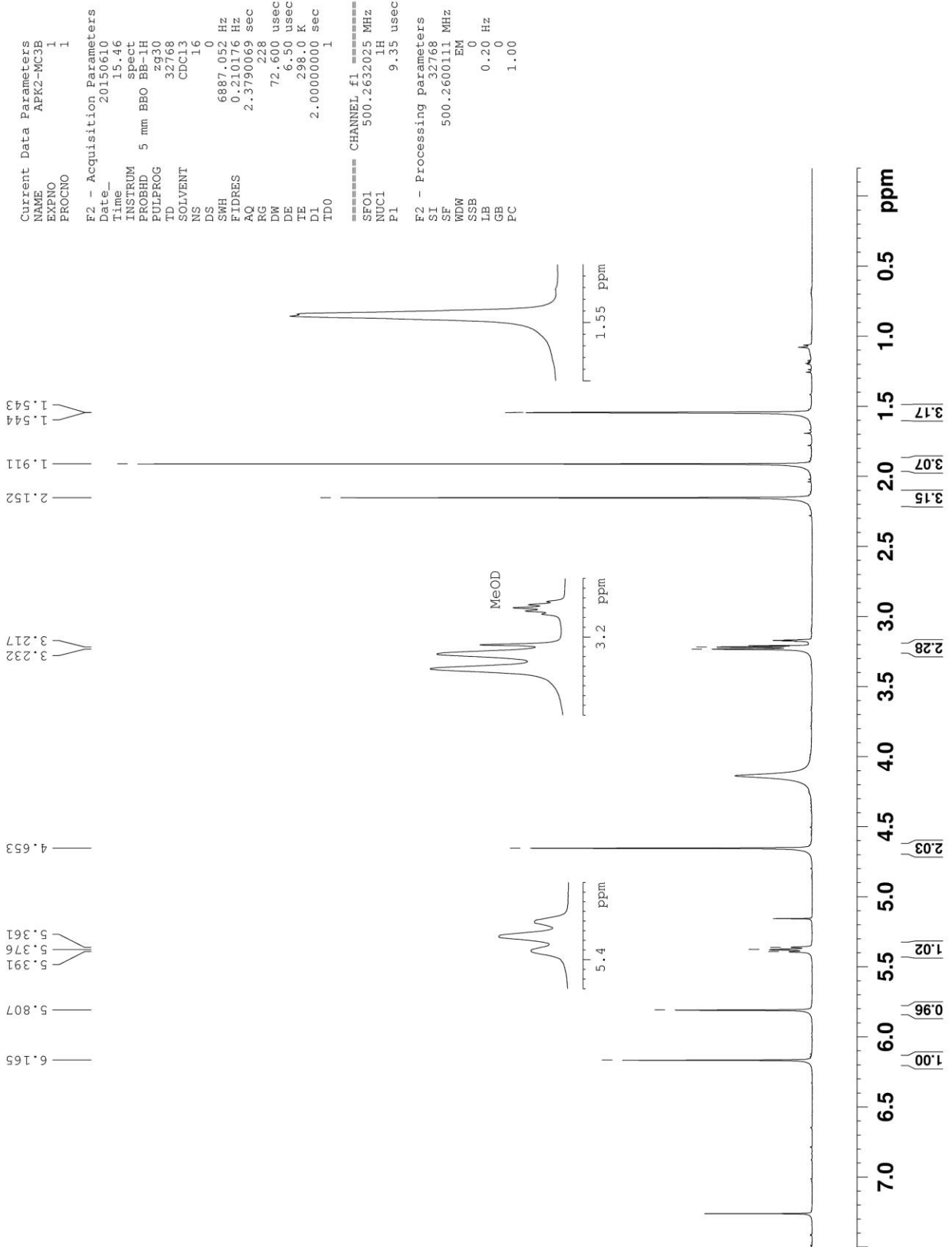
Merged XIC, Period# : 1 Experiment# : 1



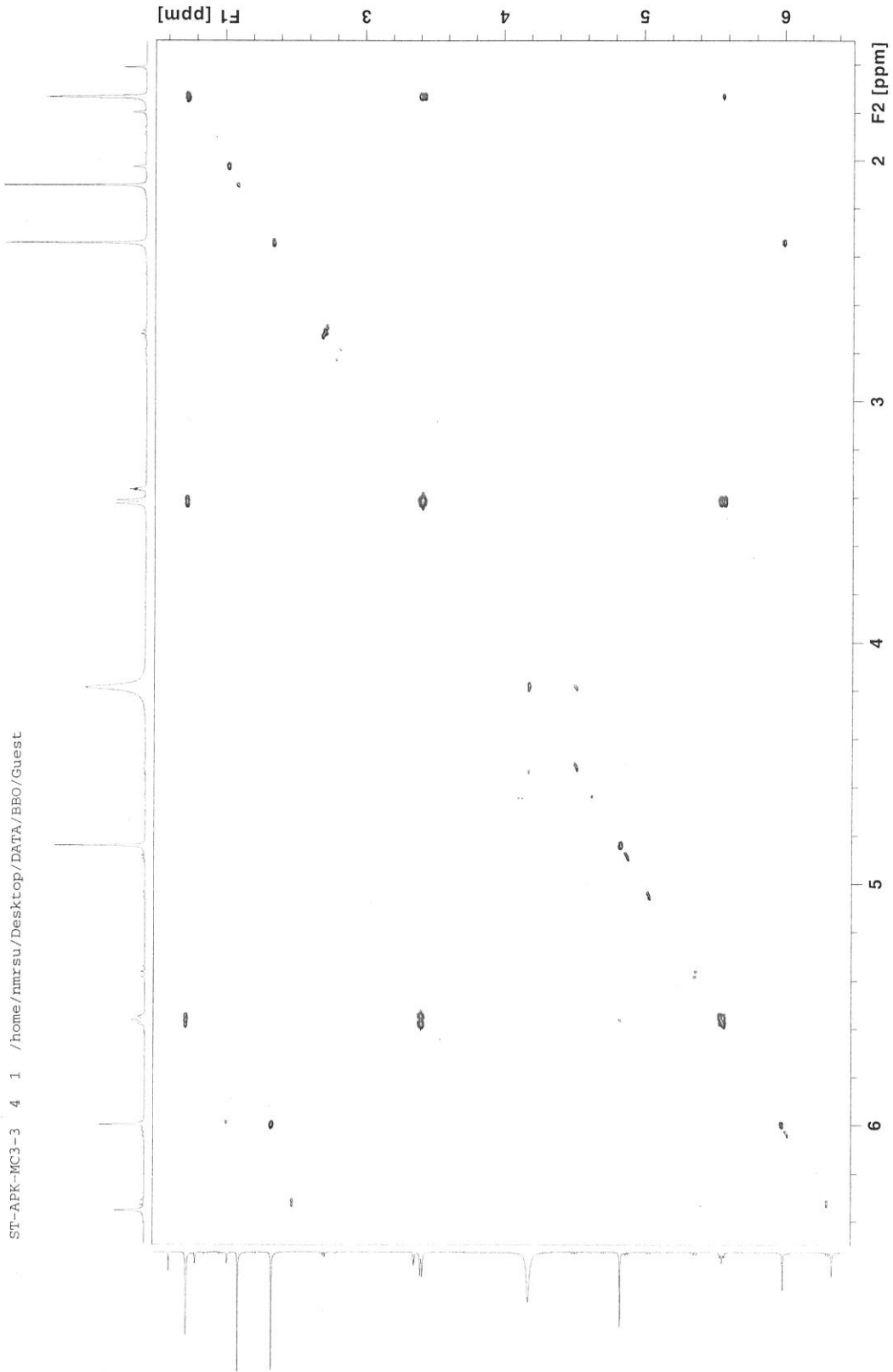
Formula	Compound name	Mass	Peak RT (min)	Peak area	Description
C17H18O6	--	318.11034	15.30	5.01320 E7	--

Species	Abundance (counts)	Ion Mass	Measured Mass	Error (mDa)	Error (ppm)	Ret. Time Error (min)
[M+H] ⁺	1339923.25	319.11761	319.11836	0.74527	2.34	--
[M+Na] ⁺	185492.59	341.09956	341.09870	-0.86167	-2.53	--

Spektar 2



Spektar 3



Spektar 4

```
Current Data Parameters
NAME      APK2-MC3B
EXPNO     2
PROCNO    1

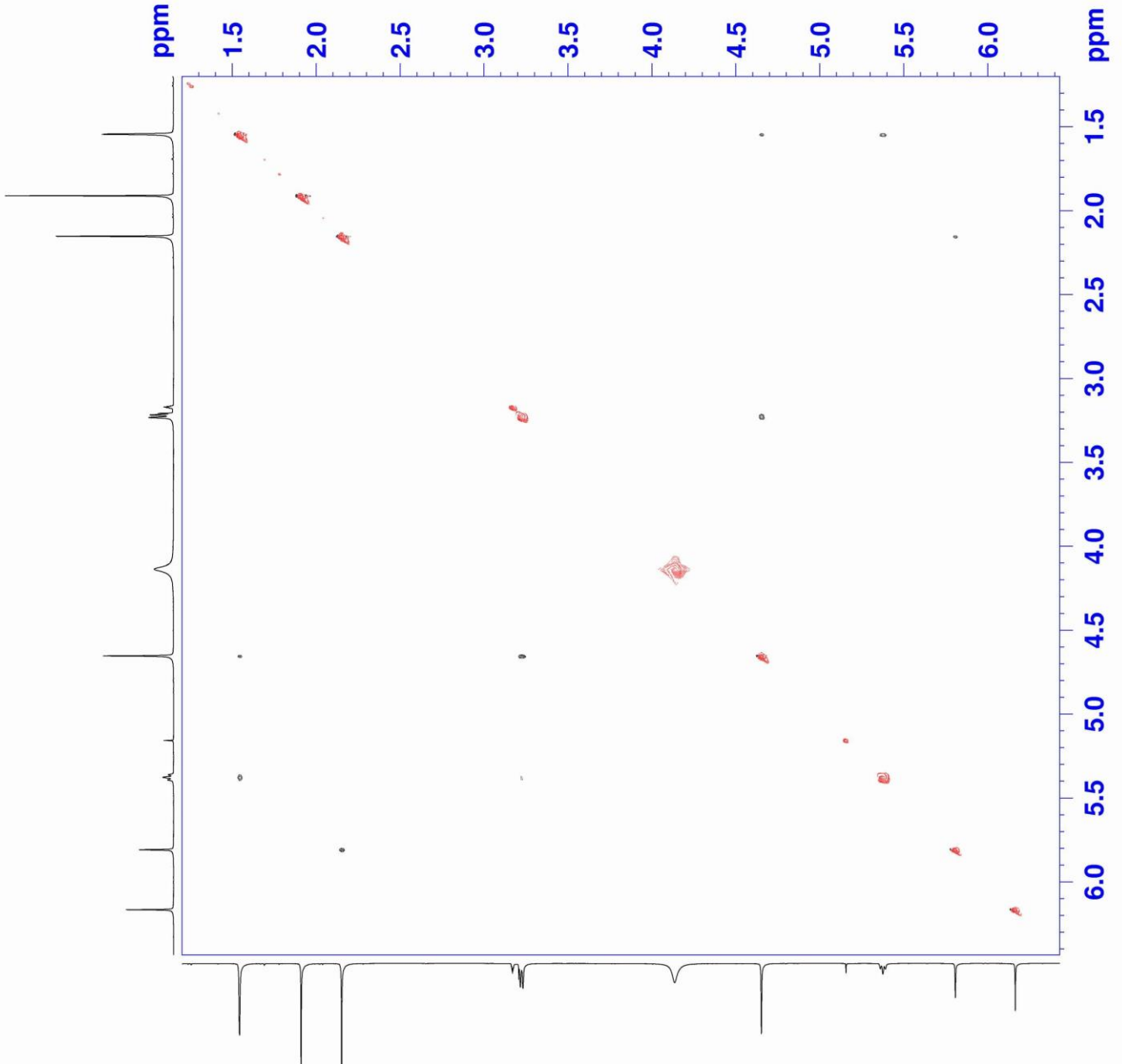
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20150610
Time      16.25
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG   noesygpph
TD         1024
SOLVENT   CDC13
NS         16
DS         16
SWH        2948.113 Hz
FIDRES     2.879017 Hz
AQ         0.1737204 sec
RG         228
DM         169.600 usec
DE         6.50 usec
TE         298.0 K
D0         0.00015770 sec
D1         2.00000000 sec
D8         1.00000000 sec
D16        0.00020000 sec
IN0        0.00033920 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1      500.2618840 MHz
NUC1      1H
P1         9.35 usec
P2        18.70 usec

F1 - Acquisition parameters
ND0        1
TD         256
SFO1      500.2619 MHz
FIDRES     11.516068 Hz
SW         5.893 ppm
FqMODE     States-TPPI

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         500.2600096 MHz
WDW        QSINE
SSB        2
LB         0.00 Hz
GB         0
PC         1.00

F1 - Processing parameters
SI         1024
MC2        States-TPPI
SF         500.2600095 MHz
WDW        QSINE
SSB        2
LB         0.00 Hz
GB         0
```



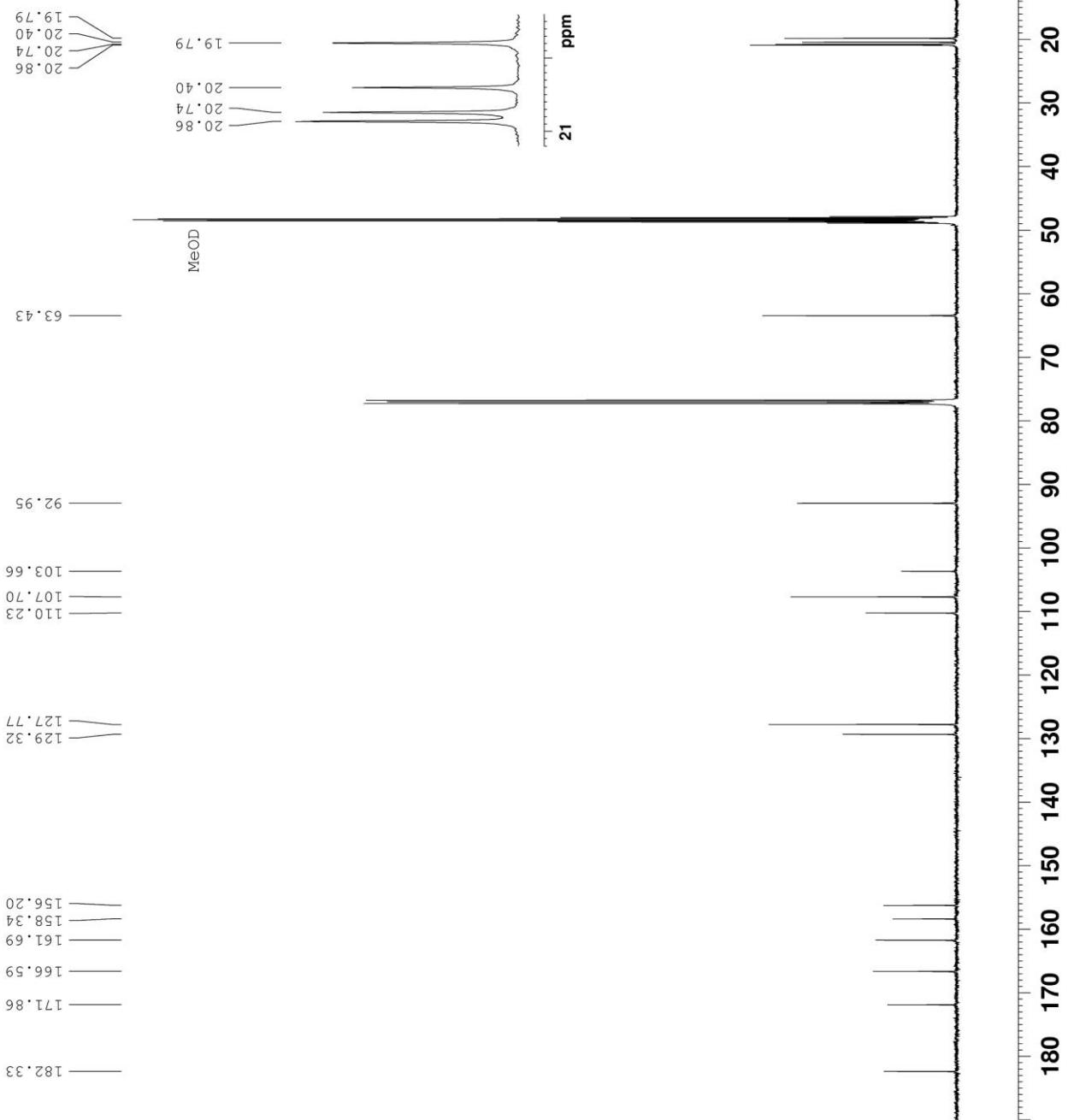
Spektar 5

Current Data Parameters
NAME APK2-MC3B
EXPNO 5
PROCNO 1

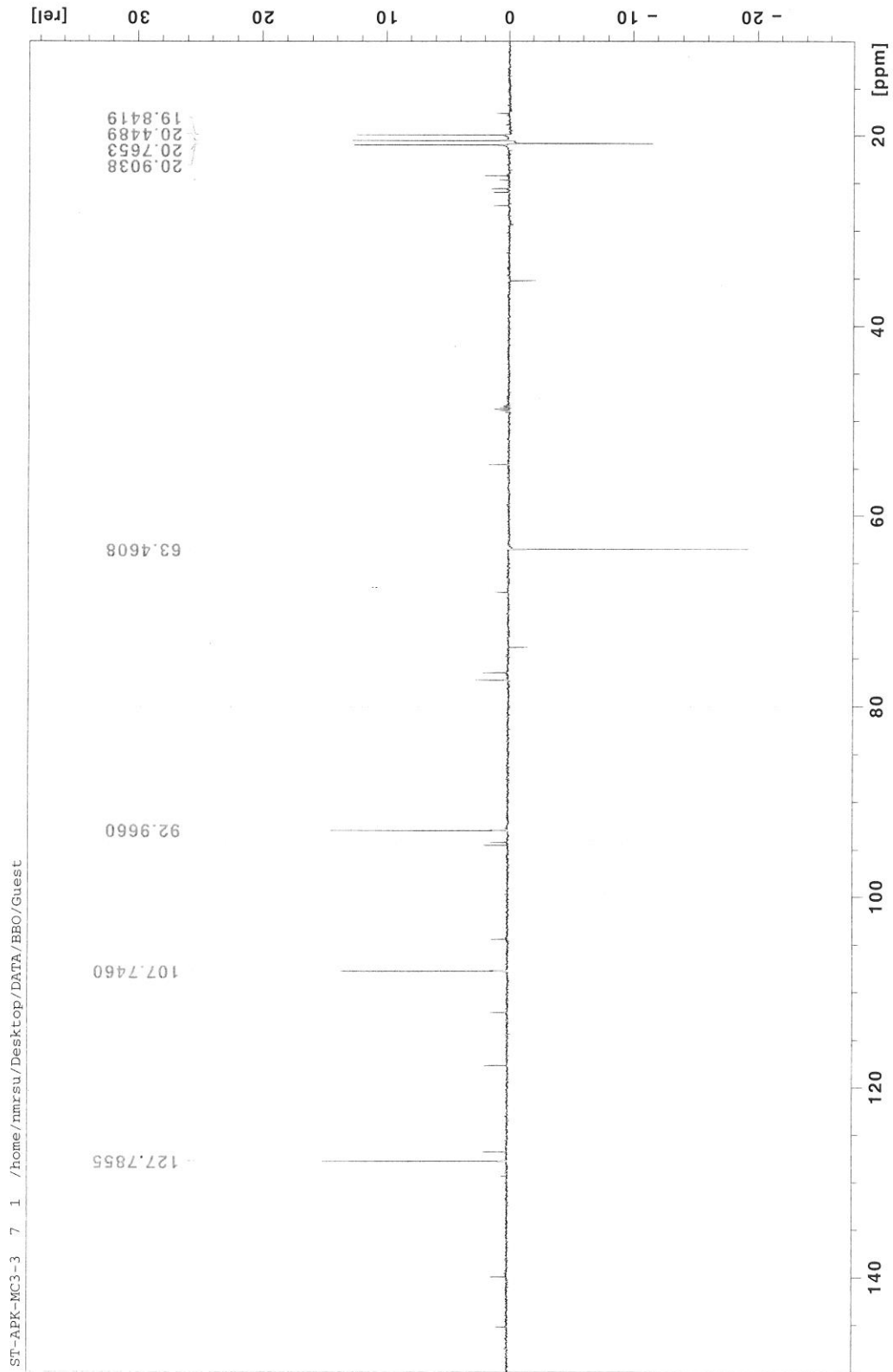
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150611
Time 8.58
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8841
DS 4
SWH 29761.904 Hz
FIDRES 0.908261 Hz
AQ 0.5505524 sec
RG 2050
DW 16.800 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
D1 2.0000000 sec
D11 0.0300000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 125.8043140 MHz
NUC1 13C
P1 11.50 usec

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 125.7904946 MHz
EM
WDW 0
SSB 0
LB 1.50 Hz
GB 0
PC 1.40



Spektar 6



ST-APK-MC3-3 7 1 /home/nmrsl/Desktop/DATA/BBO/Guest

Spektar 7

Current Data Parameters
NAME APK2-MC3B
EXPNO 3
PROCNO 1

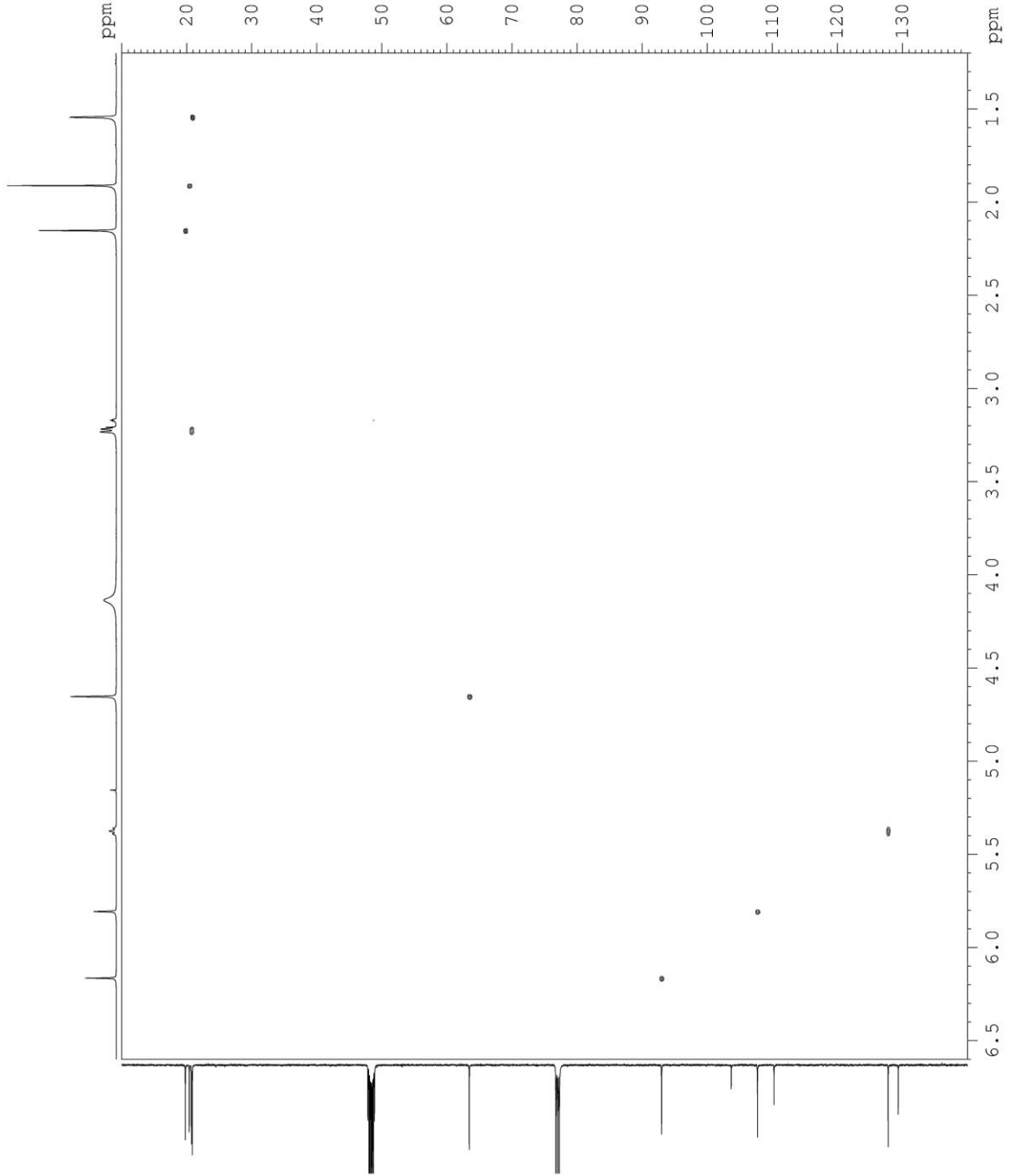
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150616
Time 20.04
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG haqcetps12
TD 1024
SOLVENT CDC13
DS 16
SWH 2948.113 Hz
FIDRES 2.879017 Hz
AQ 0.11737204 sec
RG 2050
DW 169.600 usec
TE 298.20 K
CNST2 145.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 2.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D16 0.00020000 sec
D18 0.00020000 sec
TH0 0.0002217 sec
ZGOFINS 0.00002210 sec

===== CHANNEL f1 =====
SF01 500.2618840 MHz
NUC1 1H
P1 9.35 usec
F2 18.70 usec
F28 1000.00 usec

F1 - Acquisition Parameters
ND0 2
TD 128
SF01 125.8005 MHz
FIDRES 176.75347 Hz
SFO2 125.768000 MHz
FWDODE Echo-Antiecho

F2 - Processing Parameters
SI 2048
SF 500.2600095 MHz
WDW QSINE
SSB 0
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing Parameters
SI 1024
MC2 echo-antiecho
SFO1 125.793811 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0



Spektar 8

Current Data Parameters
NAME APK2-MC3B
EXPNO 3
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time 20.04
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG hsqcetps12
PC 1.04
SOLVENT CDCl3
NS 32
DS 16

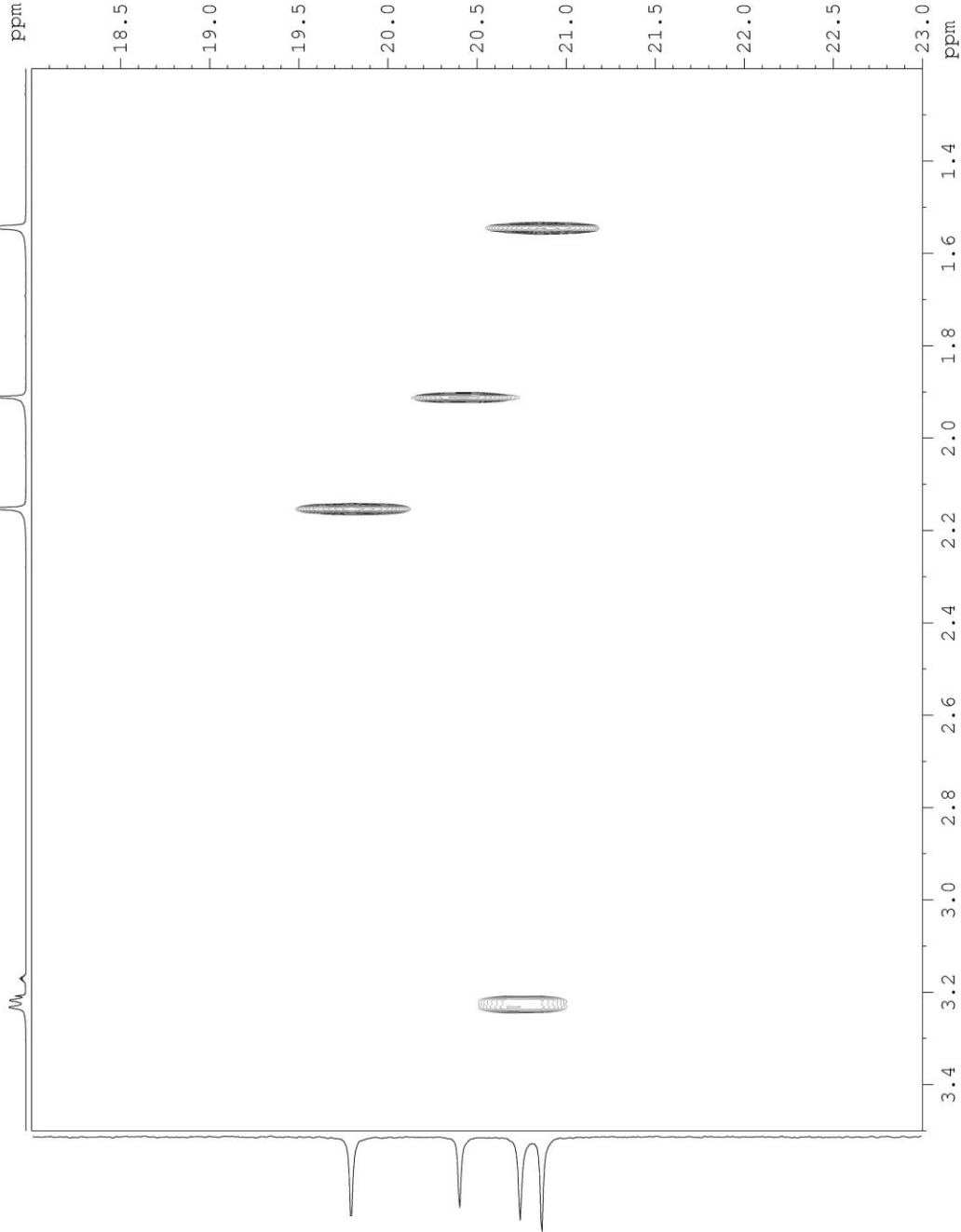
DS 16
S1 2948.113 Hz
FIDRES 2.879017 Hz
AQ 0.1737204 sec
RG 200
DE 169.650 usec
TE 298.0 K
CNS12 145.0000000
D0 0.0000300 sec
D1 2.0000000 sec
D2 0.0000000 sec
D3 0.0300000 sec
D4 0.0002000 sec
D5 0.00086207 sec
D6 0.00002210 sec
IN0 0.00002210 sec
ZGPTNS

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 500.2618840 MHz
NUC1 1H
P1 9.35 usec
P2 18.70 usec
PZ8 1000.00 usec

F1 - Acquisition Parameters
ND0 128
ID 128
SFO1 125.8005 MHz
FIDRES 176.753387 Hz
SW 179.844 ppm
FMODE Echo-Antiecho

F2 - Processing Parameters
SI 2048
SF 500.2600095 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing Parameters
SI 1024
MC2 echo-antiecho
SF 125.7908831 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0



Spektar 9

Current Data Parameters
NAME AFR2-MC3B
EXPERO 4
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time 22.34
INSTRUM spect
PULPROG 5 amp prog
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time 22.34
INSTRUM spect
PULPROG 5 amp prog
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time 22.34
INSTRUM spect
PULPROG 5 amp prog

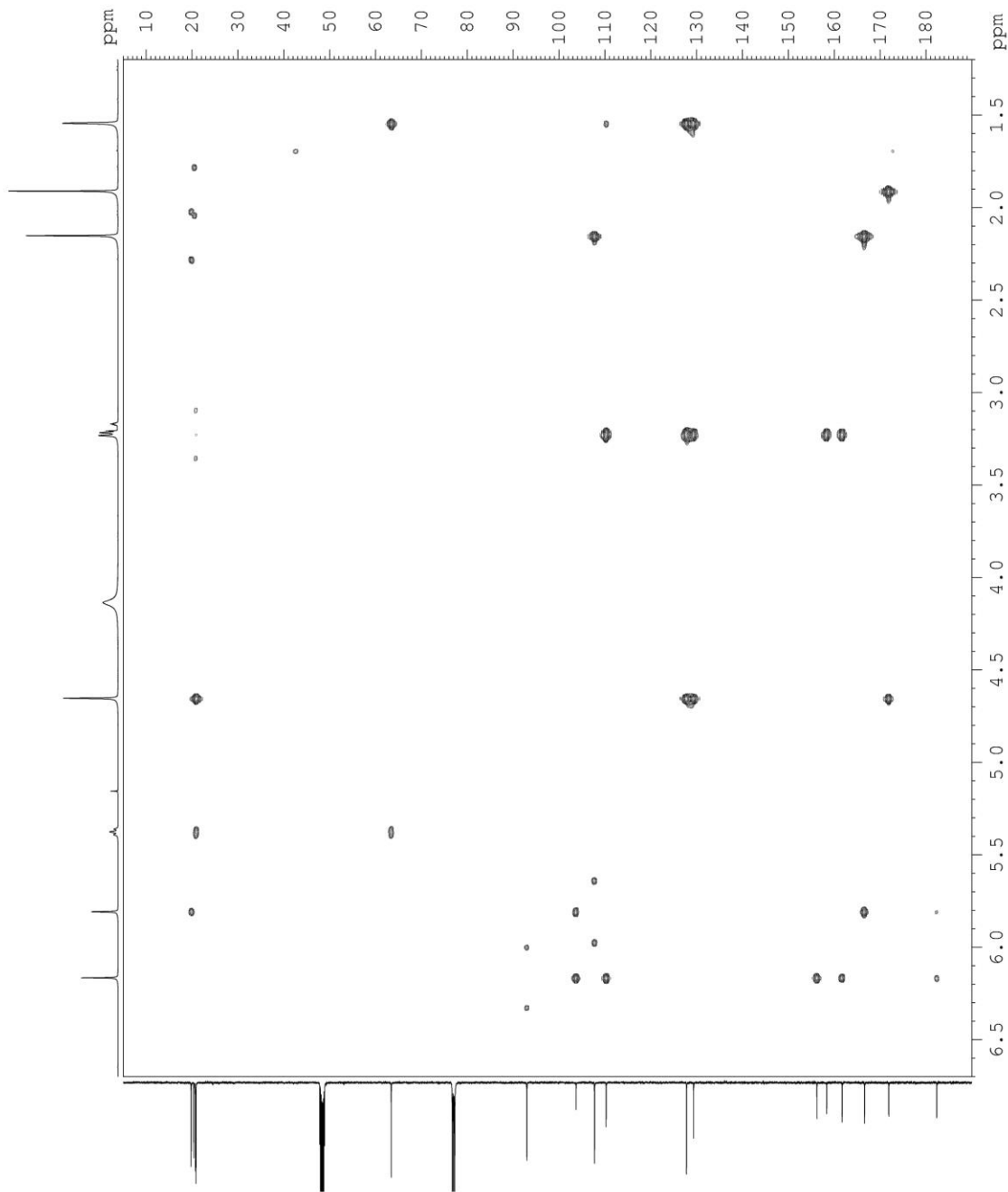
NS 32
DS 2948.16 Hz
SH 2.879017 Hz
FIDRES 0.1737204 sec
AQ 2050
RG 169.600 usec
DE 6.50 usec
TE 300.2 K
CNS12 145.000000
CNS13 8.000000
D0 0.0000300 sec
D1 1.5000000 sec
D2 0.0034828 sec
D3 0.0020000 sec
D4 0.0020000 sec
D5 0.0020000 sec
D6 0.0020000 sec
D7 0.0020000 sec
D8 0.0020000 sec
D9 0.0020000 sec
D10 0.0020000 sec

CHANNEL f1
SFO1 500.2618840 MHz
NUC1 13C
P1 9.30 usec
P2 18.70 usec

F1 - Acquisition Parameters
ND0 2
FID1 256
SFO1 125.826 MHz
FIDRES 117.658134 Hz
SW 239.423 ppm
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time 22.34
INSTRUM spect
PULPROG 5 amp prog
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time 22.34
INSTRUM spect
PULPROG 5 amp prog

SI 1024
SF 500.2600096 MHz
WDW COSY
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing Parameters
SI 1024
MC2 QF
SF 125.7904801 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0



Spektar 10

Current Data Parameters
NAME AFK2-MC3B
EXNO 4
PROCNO 1

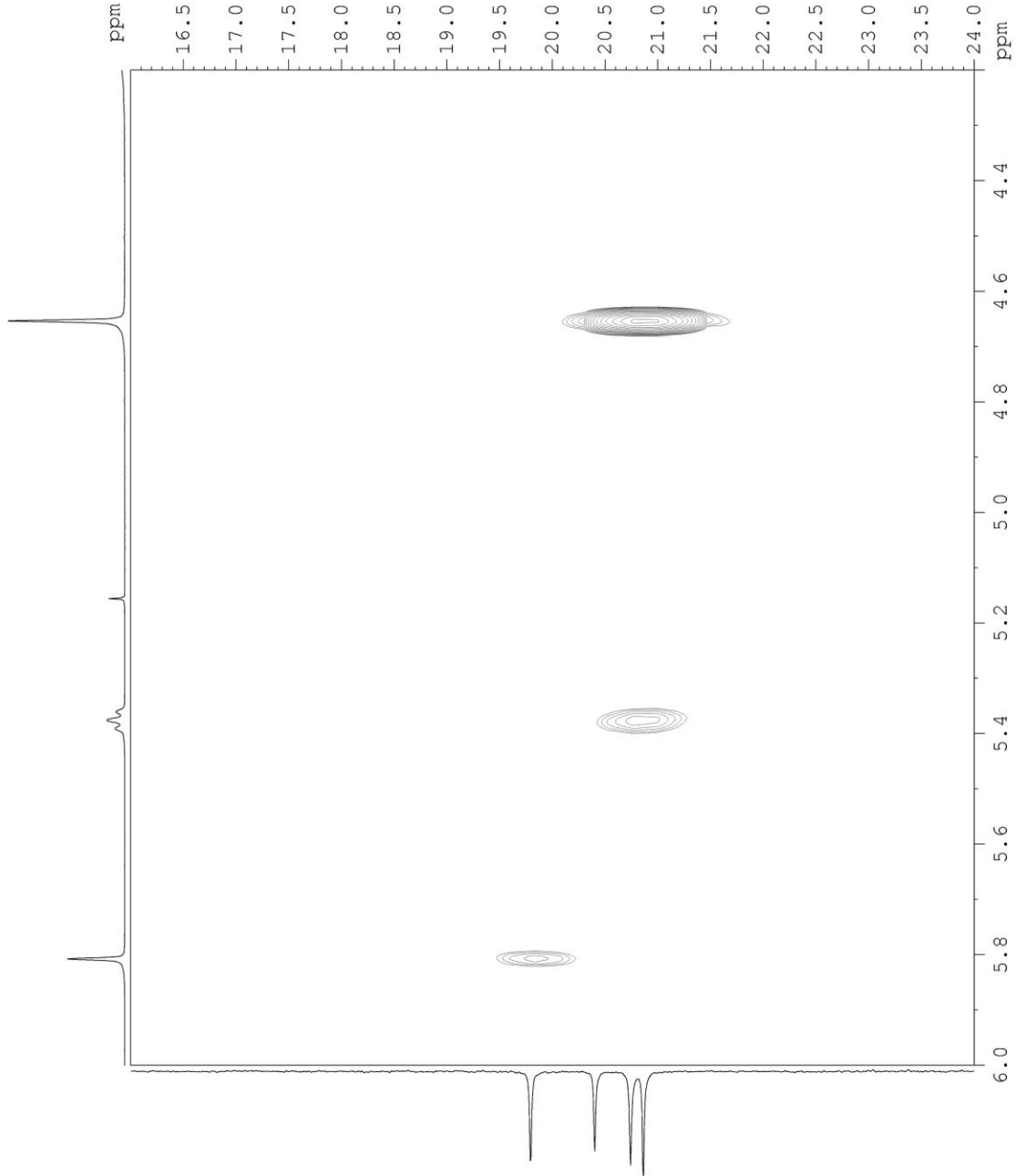
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150610
Time_ 22.34
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG hmbcgp1pndqf
TD 1024
SOLVENT CDCl3
NS 32
DS 2
SWH 2948.113 Hz
FIDRES 2.879017 Hz
AQ 0.1737204 sec
RG 2050
DE 169.600 usec
TE 298.0 K
CNST13 8.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.50000000 sec
D2 0.00344828 sec
D6 0.06250000 sec
D16 0.00020000 sec
IN0 0.00001660 sec

===== CHANNEL F1 =====
SF01 500.2618840 MHz
NUC1 1H
P1 9.35 usec
P2 18.70 usec

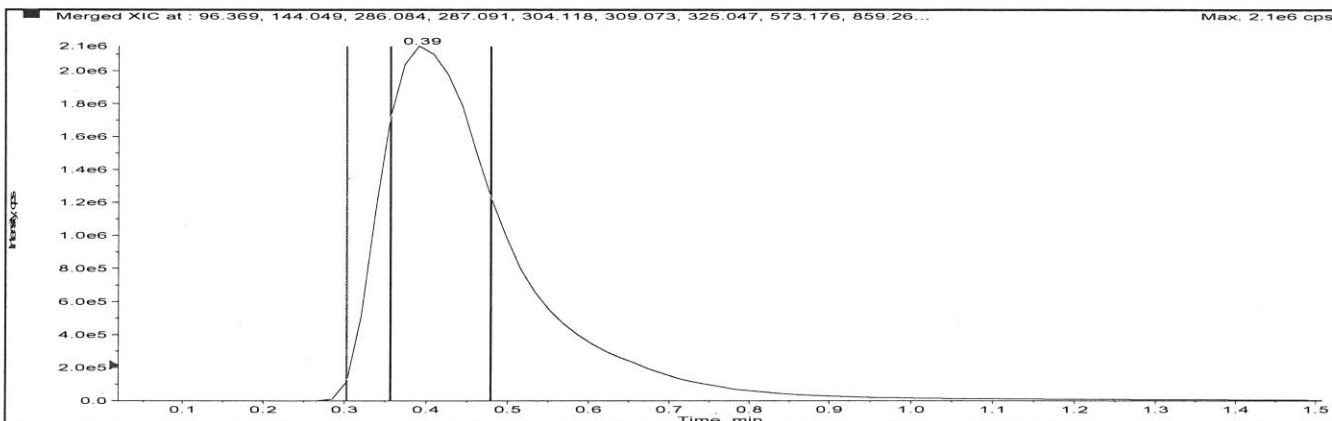
F1 - Acquisition Parameters
ND0 2
ID01 125.8025 MHz
FIDRES 117.658134 Hz
SW 239.423 ppm
FMODE QF

F2 - Processing parameters
SI 2048
SF 500.2600096 MHz
AQ 1024
GB 0.00 Hz
GB 0
FC 1.40

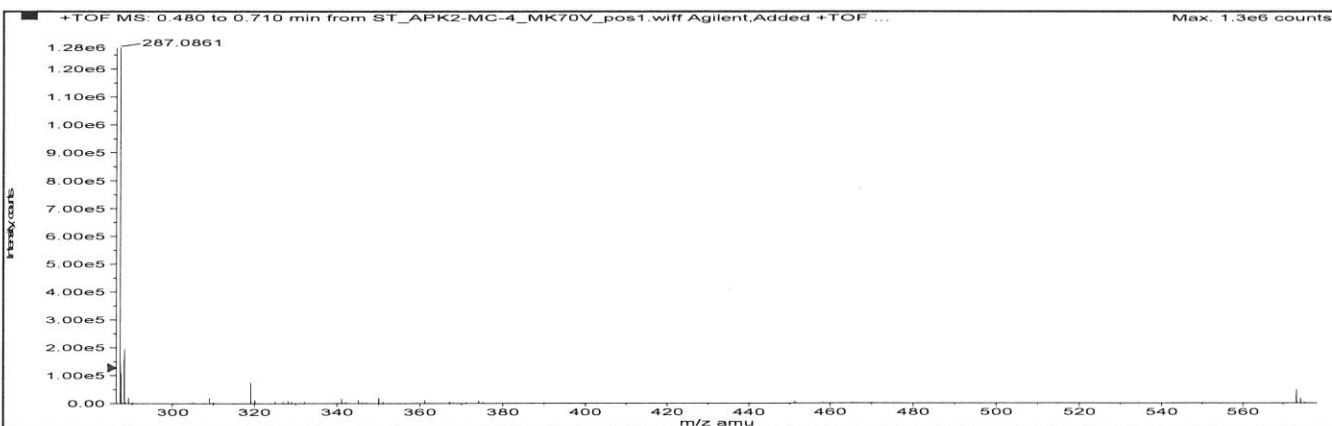
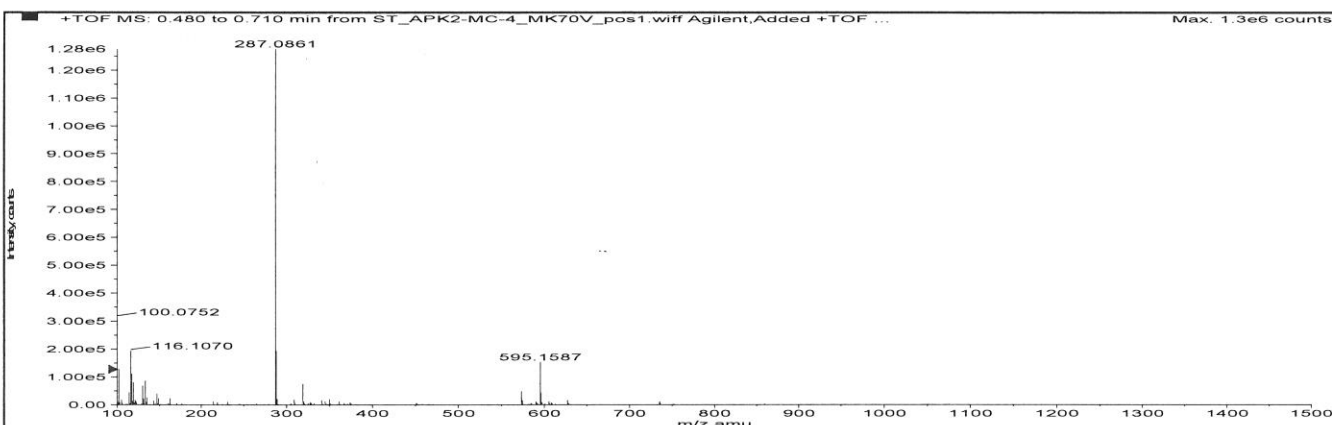
F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 125.7904600 MHz
WPM 0
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0



Spektar 11



Merged XIC, Period# : 1 Experiment# : 1



Formula	Compound name	Mass	Peak RT (min)	Peak area	Description
C16H14O5	--	286.08412	0.39	2.34809 E7	--

Species	Abundance (counts)	Ion Mass	Measured Mass	Error (mDa)	Error (ppm)	Ret. Time Error (min)
[M+H] ⁺	1301050.81	287.09140	287.09121	-0.18653	-0.65	--
[M+Na] ⁺	18464.66	309.07334	309.07366	0.31649	1.02	--
[2M+H] ⁺	52051.91	573.17552	573.17390	-1.61970	-2.83	--

Spektar 12

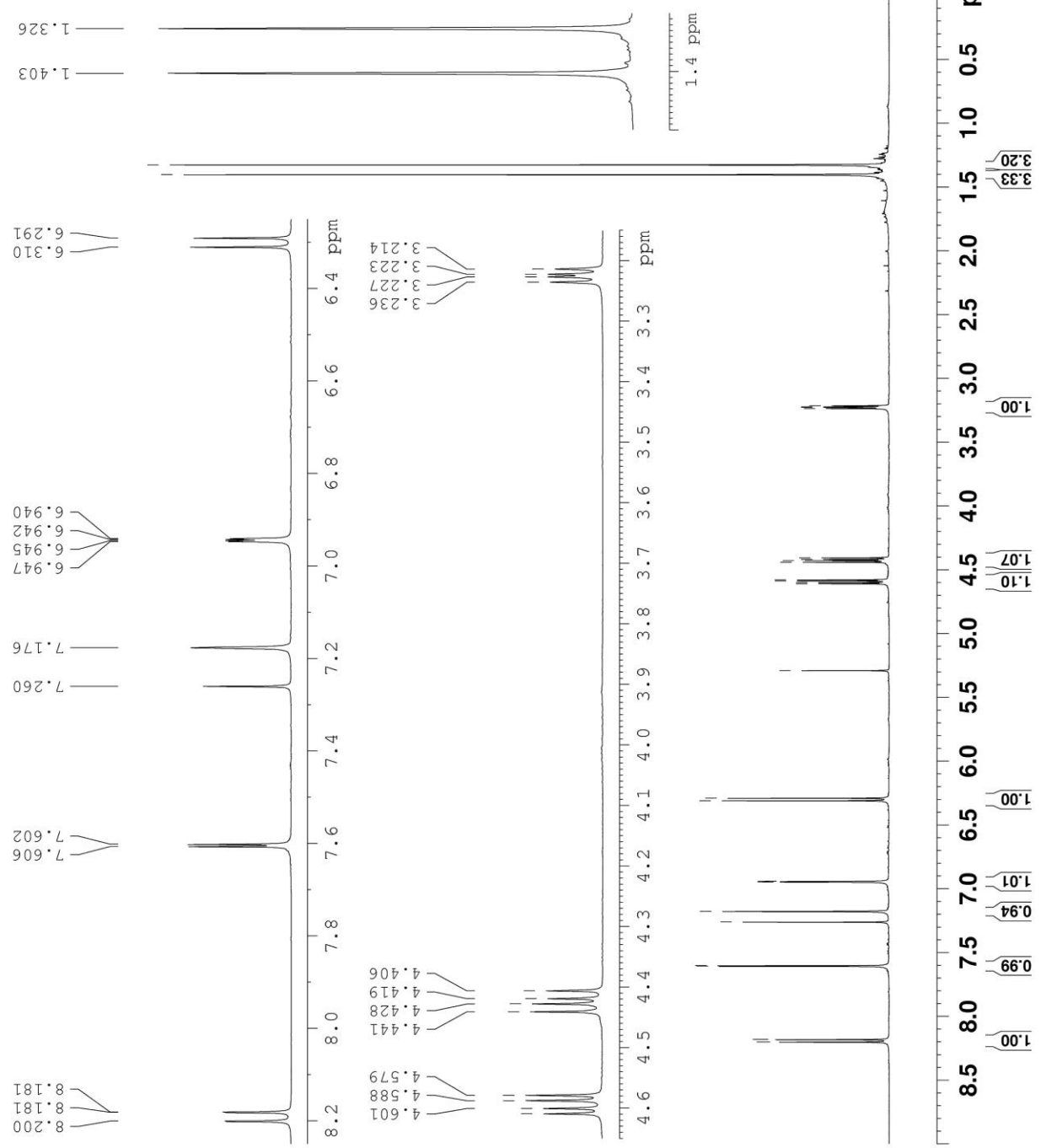
```

Current Data Parameters
NAME      APR2-MC4
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Paramete
Date_    20150506
Time     14.14
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG  zg30
TD        32768
SOLVENT  CDCl3
NS        16
DS        0
SWH       7048.872
FIDRES    0.215115
AQ        2.3243935
RG        128
DW        70.933
DE        6.50
TE        298.0
D1        2.0000000
TD0       1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     500.2633510
NUC1     1H
P1       9.35

F2 - Processing Paramete
SI        32768
SF        500.2600120
WDW       EM
SSB       0
LB        0.20
GB        0
PC        1.00
    
```



Spektar 13

Current Data Parameters
NAME APK2-MC4
EXPNO 3
PROCNO 1

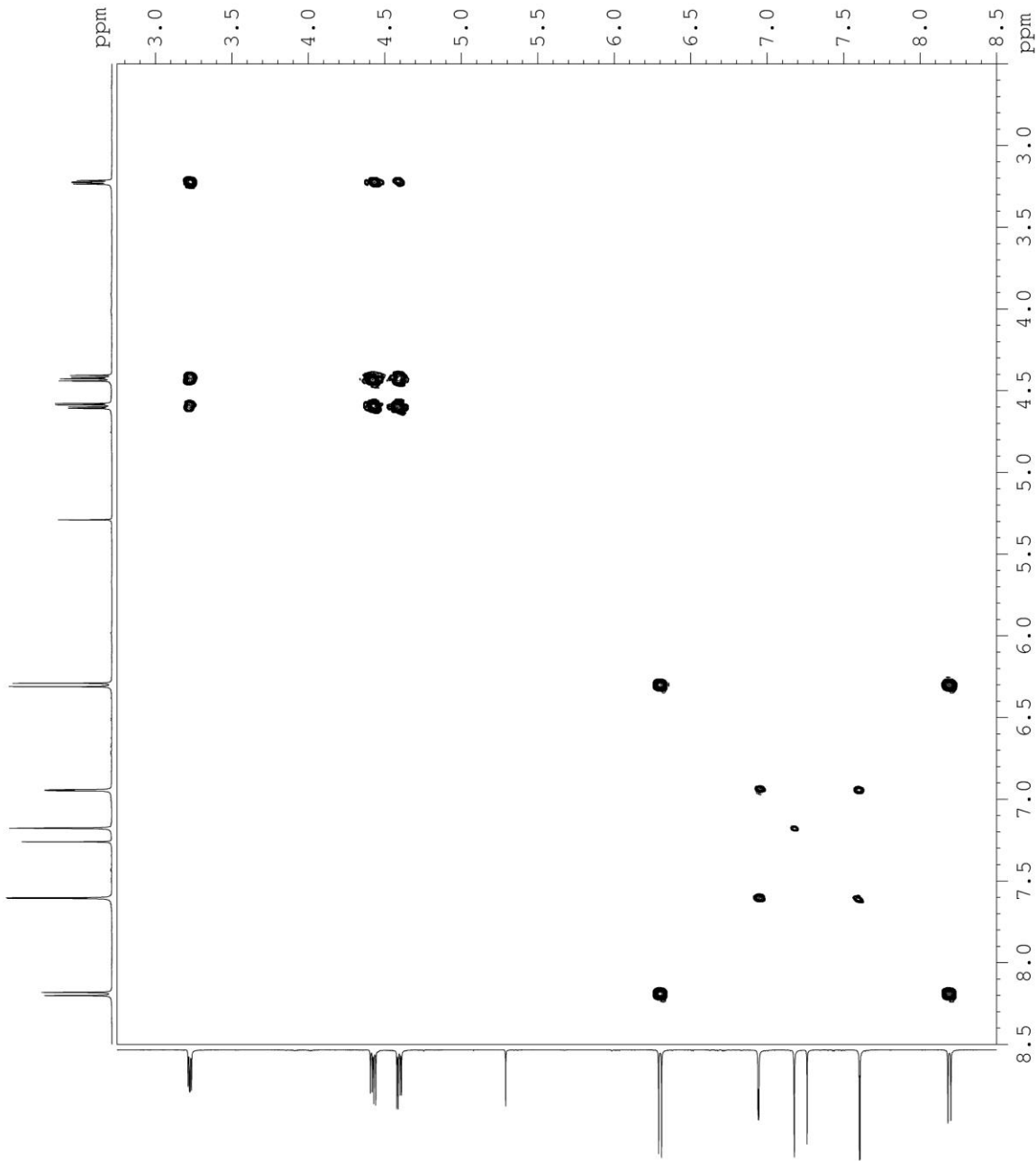
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20150506
Time_ 14.33
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO BE-1H
PULPROG cosygmrf
M2 4
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 4
SWH 4084.967 Hz
FIDRES 3.989226 Hz
AQ 0.1253976 sec
RG 327.5
DM 122.400 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
D0 0.0000300 sec
D1 1.0000000 sec
D2 0.0000000 sec
D3 0.0000000 sec
D4 0.0002000 sec
IN0 0.0002480 sec

===== CHANNEL f1 =====
SF01 500.2624663 MHz
NUC1 1H
F1 9.35 usec

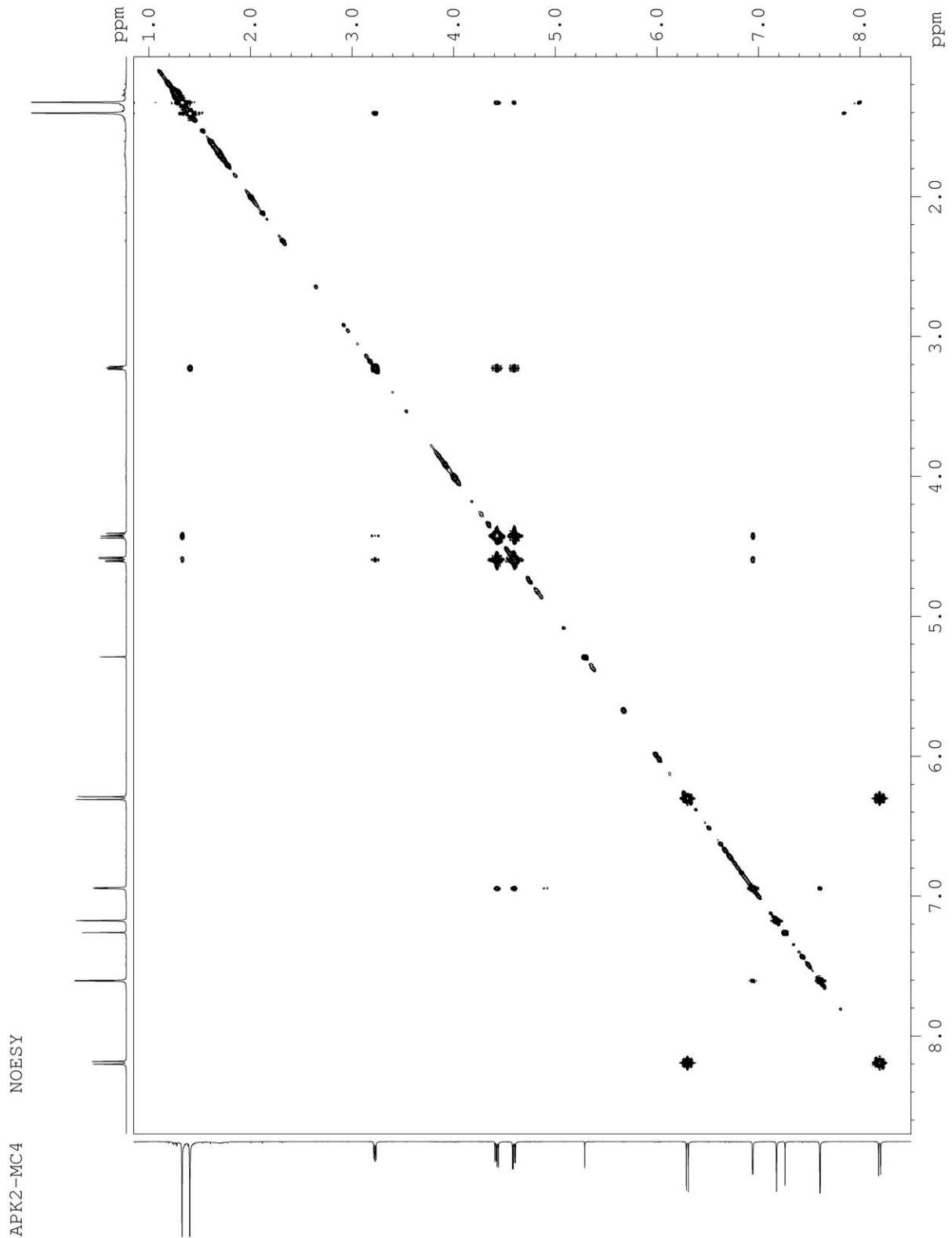
F1 - Acquisition parameters
ND0 1
ID 161
SF01 500.2625 MHz
FIDRES 25.372467 Hz
SFO 6.67 PPM
FMODE QF

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 500.2600110 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40

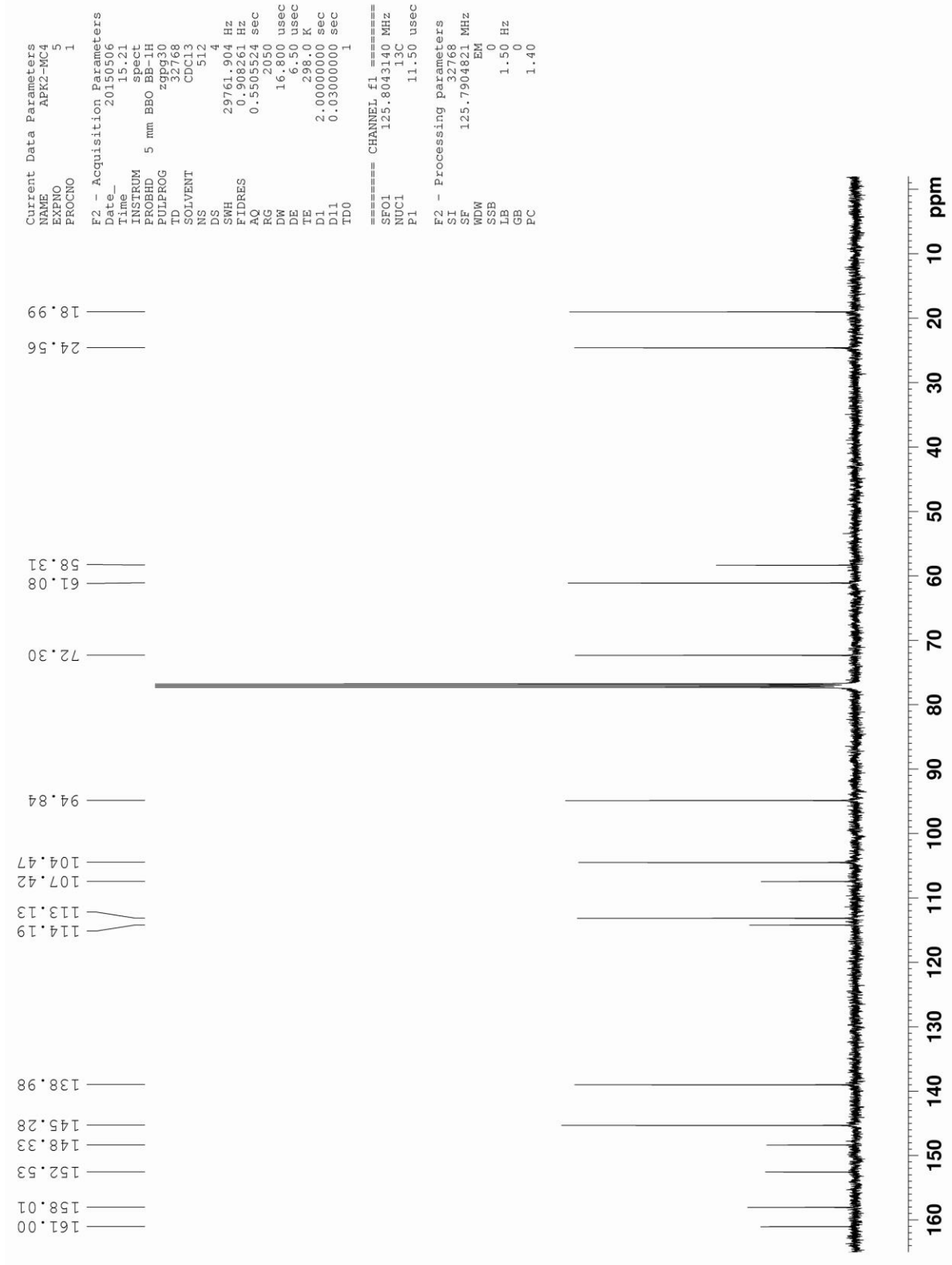
F1 - Processing parameters
SI 1024
SF 500.2600109 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0



Spektar 14

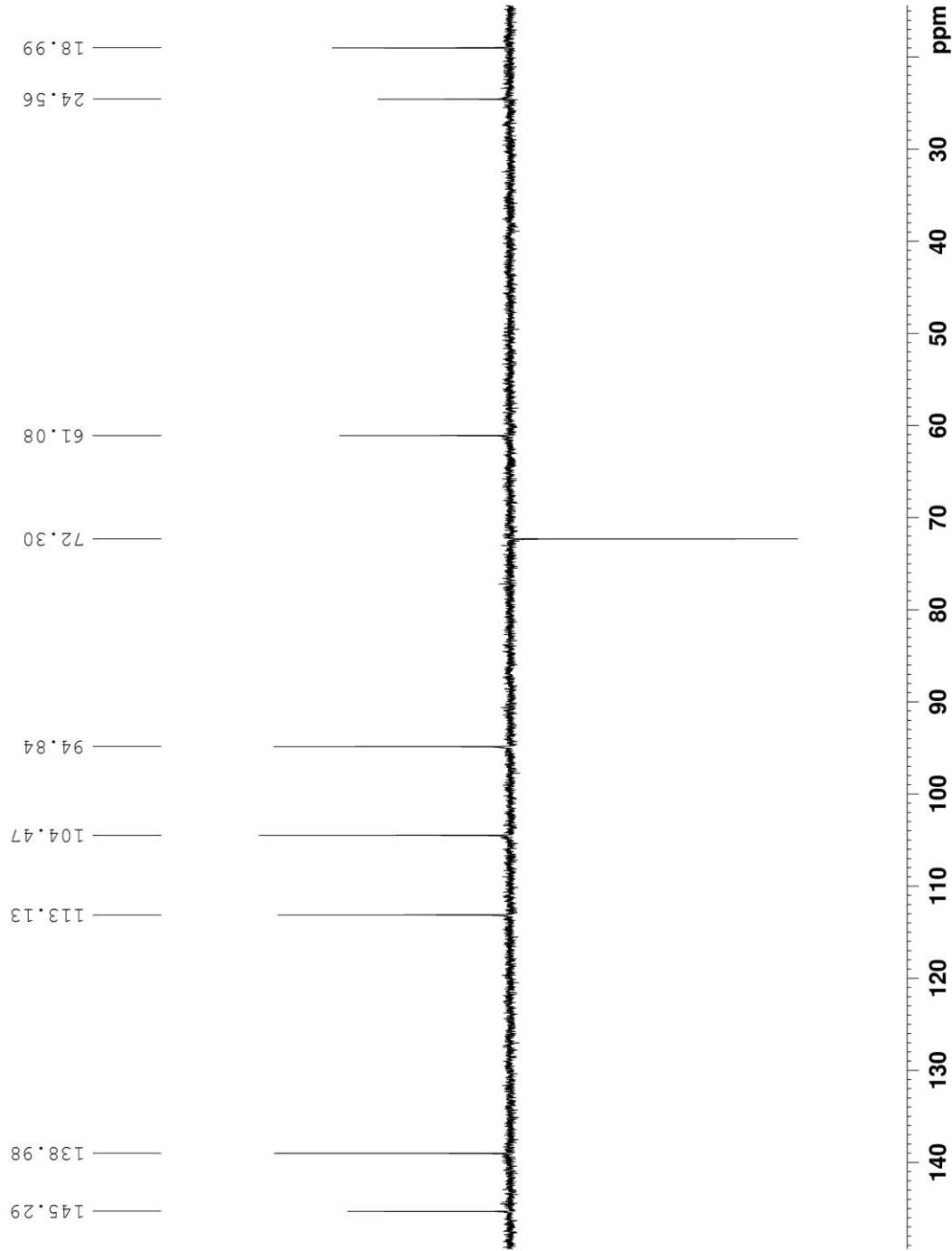


Spektar 15

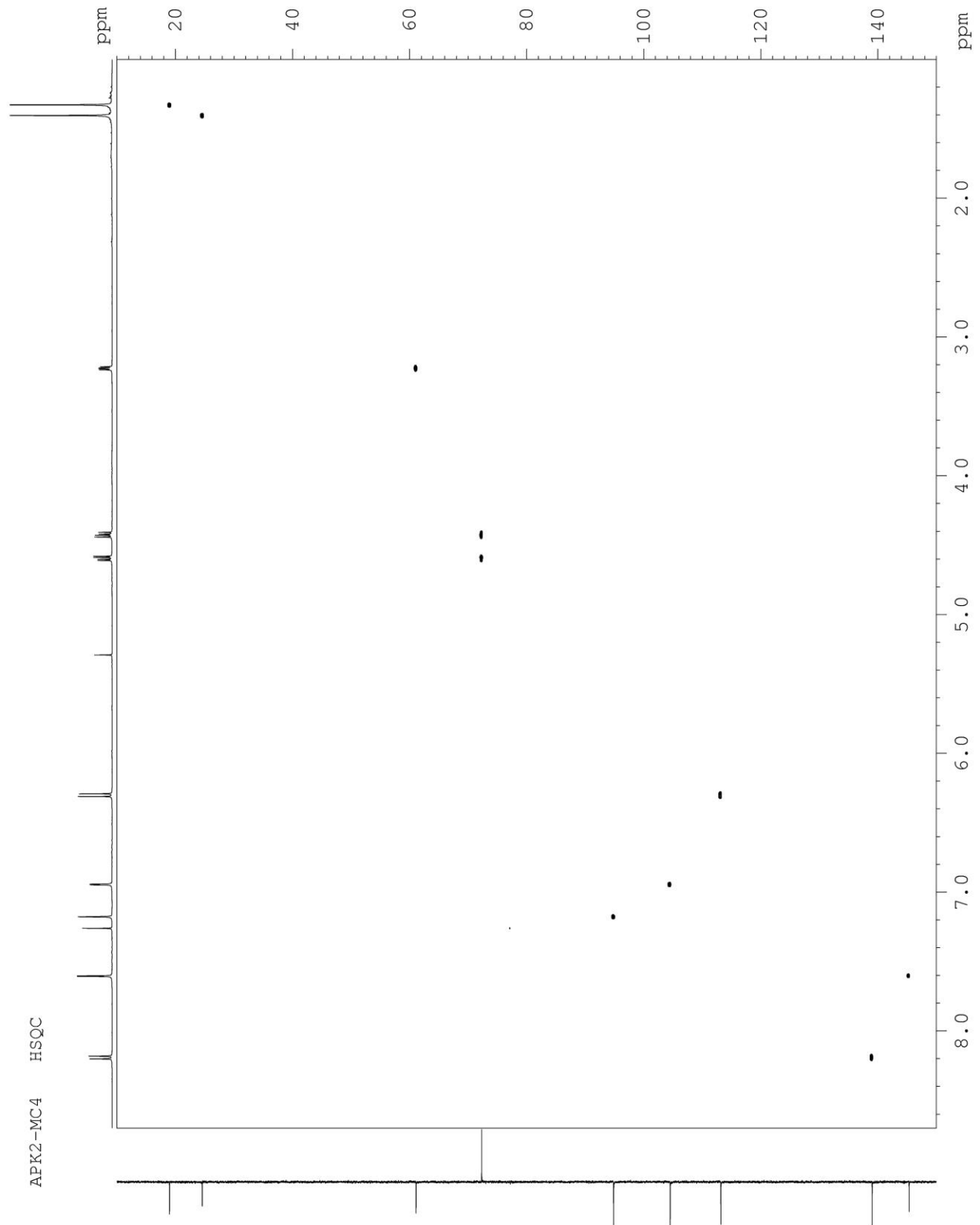


Spektar 16

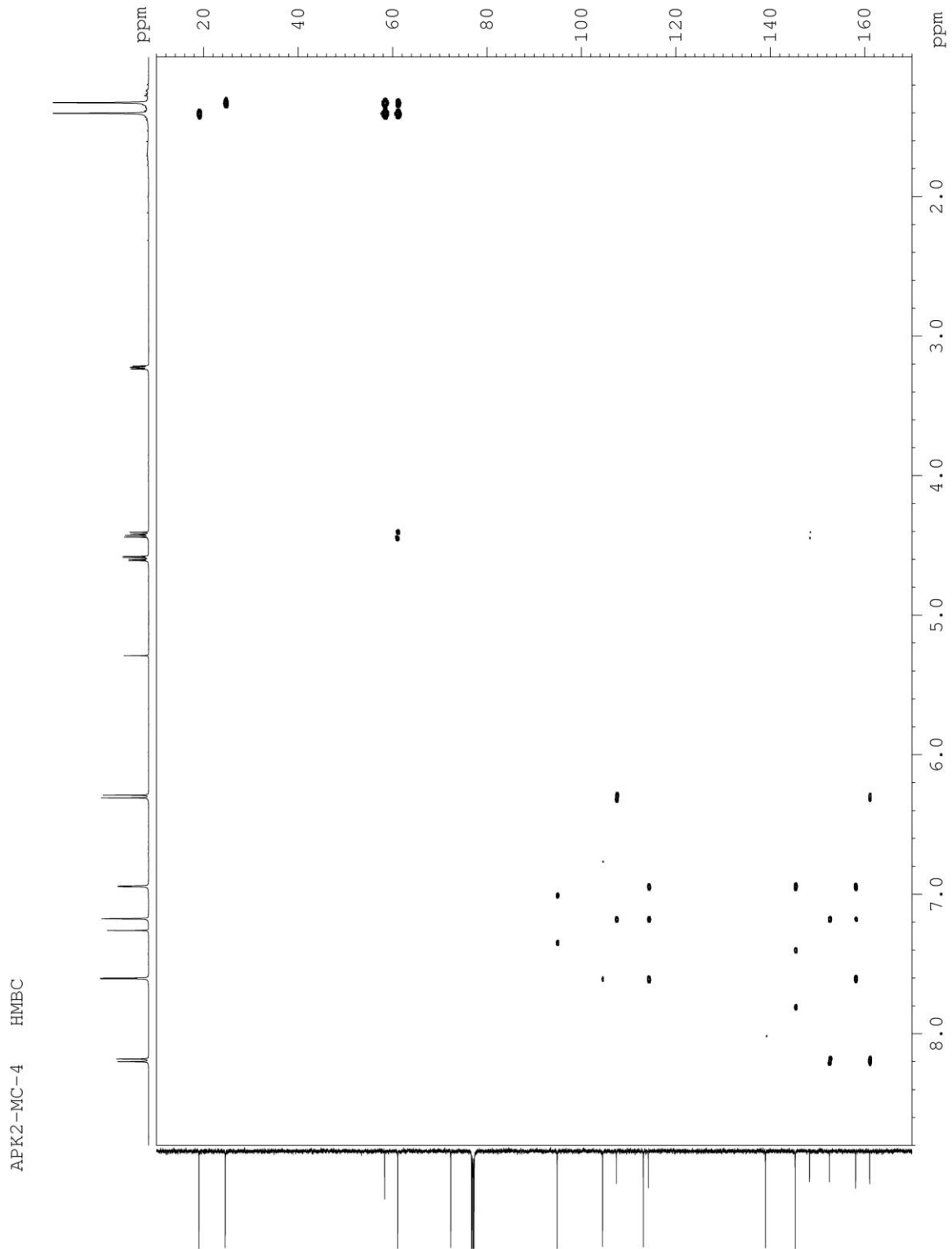
Current Data Parameter
NAME APK2-MC
EXPNO
PROCNO
F2 - Acquisition Param
Date_ 2015050
Time_ 14.1
INSTRUM spec
PROBHD 5 mm BBO BB-1
PULPROG dept13
TD 3276
SOLVENT CDC1
NS 20
DS
SWH 29761.90
FIDRES 0.90826
AQ 0.550552
RG 205
DM 16.80
DE 6.5
TE 298.
CNS12 145.000000
D1 2.0000000
D2 0.0034482
D12
TD0
===== CHANNEL f1 ==
SF01 125.804314
NUC1 13
P1 11.5
P2 23.0
F2 - Processing param
SI 3276
SF 125.790482
WDW E
SSB 1.5
LB
GB
PC 1.4



Spektar 17



Spektar 18



BIOGRAFIJA

Ksenija Mileski je rođena 08.05.1983. godine u Jalti (Ruska Federacija). Osnovnu školu “Veselin Masleša“ i srednju školu „Medicinska škola Zvezdara“ završila je u Beogradu. Na Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisala se školske 2002/03, a diplomirala 2010. godine sa prosečnom ocenom 8,78. Diplomski rad pod naslovom “Hemijski sastav i antimikrobna aktivnost etarskog ulja *Helichrysum italicum* (Asteraceae)” i odbranila sa ocenom 10.

Školske 2010/11 godine upisala je doktorske akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na modulu Eksperimentalna i primenjena botanika na Katedri za morfologiju i sistematiku biljaka. Od januara 2011. godine angažovana je kao istraživač - pripravnik, a od januara 2014. u zvanju istraživač - saradnik na projektu Ministarstva nauke, prosvete i tehnološkog razvoja Republike Srbije pod nazivom: „Mikromorfološka, fitohemijska i molekularna istraživanja biljaka - sistematski, ekološki i primenljivi aspekti“ (OI 173029) na Katedri za morfologiju i sistematiku biljaka Instituta za botaniku i Botaničke bašte „Jevremovac“ i Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom Prof. dr Petra D. Marina.

Dosadašnji naučno - istraživački rad Ksenije Mileski je iz oblasti fitohemije i biološke aktivnosti biljaka. Objavila je 5 naučnih radova u časopisima međunarodnog značaja, učestovala je sa 13 saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima, što ukupno čini 18 bibliografskih jedinica.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора _____ Ксенија Милески _____

Број индекса _____ Б3028/2010 _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Фитохемијска анализа и биолошки потенцијал врста *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer., *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. и *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 25.11.2016.

Милески Ксенија

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора _____ Ксенија Милески _____

Број индекса _____ Б3028/2010 _____

Студијски програм _____ Биологија _____

Наслов рада „Фитохемијска анализа и биолошки потенцијал врста *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer., *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. и *Angelica pancicii* Vandas (Ariaceae)“ _____

Ментори _____ Ана Џамић, Петар Марин _____

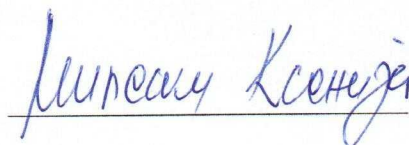
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 25.11.2016.



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Фитохемијска анализа и биолошки потенцијал врста *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer., *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. и *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

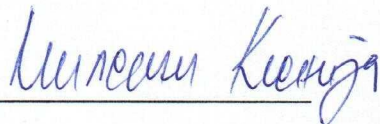
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 25.11.2016.



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.