

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
UNIVERZITETA U BEOGRADU - FARMACEUTSKOG FAKULTETA
KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKU NASTAVU – DOKTORSKE STUDIJE**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta, održanoj 19.06.2014. godine, imenovana je Komisija u sastavu:

1. Prof. dr Zoran Maksimović, vanredni profesor, mentor, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
2. Dr Teodora Janković, viši naučni saradnik, mentor, Institut za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić", Beograd
3. Prof. dr Slavica Ražić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
4. Dr Tatjana Čebović, docent, Univerzitet u Novom Sadu - Medicinski fakultet
5. Prof. dr Branislava Lakušić, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije pod nazivom „**Morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija odabranih vrsta roda *Veronica L. (Plantaginaceae)***“, kandidata dipl. farm. Jelene Č. Živković, istraživača saradnika, zaposlene u Institutu za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“ u Beogradu. Članovi Komisije su pregledali priloženu disertaciju i podnose Nastavno-naučnom veću Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta sledeći

I Z V E Š T A J

1. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija dipl. farm. Jelene Č. Živković pod nazivom „**Morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija odabranih vrsta roda *Veronica L. (Plantaginaceae)***“, napisana je na 220 strana i obuhvata sledeće celine: Uvod, Cilj rada, Materijal i metode, Rezultati i diskusija, Zaključci i Literatura. Na početku doktorske disertacije navedeni su sadržaj prema poglavljima, rezime i ključne reči na srpskom i

engleskom jeziku. Rad sadrži 47 slika, 38 tabela i 310 literaturnih navoda koji se tiču razmatrane problematike.

U **Uvodu** je pružen sveobuhvatan pregled dosadašnjih saznanja od značaja za temu doktorske disertacije. Prikazan je položaj roda *Veronica* L. u sistemu klasifikacije i dat je pregled zastupljenosti vrsta ovog roda u Flori Srbije i Flori Evrope. Za vrste koje su predmet doktorske disertacije dati su detaljan opis i rasprostranjenje. U sledećem odeljku prikazana je tradicionalna upotrebu vrsta roda *Veronica*. Pregled sekundarnih metabolita karakterističnih za ovaj rod dat je kroz sledeća poglavlja: flavonoidi (flavonoidni aglikoni i flavonoidni glikozidi), iridoidi i feniletanoidni glikozidi. Zatim su navedeni rezultati dosadašnjeg proučavanja sadržaja teških metala u vrstama ovog roda, kao i njihovog farmakološkog delovanja. U završnom poglavlju Uvoda posebna pažnja je posvećena ulozi oksidativnog stresa u razvoju neurodegenerativnih bolesti, inflamacije i kancerogeneze.

Cilj rada je jasno definisan i obuhvata morfološku, hemijsku i farmakološku karakterizaciju tri vrste roda *Veronica*: *Veronica jacquinii* Baumg., *Veronica teucrium* L. i *Veronica urticifolia* Jacq. U skladu sa ciljem definisani su neposredni zadaci istraživanja. Morfološka karakterizacija podrazumevala je analizu poprečnih preseka nadzemnih delova ispitivanih vrsta, kao i sprašenog biljnog materijala primenom histochemijskih metoda i svetlosne mikroskopije. U okviru hemijske karakterizacije određen je sadržaj teških metala (Cu, Zn, Fe, Mn i Cr) nakon mikrotalasne digestije uzoraka u kiseloj sredini primenom tehnika plamene i elektrotermalne atomske apsorpcione spektroskopije u uzorcima odabranih *Veronica* vrsta i odgovarajućeg zemljišta. Dalji cilj bio je uporedna kvalitativna i kvantitativna analiza ekstrakata herbi kombinovanjem različitih hromatografskih tehnika. Farmakološka karakterizacija podrazumevala je ispitivanje antioksidantne, antiinflamatorne, antibakterijske, neuroprotektivne i antitumorske aktivnosti.

U poglavlju **Materijal i metode** dati su podaci o uzorcima ispitivanog biljnog materijala (vreme i mesto sakupljanja), načinu izrade suvih metanolnih, vodenih i acetonsko-vodenih ekstrakata, navedena je korišćena aparatura i opisane su metode primenjene u eksperimentalnom radu. Opisani su spektrofotometrijski postupci određivanja sadržaja ukupnih fenola, fenilpropanoide i iridoida. Dati su uslovi HPLC i HPTLC analize 70%-nih ekstrakata, kao i uporedne kvalitativne i kvantitativne LC-DAD-ESI/MS i LC-MS/MS analize. Detaljno su opisane sve eksperimentalne procedure primenjene u farmakološkoj karakterizaciji odabranih taksona. Antioksidantna aktivnost 70%-nih ekstrakata herbi odabranih *Veronica* vrsta određena je *in vitro* testovima na osnovu sposobnosti redukcije kompleksa Fe³⁺-tripiridiltetrazin i sposobnosti neutralizacije 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil

(DPPH) radikala. Antioksidantna aktivnost *in vivo* ispitivan je na modelu hepatotoksičnosti indukovane primenom CCl_4 kod pacova, praćenjem biohemijskih parametara oksidativnog stresa. Neuroprotektivni efekat 70%-nih acetonskih ekstrakata odabranih *Veronica* vrsta ispitivan je u kulturi humane neuroblastomske ćelijske linije SH-SY5Y gde je testom kisele fosfataze praćen uticaj ekstrakata na preživljavanje ovih ćelija nakon kombinovanog tretmana stresora (SNP ili H_2O_2) i odgovarajućeg ekstrakta. Antiinflamatorni efekat 70%-nih acetonskih ekstrakata određen je primenom *ex vivo* metode zasnovane na praćenju produkcije metabolita 12-HHT, TXB_2 i PGE_2 kao proizvoda ciklooksigenaznog puta i 12-HETE kao proizvoda lipooksigenaznog puta metabolizma arahidonske kiseline. Antitumorska svojstva ispitivanih ekstraktata procenjivana su kod miševa sa Erlihovim ascitnim tumorom praćenjem parametara kao što su zapremina ascitesa, broj tumorskih ćelija i njihova vijabilnost. Antibakterijska aktivnost ekstrakata testirana je bujon mikrodilucionim testom prema četiri Gram (+) i tri Gram (-) bakterije.

Dobijeni rezultati su prikazani i diskutovani u poglavlju **Rezultati i diskusija** na 98 stranica teksta, kroz 39 slika i 22 tabele. Kandidat je detaljno povezao dobijene sa postojećim rezultatima drugih autora, na taj način donoseći odgovarajuće zaključke.

U poglavlju **Zaključci** navedeni su najznačajniji zaključci koji su izvedeni iz rezultata istraživanja i njihove analize.

U poglavlju **Literatura** dat je spisak 310 referenci citiranih vankuverskim stilom.

2. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

U okviru doktorske disertacije izvršeno je morfološko, hemijsko i farmakološko ispitivanje tri taksona roda *Veronica*: *V. urticifolia*, *V. jacquinii*, *V. teucrium*, široko rasprostranjenih na teritoriji Srbije.

Sa ciljem utvrđivanja mikromorfoloških obeležja, kao i anatomske građe, sprovedena je mikroskopska analiza sprašene herbe i poprečnih preseka lista i stabla odabranih *Veronica* vrsta. Analizom sprašenog biljnog materijala uočeno je prisustvo sledećih zajedničkih karakteristika: stoma anomocitnog tipa, nežlezdanih, višećelijskih dlaka i žlezdanih dlaka tipa kapitatnih. Rezultati histohemijske analize ukazali su na prisustvo lipida, alkaloida, skroba, fenolnih jedinjenja i među njima flavonoida u ispitivanim vrstama. Fluorescentnom mikroskopijom utvrđeno je da su fenolna jedinjenja lokalizovana u kutikularnom sloju, trihomima i lignificiranim ćelijskim zidovima ksilema listova i stabla.

Sadržaj teških metala (Cu, Zn, Fe, Mn i Cr) u uzorcima odabranih *Veronica* vrsta i odgovarajućeg zemljišta određen je primenom tehnika plamene i elektrotermalne atomske apsorpcione spektroskopije. Rezultati analize nisu pokazali značajne razlike između testiranih vrsta sa istog lokaliteta, ukazujući na to da obrazac preuzimanja teških metala nije karakteristika vrste. Na osnovu sadržaja Cr u herbi vrsta *V. jacquinii* i *V. urticifolia* raslih na serpentinskom zemljištu, zaključeno je da predstavljaju potencijalne hiperakumulatore ovog teškog metala. Sadržaj određivanih metala u uzorcima zemljišta je bio u očekivanom opsegu za odgovarajuću geološku podlogu.

U okviru preliminarne hemijske analize u metanolnim, vodenim i 70%-nim acetonskim ekstraktima ispitivanih *Veronica* vrsta određen je sadržaj ukupnih polifenola, fenilpropanoida i iridoida primenom kolorimetrijskih tehnika. Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima varirao je od 116,0 do 201,0 mg GAE/g, sa najvećim sadržajem zabeleženim u ekstraktima vrste *V. jacquinii*. Sadržaj ukupnih fenilpropanoida kretao se od 11,2 do 38,0 mg akteozida/g, pri čemu su ekstrakti vrste *V. teucrium* bili najbogatiji jedinjenjima ove grupe. Sadržaj ukupnih iridoida kretao se od 94,3 do 322,9 mg aukubina/g suvog ekstrakta, a najveći sadržaj zabeležen je u ekstraktima vrste *V. urticifolia*. Spektrofotometrijska analiza je izdvojila 70%-ne acetonske ekstrakte kao najbogatije pomenutim klasama sekundarnih metabolita, zbog čega su oni odabrani za dalju hemijsku i farmakološku analizu.

Sadržaj aukubina i akteozida u 70%-nim acetonskim ekstraktima ispitivanih taksona određen je primenom HPLC-DAD i HPTLC tehnika uz korišćenje standardnih supstanci. Dok je aukubin prisutan samo u ekstraktu herbe *V. urticifolia*, akteozid je zastupljen u sve tri vrste. Statističkom analizom potvrđeno je da nema razlika u sadržaju određivanih jedinjenja dobijenih primenom HPLC-DAD i HPTLC tehnika.

Rezultati uporedne kvalitativne i kvantitativne LC-DAD/ESI-MS analize ekstrakata herbi odabranih *Veronica* vrsta ukazali su na njihove međusobne razlike.

- a) U ekstraktu herbe *V. urticifolia* glavnu frakciju činili su flavoni (derivati apigenina i luteolina), a pored njih su bili prisutni i derivati hidroksicimetnih kiselina (kafene i p-kumarinske kiseline). Najzastupljeniji sekundarni metaboliti u ispitivanom ekstraktu bili su akteozid (14,92 mg/g suvog ekstrakta) i luteolin-7-O-glukuronid (14,22 mg/g suvog ekstrakta).
- b) Glavnu frakciju u ekstraktu herbe *V. teucrium* činili su flavoni (derivati apigenina i izoskutelareina), a pored njih su bili prisutni i derivati hidroksicimetnih kiselina (kafene i protokatehinske kiseline). Dominantno jedinjenje u ispitivanom ekstraktu je

bio izoskutelarein 7-O-(6'''-O-acetil)- β -alozil-(1'''\rightarrow2''')- β -glukopiranozid (26,33 mg/g suvog ekstrakta).

- c) U ekstraktu herbe *V. jacquinii* glavnu frakciju činili su derivati fenolkarbonskih kiselina, kafene i protokatehinske kiseline. Osim njih su bili prisutni i flavonoli (derivati kvercetina) i flavoni (derivati luteolina i izoskutelareina). Dominantno jedinjenje u ekstraktu *V. jacquinii* bio je feniletanoid akteozid (5,00 mg/g suvog ekstrakta).

Dodatna saznanja o hemijskom sastavu herbi ispitivanih vrsta dobijena su kvantifikacijom odabranih fenolnih jedinjenja (14 fenolnih kiselina, 25 flavonoida, 3 kumarina i 2 lignana) i hina kiselina u 70%-nim acetonskim ekstraktima primenom visoko selektivne i specifične tečne hromatografije sa trostrukim kvadrupol masenim spektrometrom sa elektrosprej jonizacijom. Komponente za koje je pokazano da se nalaze u značajnijoj količini u ispitivanim ekstraktima su: hlorogenska kiselina, bajkalin, izokvercitrin, hiperozid i hina kiselina. Iako u tragovima, genistein je po prvi put identifikovan u familiji Plantaginaceae, dok je u rodu *Veronica* po prvi put utvrđeno prisustvo kumarina (umbeliferon, eskuletin i skopoletin).

Antioksidantna aktivnost 70%-nih acetonskih ekstrakata herbi odabranih *Veronica* vrsta ispitivana je *in vitro* određivanjem ukupnog antioksidantnog potencijala FRAP testom i testom neutralizacije DPPH radikala. Najveću redukcionu sposobnost i antiradikalni efekat ispoljio je ekstrakt herbe *V. teucrium*, dok je najniža aktivnost zabeležena za ekstrakt herbe *V. urticifolia*. Antioksidantni efekat ekstrakata herbi potvrđen je i *in vivo* na modelu hepatotoksičnosti indukovane primenom CCl₄ kod pacova. Prema rezultatima sadržaja nivoa glutationa i intenziteta lipidne peroksidacije zaključeno je da u oksidativnom stresu ekstrakti vrsta *V. jacquinii* i *V. teucrium* pokazuju sličan antioksidantni efekat koji je izraženiji od efekta *V. urticifolia*, što je u saglasnosti sa rezultatima *in vitro* testova.

Neuroprotektivni efekat 70%-nih acetonskih ekstrakata odabranih *Veronica* vrsta ispitivan je u kulturi humane neuroblastomske ćelijske linije SH-SY5Y gde je testom kisele fosfataze praćen uticaj ekstrakata na preživljavanje ovih ćelija nakon kombinovanog tretmana stresora (SNP ili H₂O₂) i odgovarajućeg ekstrakta. Ispitivani ekstrakti su ispoljili blagu protektivnu aktivnost što se manifestovalo povećanjem preživljavanja ćelija izloženih SNP (9,7-12,0%) ili H₂O₂ (17,0-18,3%). Najjači zaštitni efekat u kulturi SH-SY5Y ćelija tretiranih SNP-om je pokazao ekstrakt *V. jacquinii*, dok je najefikasniji u preživljavanju ćelija tretiranih sa H₂O₂ bio ekstrakt *V. teucrium*. Praćenjem produkcije superoksid jona (O₂^{-*}), kao i intenziteta lipidne peroksidacije zaključeno je da je za ispoljeno neuroprotektivno delovanje

ekstrakata kod primene SNP kao stresora odgovoran mehanizam "hvatanja" slobodnih radikala, dok kod primene H₂O₂ to nije slučaj.

Antiinflamatorni efekat 70%-nih acetonskih ekstrakata određen je primenom *ex vivo* metode zasnovane na praćenju produkcije metabolita ciklooksigenaznog (12-HHT, TXB₂ i PGE₂) i lipooksigenaznog puta (12-HETE) kao proizvoda metabolizma arahidonske kiseline. Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da je među ispitivanim taksonima *V. urticifolia* pokazala značajno veći potencijal inhibicije COX-1 enzima (IC₅₀<0,4 mg/ml), dok je naj snažniju inhibiciju produkcije 12-LOX enzima postigao ekstrakt vrste *V. jacquinii* (IC₅₀=1,7 mg/ml). Obzirom da svi ispitivani ekstrakti pokazuju snažan antioksidantni efekat, može se pretpostaviti da takva njihova aktivnost delom doprinosi ispoljenim antiinflamatornim efektima.

Antitumorska svojstva ispitivanih ekstrakata procenjivana su kod miševa sa Erlihovim ascitnim tumorom praćenjem zapremine ascitesa, broja tumorskih ćelija i njihove vijabilnosti. Primenjeni ekstrakti su statistički značajno smanjili zapreminu ascitesa, i to ekstrakti *V. teucrium* i *V. urticifolia* jednako efikasno kao pozitivna kontrola N-acetil-L-cistein, dok je ekstrakt *V. jacquinii* ostvario nešto slabiji efekat. Takođe, u grupama životinja koje su primale ekstrakte došlo je do blage redukcije broja tumorskih ćelija u poređenju sa kontrolnom grupom (bez statističkog značaja), ukazujući na njihov onkostatki efekat, dok je statistički značajno smanjenje ćelijske vijabilnosti primećeno samo nakon aplikacije *V. urticifolia* ekstrakta.

Takođe, ispitivani ekstrakti su ispoljili umerenu do slabu antibakterijsku aktivnost prema četiri Gram (+) i tri Gram (-) bakterije. Primećeno je da su G (+) sojevi generalno osetljiviji na delovanje ovog ekstrakta u odnosu na G (-) bakterije. Izuzev u slučaju soja *Enterococcus faecalis*, najizraženiji efekat prema primenjenim sojevima ispoljio je ekstrakt herbe *V. teucrium*. Njegova najveća aktivnost je bila prema bakterijama *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* i *Listeria monocytogenes* (MIK 7,5 mg/ml), dok je najslabiju aktivnost ovaj ekstrakt pokazao prema bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* (MIK 22,5 mg/ml). U slučaju delovanja ekstrakta *V. urticifolia* najosetljiviji soj je bio *S. aureus*, dok je kod ekstrakta *V. jacquinii* to bio soj *E. faecalis*.

3. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Prema poslednjoj klasifikaciji skrivenosemenica (Angiosperm Phylogeny Group, 2003) rod *Veronica* sa oko 450 vrsta predstavlja najveći rod familije Plantaginaceae. U Flori

Evrope zabeležene su 62 vrste, dok je u Flori Srbije navedeno njih 43. Brojne vrste ovog roda često se koriste u tradicionalnoj medicini, ali je malo podataka o njihovom farmakološkom delovanju. Sa druge strane, interes za taksonomiju roda *Veronica* bio je podstrek za intenzivna fitohemijska ispitivanja.

Dosadašnja ispitivanja sekundarnih metabolita roda *Veronica* ukazala su na prisustvo iridoidnih glukozida, feniletanoidnih i flavonoidnih glikozida (Chari i sar., 1981; Harput i sar., 2002a; Harput i sar., 2002b; Harput i sar., 2002c; Harput i sar., 2003; Saracoglu i sar., 2002; Taskova i sar., 1998; Taskova i sar., 2002). Rezultati hemijske analize dobijeni u okviru ove doktorske disertacije potvrđuju podatke iz literature.

Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima herbi tri taksona ispitivana u okviru ove doktorske disertacije iznosi od 116,0 do 201,0 mg GAE/g suvog ekstrakta i sličan je utvrđenom sadržaju u metanolnim ekstraktima herbi drugih *Veronica* vrsta (40,90-200,20 mg GAE/g suvog ekstrakta) (Harput i sar., 2011). Takođe, prema rezultatima ispitivanja koja je sprovela Nikolova (2011) sadržaj ukupnih fenola u metanolnim ekstraktima herbi pojedinih *Veronica* vrsta (među kojima su i taksoni ispitivani u ovoj doktorskoj disertaciji) iznosio je od 23,12 do 79,93 mg GAE/g ekstrakta, što je znatno niže od vrednosti dobijenih u ovom radu i može se objasniti različitim ekstrakcionim procedurama. Pregledom literature utvrđeno je da nema podataka o sadržaju ukupnih fenilpropanoide i iridoida u *Veronica* vrstama. Najveći sadržaj ukupnih fenola, fenilpropanoide i iridoida u ovom radu dobijen je primenom smeše acetona i vode kao ekstrakcionog sredstva, što se može objasniti činjenicom da prisustvo organskog rastvarača olakšava penetraciju ekstrakcionog sredstva u ćelije biljke, čime se ubrzava rastvaranje fenolnih jedinjenja u vodenoj sredini (Moure i sar. 2001).

U okviru ove disertacije prisustvo aukubina je primenom HPLC-DAD tehnike pokazano samo u ekstraktu nadzemnog dela *V. urticifolia*. Međutim, prema dostupnim literaturnim podacima koji se odnose na ispitivane taskone, aukubin je identifikovan u sve tri vrste (Taskova i sar., 2002). Razlika u odnosu na sadržaj dobijen u ovom istraživanju može se objasniti primenom metanola kao ekstrakcionog sredstva. HPTLC metodom potvrđeni su rezultati HPLC analize. Studentovim t-testom koji je korišćen za procenu statističke značajnosti razlike između vrednosti dobijenih HPTLC i HPLC metodama, pokazano je da su one ekvivalentne. Isti zaključak izveli su Janković i sar. (2010) za određivanje sadržaja aukubina u *Plantago* vrstama primenom HPLC i HPTLC tehnika. Feniletanski heterozidi karakteristični su za vrste roda *Veronica* i iz njih je izolovan veliki broj jedinjenja ove klase. Neka od njih kao što je akteozid široko su rasprostranjena u biljnom svetu. Prema dostupnim literaturnim podacima, akteozid je i ranije identifikovan u *Veronica* vrstama (Crisan i sar.,

2007), ali do sada nije kvantifikovan. Prema rezultatima ovog istraživanja ovaj feniletanoid najzastupljeniji je u ekstraktima herbi *V. urticifolia* i *V. jacquinii*. Njegov sadržaj preračunat po gramu suve biljne sirovine za vrstu *V. urticifolia* uporediv je sa sadržajem u vrsti *Plantago lanceolata* koja je oficinalna prema važećoj Evropskoj farmakopeji (Ph. Eur. VII). Dominantno feniletanoidno jedinjenje u ekstraktu herbe *V. teucrium* je planatmajozid, čije je prisustvo ranije pokazano u vrsti *V. fuhsii* (Ozipek i sar., 1999).

Dosadašnja analiza flavonoidnog profila *Veronica* vrsta pokazala je da su flavoni dominantna klasa flavonoidnih jedinjenja (Albach i sar., 2003). U okviru ove doktorske disertacije flavoni su jedini detektovani flavonoidi u ekstraktima herbi *V. teucrium* i *V. urticifolia*, dok su u ekstraktu herbe *V. jacquinii* pored flavona prisutni i flavonoli. Bitna karakteristika flavonskih heterozida *Veronica* vrsta je prisustvo hidroksil grupe na položaju C-6 ili C-8 aglikona. Za razliku od 6-hidroksi flavona, 8-hidroksi flavoni su ređe zastupljeni u biljnom svetu (pronađeni su kod predstavnika rodova *Veronica*, *Stachys*, *Sideritis* i *Teucrium*), pa se mogu koristiti kao markeri u hemotaksonomiji (Albach i sar., 2005). Takođe, acilovanje šećerne komponente je još jedna karakteristika ovih jedinjenja u rodu *Veronica*. Među taksonima koji su predmet ove doktorske disertacije, iz nadzemnog dela vrste *V. teucrium* ranije su identifikovani 8-hidroksi flavon glikozidi (Albach i sar., 2005). Naši rezultati su potvrdili njihovo prisustvo, obzirom da je dominantno jedinjenje u ekstraktu ove vrste izoskutelarein 7-O-(6'''-O-acetil)- β -alozil (1'''- \rightarrow 2''')- β -glukopiranozid. Za vrste *V. jacquinii* i *V. urticifolia* nema podataka o prisustvu flavonoid glikozida.

U okviru ove disertacije primenom specifične LC-MS/MS tehnike sa trostrukim kvadrupol masenim spektrometrom sa elektrosprej jonizacijom pokazano je da je bajkalin dominantan flavonoid u ekstraktu vrste *V. urticifolia*. Prethodna ispitivanja (Samuelsen, 2000) ukazala su na prisustvo bajkalina u *Plantago* vrstama u okviru familije Plantaginaceae, ali je ovo prvi takav podatak za *Veronica* vrste. Iako u tragovima, interesantno je prisustvo izoflavona genisteina u ekstraktu vrste *V. jacquinii*. Ovo je prvi podatak o identifikaciji izoflavonoida u familiji Plantaginaceae. Njihovo prisustvo je gotovo u potpunosti ograničeno na familiju Fabaceae, ali su predstavnici ove klase sporadično detektovani i u nekoliko desetina drugih familija, među njima i u familiji Scrophulariaceae (Mackova i sar., 2006). Kako je rod *Veronica* premešten iz familije Scrophulariaceae u familiju Plantaginaceae, prisustvo genisteina u njemu svedoči o njihovoj bliskoj vezi. Naša prethodna ispitivanja pokazala su prisustvo derivata genisteina i u vrstama *V. montana*, *V. polita* i *V. spuria* (Barreira i sar., 2014).

Za razliku od sekundarnih metabolita, malo je podataka o neorganskim komponentama *Veronica* vrsta, ili o odnosu neorganskih komponenti u biljci i zemljištu na kojem je ona rasla. Zurayk i sar. (2001) pokazali su značaj pojedinih *Veronica* hidrofita u fitoremedijaciji vode zahvaljujući mogućnosti hiperakumulacije hroma u korenu ovih biljaka uz minimalnu translokaciju u nadzemne delove. U okviru ove disertacije na osnovu sadržaja Cr u herbi vrsta *V. jacquinii* i *V. urticifolia* raslih na serpentinskom zemljištu, zaključeno je da one predstavljaju potencijalne hiperakumulatore ovog teškog metala. Takođe, sadržaj Mn u ispitivanim biljnim uzorcima (25,38-89,25 mg/kg s.m.) odgovara sadržaju ovog elementa u nadzemnom delu vrste *V. officinalis* (52,30 mg/kg s.m.) do kog su došli Mezyk i Wieckowski (1999).

Za procenu antioksidantnog potencijala odabranih taksona roda *Veronica* korišćena su dva *in vitro* testa (FRAP i DPPH). Svi ekstrakti koncentraciono zavisno su neutralisali DPPH radikal sa IC₅₀ vrednostima manjim od 50 µg/ml. Slični rezultati su ranije dobijeni i za ekstrakte nekih drugih vrsta ovog roda. Harput i sar. (2011) pokazali su visoku antiradikalnu aktivnost za vodeni ekstrakt vrste *V. officinalis* (IC₅₀ iznosi 40,93 µg/ml), dok je ekstrakt herbe *V. polita* pokazao anti-DPPH aktivnost (IC₅₀=14,1 µg/ml) uporedivu sa aktivnošću korišćenog standarda BHT-a (IC₅₀=12,3) (Harput i sar., 2002a). Rezultati dobijeni *in vitro* analizom potvrđeni su *in vivo* testom na modelu hepatotoksičnosti indukovane ugljen tetrahloridom (CCl₄). Za akteozid koji je prisutan u sva tri ekstrakta ranije je utvrđeno da ispoljava hepatoprotektivan efekat na istom modelu redukovanjem nivoa lipidne peroksidacije na nivo zabeležen u kontrolnoj grupi eksperimentalnih životinja (Lee i sar., 2004).

U literaturi nema podataka o neuroprotektivnom delovanju *Veronica* vrsta. Sa druge strane, pojedine među dominantnim komponentama ispitivanih taksona (akteozid, aukubin, bajkalin) testirane su u pogledu neuroprotektivnog delovanja. Akteozid je antagonizovao apoptozu SH-SY5Y ćelija indukovanu primenom 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridina (MPP⁺) (Deng i sar., 2008). Na istoj ćelijskoj liniji pokazao je neuroprotektivno delovanje nakon oštećenja indukovano primenom β-amiloidnih plakova (Wang i sar., 2009). Xu i sar. (2013) utvrdili su da bajkalin štiti SH-SY5Y ćelije od oštećenja indukovanih primenom H₂O₂ (Gao i sar., 2001). Za aukubin je pokazano da ispoljava zaštitnu ulogu kod neurodegenerativnih oboljenja indukovanih oksidativnim stresom. Kod pacova sa streptozocin indukovanim dijabetesom, aukubin je ostvario neuroprotektivno delovanje redukovanjem sadržaja lipidnih peroksida, regulisanjem aktivnosti antioksidantnih enzima i smanjenjem aktivnosti sintetaze azotnog oksida (NOS) (Xue i sar., 2009).

Podaci o tradicionalnoj primeni pojedinih *Veronica* vrsta kod različitih zapaljenja kože i sluzokože (Leporatti i Ivancheva, 2003; Pardo De Santayana i sar., 2005; Menković i sar., 2011) bili su povod za ispitivanje antiinflamatorne aktivnosti odabranih taksona. Iako su *Veronica* vrste često primenjivane u tradicionalnoj, orijentalnoj medicini kod različitih inflamatornih stanja, farmakološki efekti ovih vrsta nisu bili predmet ispitivanja većeg broja studija. Ipak, neki rezultati pokazali su potvrdu ovakvog delovanja. Rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije u skladu su sa postojećim literaturnim podacima koji svedoče o značajnoj antiinflamatornoj aktivnosti vrsta ovog roda i jedinjenja izolovanih iz njih. Kúpeli i sar. (2005) ispitivali su antiinflamatorni efekat vodenog i metanolnog ekstrakta vrste *V. anagalis-aquatica*, kao i izolovanih jedinjenja u testu karageninom izazvane inflamacije šape u pacova. Za razliku od vodenog, metanolni ekstrakt u dozi od 500 mg/kg per os ispoljio je značajnu antiinflamatornu aktivnost uporedivu sa efektom referentnog NSAID. Među izolovanim jedinjenjima, iridoidi verprozid i katalpozid ispoljili su najsnažniju antiinflamatornu aktivnost bez indukovanja vidljive akutne toksičnosti i gastričnog oštećenja. Metanolni ekstrakt vrste *V. peregrina* inhibirao je lipopolisaharidima (LPS) indukovanu produkciju NO u peritonealnim makrofagama miša (C57BL/6) putem supresije ekspresije inducibilne NO sintaze. Dodatno, ovaj ekstrakt je dozno zavisno umanjio ekspresiju COX-2 (Jeon, 2012). Sličan efekat na NO produkciju pokazali su i Harput i sar. (2002a) za metanolne ekstrakte vrsta *V. cymbalaria*, *V. hederifolia*, *V. pectinata* var. *glandulosa*, *V. persica* i *V. polita*. Ispoljeni antiinflamatorni efekat posledica je sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala (NO^{*}) proizvedenih u makrofagama. Vodeno-etanolni ekstrakt herbe *V. officinalis* značajno snižava citokinima indukovano oslobađanje PGE₂ u humanim epitelnim ćelijama pluća (A549 ćelijama) putem inhibicije ekspresije COX-2 u NF-κB signalnom putu. Kao glavne komponente ovog ekstrakta identifikovani su iridoidni glikozidi verprozid i verminoizid (Gründemann i sar., 2013). U okviru ove doktorske disertacije značajna korelacija pokazana je između stepena COX-1 inhibicije i sadržaja bajkalina u testiranim ekstraktima. Bajkalin se u Japanu, Kini i Koreji koristi u terapiji inflamatornih stanja kao što su bronhitis, nefritis, hepatitis, astma i atopijski dermatitis (Li i sar., 2000). Njegova antiinflamatorna aktivnost povezuje se sa NF-κB faktorom, što je i pokazano u različitim akutnim i hroničnim inflamatornim modelima (Guo i sar., 2013). Liu i sar. (2006) pokazali su da tretman bajkalinom snižava nivo serumskog TNF-α i IL-6 kod C57BL/6J pacova sa hiperlipidemijom indukovanom dijetom, kod kojih je inflamacija izazvana infekcijom bakterijom *Chlamydo-pila pneumoniae*.

Pojedine vrste roda *Veronica* tradicionalno se koriste kod karcinoma. U okviru ove doktorske disertacije ispitivanje antitumorskog delovanja odabranih taksona *Veronica* ukazalo je na njihov onkostatski efekat kod životinja sa Ehrlich-ovim ascitnim tumorom usled smanjenja zapremine ascitne tečnosti koja predstavlja izvor hrane za rast tumorskih ćelija (Agrawal i sar., 2011). Pretraživanjem literature nisu nađeni podaci o ispitivanju antitumorske aktivnosti *Veronica* vrsta, ali su u prethodnim istraživanjima biljke ovog roda pokazale snažnu citotoksičnu aktivnost na različitim ćelijskim linijama. Metanolni ekstrakt vrste *V. americana* ispoljio je citotoksičnu aktivnost prema HF-6 i PC-3 ćelijskim linijama humanih karcinoma kolona i prostate (Moreno-Escobar i sar., 2013). Osim toga, Saracoglu i Harput (2012) utvrdili su da iridoidi prisutni u *Veronica* vrstama, u zavisnosti od strukture, deluju citostatski ili citotoksično na ćelijskoj liniji humanog epidermoidnog karcinoma (Hep-2), humanog rbdomiosarkoma (RD), kao i na ćelijskoj liniji transgenih murinskih L-ćelija (L-20B).

Umerena do slaba antibakterijska aktivnost 70%-nih ekstrakata herbi ispitivanih *Veronica* vrsta pokazana u okviru doktorske disertacije u skladu je rezultatima ispitivanja antibakterijske aktivnosti metanolnog ekstrakta herbe *V. montana* gde je rast mikroorganizama u potpunosti inhibiran tek pri koncentracijama 7,5-22,5 mg/ml, pri čemu je najveća aktivnost ispoljena prema soju *Staphylococcus aureus* (Stojković i sar., 2013). Slično delovanje u okviru ove disertacije pokazali su ekstrakti herbi *V. teucrium* i *V. urticifolia* sa najvećim efektom prema sojevima *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*. Gusev i sar. (2012) analizirali su antibakterijsko delovanje pojedinih *Veronica* vrsta i pokazali su da najizraženiji efekat ispoljavaju ekstrakti herbi *V. officinalis* i *V. spicata* takođe prema bakteriji *S. aureus*. Autori su ispoljeni efekat pripisali visokom sadržaju fenolkarboksilnih kiselina u ispitivanim ekstraktima. Za akteozid prisutan u sva tri ispitivana ekstrakta je ranije pokazano umereno antimikrobno delovanje. Njegova antibakterijska aktivnost prema soju *S. aureus* je posledica inhibicije preuzimanja leucina, pri čemu se inhibira sinteza proteina (Avila i sar., 1999). Za bajkalin koji je prisutan u ekstraktima vrsta *V. urticifolia* i *V. jacquinii* je pokazan sinergistički efekat sa tetraciklinom i oksitetraciklinom u terapiji infekcija izazvanih visoko rezistentnim sojevima *S. aureus* (Novy i sar., 2011).

Citirana literatura:

1. Albach DC, Grayer RJ, Jensen SR, Zgkce F, Veitch NC. Acylated flavone glycosides from *Veronica*. *Phytochem.* 2003; 64: 1295-1301.

2. Albach DC, Grayer RJ, Kite GC, Jensen SR. Veronica: Acylated flavone glycosides as chemosystematic markers, *Biochem Syst Ecol.* 2005; 33: 1167-1177.
3. Agrawal SS, Saraswati S, Mathur R, Pandey M. Antitumor properties of boswellic acid against Ehrlich ascites cell bearing mouse. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 1924-1934.
4. Angiosperm Phylogeny Group (APG). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot J Linn Soc.* 2003; 141: 399-436.
5. Avila JG, De Liverant JG, Martínez A, Martínez G, Muñoz JL, Arciniegas A, De Viavar AR. Mode of action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.* 1999; 66: 75-78.
6. Barreira JCM, Dias MI, Živković J, Stojković D, Soković M, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Phenolic profiling of *Veronica* spp. grown in mountain, urban and sandy soil environments. *Food Chem.* 2014; 163: 275-283.
7. Chari VM, Grayer-Barkmeijer RJ, Harborne JB, Österdahlk BG. An acylated allose-containing 8-hydroxyflavone glycoside from *Veronica filliformis*. *Phytochem.* 1981; 20: 1977-1979.
8. Crișan G, Tămas M, Miclăuș V, Krusz T, Sandor V. A comparative study of some *Veronica* species. *Rev Med Sci Med Natur Iasi.* 2007; 111: 280-284.
9. Deng M, ju XD, Fan DS, Tu PF, Zhang J, Shen Y. Verbascoside rescues the SH-SY5Y neuronal cells from MPP⁺ - induced apoptosis. *Chinese Pharm Bull.* 2008; 24: 1297-1301.
10. Gao Y, Pu XP. Neuroprotective effect of acteoside against rotenone-induced damage of SH-SY5Y cells and its possible mechanism. *Chin Pharmacol Bull.* 2007; 23: 161-165.
11. Gründemann C, Garcia-Käufer M, Sauer B, Stangenberg E, Könczöl M, Merfort I, Zehl M, Huber R. Traditionally used *Veronica officinalis* inhibits proinflammatory mediators via the NF-κB signalling pathway in a human lung cell line. *J Ethnopharmacol.* 2013; 145: 118-126.
12. Guo M, Zhang N, Li D, Liang D, Liu Z, Li F, Fu Y, Cao Y, Deng X, Yang Z. Baicalin plays an anti-inflammatory role through reducing nuclear factor-κB and p38 phosphorylation in *S. aureus* – induced mastitis. *Int. Immunopharmacol.* 2013; 16: 125-130.
13. Gusev NF, Nemereshina ON, Petrova GV, Sychev MV. Evaluation of antibacterial activity and biologically active substances of herbal drugs from *Veronica* L. *Russ J Biopharm.* 2012; 4: 17-22.
14. Harput US, Saracoglu I, Inoue M, Ogihara I. Anti-inflammatory and cytotoxic activities of five *Veronica* species. *Biol Pharm Bull.* 2002a; 25: 483-486.
15. Harput US, Saracoglu I, Inoue M, Ogihara Y. Phenylethanoid and iridoid glycosides from *Veronica persica*. *Chem Pharm Bull.* 2002b; 50: 869-871.
16. Harput US, Saracoglu I, Nagatsu A, Ogihara Y. Iridoid glucosides from *Veronica hederifolia*. *Chem Pharm Bull.* 2002c; 50: 1106-1108.
17. Harput US, Nagatsu A, Ogihara Y, Saracoglu I. Iridoid glucosides from *Veronica pectinata* var. *glandulosa*. *Z Naturforsch C.* 2003; 58: 481-484.
18. Harput US, Genç Y, Khan N, Saracoglu I. Radical scavenging effects of different *Veronica* species. *Rec Nat Prod.* 2011; 5: 100-107.

19. Janković T, Menković N, Zdunić G, Beara I, Balog K, Šavikin K, Mimica-Dukić N. Quantitative determination of aucubin in seven *Plantago* species using HPLC, HPTLC, and LC-ESI-MS methods. *Analyt Chem.* 2010; 43: 2487-2495.
20. Jeon H. Anti-inflammatory activity of *Veronica peregrina*. *Nat Prod Sci.* 2012; 17: 142-146.
21. Küpeli E, Harput US, Varel M, Yesilada E, Saracoglu I. Bioassay-guided isolation of iridoid glucosides with antinociceptive and anti-inflammatory activities from *Veronica anagallis-aquatica* L. *J Ethnopharmacol.* 2005; 102: 170-176.
22. Lee KJ, Woo ER, Choi CY, Shin DW, Lee DG, You HJ, Jeong HG. Protective effect of acteoside on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Life Sci.* 2004; 74: 1051-1064.
23. Leporatti ML, Ivancheva S. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J Ethnopharmacol.* 2003; 87: 123-142.
24. Li BQ, Fu T, Gong WH, Dunlop N, Kung HF, Yan Y, Kang J, Wang JM. The flavonoid baicalin exhibits anti-inflammatory activity by binding to chemokines. *Immunopharmacol.* 2000; 49: 295-306.
25. Mackova Z, Kablovska R, Lapcik O. Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa – an update. *Phytochem.* 2006; 67: 849-855.
26. Menković N, Šavikin K, Tasić S, Zdunić G, Stešević D, Milosavljević S, Vincek D. Ethnobotanical study on traditional uses of wild medicinal plants in Prokletije Mountains (Montenegro). *J Ethnopharmacol.* 2011; 133: 97-107.
27. Moreno-Escobar JA, Alvarez L, Rodríguez-López V, Bahena SM. Cytotoxic glucosydic iridoids from *Veronica americana*. *Phytochem Lett.* 2013; 6: 610-613.
28. Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Siherio J, Dominguez H. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 2001; 72: 145-171.
29. Mezyk Z, Wieckowski SK. Studies of trace element content in selected medical herbs. *Pol J Environ Sci.* 1999; 8: 129-130.
30. Nikolova M. Screening of radical scavenging activity and polyphenol content of Bulgarian plant species. *Phcog Res.* 2011; 3: 256-259.
31. Novy P, Urban J, Leuner O, Vadlejch J, Kokoska L. *In vitro* synergistic effects of baicalin with oxytetracycline and tetracycline against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66: 1298-1300.
32. Ozipek M, Saracoglu I, Kojima K, Ogihara Y, Calis I. Fuhsioside, a new phenylethanoid glucoside from *Veronica fuhsii*. *Chem Pharm Bull.* 1999; 47: 561-562.
33. Pardo De Santayana M, Blanco E, Morales R. Plants known as tè in Spain: An ethno-pharmacobotanical review. *J Ethnopharmacol.* 2005; 98: 1-19.
34. Ph. Eur. 7.0. European Pharmacopoeia, 7th edition, Strasbourg: Council of Europe (COE) – European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM), 2011.
35. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol.* 2000; 71: 1-21.
36. Saracoglu I, Harput US, Inoue M, Ogihara Y. New phenylethanoid glycosides from *Veronica pectinata* var. *glandulosa* and their free radical scavenging activities. *Chem Pharm Bull.* 2002; 50: 665-668.

37. Saracoglu I, Harput S. *In vitro* cytotoxic activity and structure activity relationships of iridoid glucosides derived from *Veronica* species. *Phytother Res.* 2012; 26: 148-152.
38. Stojković DS, Živković J, Soković M, Glamočlija J, Ferreira ICFR, Janković T, Maksimović Z. Antibacterial activity of *Veronica montana* L. extract and of protocatechuic acid incorporated in a food system. *Food Chem Toxicol.* 2013; 55: 209-213.
39. Taskova R, Handjieva N, Peev D, Popov S. Iridoid glucosides from three *Veronica* species. *Phytochem.* 1998; 49: 1323-1327.
40. Taskova R, Peev D, Handjieva N. Iridoid glucosides of the genus *Veronica* s.l. and their systematic significance. *Plant Syst Evol.* 2002; 231: 1-17.
41. Wang H, Xu Y, Yan J, Zhao X, Sun X, Zhang Y, Guo J, Zhu C. Acteoside protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against β amiloid – induced cell injury. *Brain Res.* 2009; 1283: 139-147.
42. Xu M, Chen X, Gu Y, Peng T, Yang D, Chang RCC, So KF, Liu K, Shen J. Baicalin can scavenge peroxy-nitrate and ameliorate endogenous peroxy-nitrite – mediated neurotoxicity in cerebral ischemia – reperfusion injury. *J Ethnopharmacol.* 2013; 150: 116-124.
43. Xue HY, Jin L, Jin LJ, Li XY, Zhang P, Ma YS, Lu YN, Xia YQ, Xu YP. Aucubin prevents loss of hippocampal neurons and regulates antioxidative activity in diabetic encephalopathy rats. *Phytother Res.* 2009; 23: 980-986.
44. Zurayk R, Sukkariyah B, Baalbaki R. Common hydrophytes as bioindicators of nickel, chromium and cadmium pollution. *Water Air Soil Pollut.* 2001; 127: 373-388.

4. OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE

Radovi u časopisima međunarodnog značaja

1. **Živković J**, Ražić S, Arsenijević J, Maksimović Z. Heavy metal contents in *Veronica* species and soil from mountain areas in Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society.* 2012; 77: 959-970. **M23**
2. **Živković J**, Čebović T, Maksimović Z. *In vivo* and *in vitro* antioxidant effects of three *Veronica* species. *Central European Journal of Biology.* 2012; 7: 559-568. **M23**
3. **Živković J**, Barreira J.C.M, Stojković D, Čebović T, Santos-Buelga C, Maksimović Z, Ferreira I.C.F.R. Phenolic profile, antibacterial, antimutagenic and antitumour evaluation of *Veronica urticifolia* Jacq. *Journal of Functional Foods.* 2014; 9: 192-201. **M21**

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33)

- Barreira J.C.M, Stojković D, Maksimović Z, **Živković J**, Santos-Buelga C, Ferreira I.C.F.R. Phenylethanoid glycosides in *Veronica urticifolia* extracts: characterization by

HPLC-DAD-ESI/MS. 8° Encontro Nacional de Chromatographia. December 2-4, 2013, Covilhã, Portugal.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34)

- **Živković J**, Maksimović Z. *In vitro* antioxidant activity of some *Veronica* species from Serbia. 6th Conference of the Association for Medicinal and Aromatic Plants from the South-East European Countries (AMAPSEEC), Antalya, Turkey, 18-22 April 2010. Book of Abstracts, pp 136.
- **Živković J**, Janković T, Maksimović Z. Aucubin content in methanolic extracts of several *Veronica* species. 7th Conference of the Association for Medicinal and Aromatic Plants from the South-East European Countries (AMAPSEEC), Subotica, Republic of Serbia, 27-31 May 2012. Book of Abstracts, 49.
- Ignjatović Đ, Tovilović G, **Živković J**, Maksimović Z, Tomić M, Šavikin K. Neuroprotective potential of methanol and aqueous-acetone extracts from three *Veronica* species against oxidative stress. 1st International Conference on Plant Biology, 20th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, Subotica, 4-7.6.2013.
- **Živković J**, Beara I, Lesjak M, Ristić J, Janković T, Zdunić G, Šavikin K. Phenolic profile and anti-inflammatory activity of three *Veronica* species. 8th Conference of the Association for Medicinal and Aromatic Plants from the South-East European Countries (AMAPSEEC), Durrës, Albania, 19-22 May 2014. Book of Abstracts, 185.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)

- **Živković J**, Maksimović Z, Arsenijević J, Ražić S. Određivanje sadržaja Zn, Cu i Cr u pojedinim *Veronica* vrstama (Plantaginaceae) i uzorcima zemljišta sa različitih lokaliteta u Srbiji. V Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, Beograd, Srbija, 13-17.10.2010. Arh farm, 60: 1036-1037.

3. ZAKLJUČAK – OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DOKTORSKE DISERTACIJE

U okviru ove doktorske disertacije sprovedena je morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija odabranih *Veronica* vrsta: *V. jacquinii* Baumg., *V. teucrium* L. i *V. urticifolia* Jacq. Iako su medicinski značaj i interes za taksonomiju roda *Veronica* bili podstrek za

intenzivna fitohemijska ispitivanja ovog roda, navedene biljne vrste su do sada samo delimično okarakterisane u pogledu hemijskog sastava (iridoidnih jedinjenja), dok nema podataka o njihovoj farmakološkoj aktivnosti.

U ovom ispitivanju kombinovanjem različitih hromatografskih tehnika izvršena je detaljna kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja u ekstraktima ispitivanih taksona. Dobijeni rezultati, pored toga što daju značajan doprinos poznavanju sekundarnih metabolita u nadzemnim delovima odabраниh vrsta, imaju i značaj za hemotaksonomska ispitivanja kako samog roda *Veronica*, tako i familije Plantaginaceae.

U okviru ove doktorske disertacije prvi put je izvršena farmakološka karakterizacija odabраниh vrsta. Obzirom na učešće oksidativnog stresa u patogenezi brojnih poremećaja i bolesti, kao i na štetnost sintetskih antioksidanasa, velika pažnja naučnika je usmerena ka identifikovanju novih antioksidanasa prirodnog porekla. U ovom istraživanju primenom različitih *in vitro* i *in vivo* testova pokazan je značajan antioksidantni potencijal ispitivanih taksona. Takođe, za sve ispitivane vrste pokazana je značajna antiinflamatorna aktivnost, kao i umereno neuroprotektivno delovanje. Kod životinja sa Erlich-ovim ascitnim tumorom, ekstrakti nadzemnih delova ispitivanih vrsta su ispoljili onkostatski efekat. Uvid u farmakološko delovanje hemijski okarakterisanih ekstrakata herbi omogućava procenu mogućnosti njihove primene kao potencijalnih prirodnih lekovitih sirovina.

Doktorska disertacija pod nazivom „**Morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija odabраниh vrsta roda *Veronica* L. (Plantaginaceae)**“ kandidata dipl. farm. Jelene Č. Živković po svom sadržaju i formi, dobro napisanom opštem, uvodnom delu, jasno postavljenim istraživačkim ciljevima, dobro osmišljenoj metodologiji, precizno iznetim rezultatima rada, razložnoj diskusiji i dobro formulisanim zaključcima ispunjava sve kriterijume dobro napisanog naučnog dela.

Iz rezultata koji predstavljaju deo ove doktorske disertacije publikovana su tri rada u časopisima međunarodnog značaja: jedan rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21) i dva rada u međunarodnim časopisima (M23), i prikazana su četiri saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34), jedno saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33) i jedno saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64).

Na osnovu svega izloženog, Komisija sa zadovoljstvom predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivan izveštaj o završenoj doktorskoj disertaciji pod nazivom „**Morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija odabranih vrsta roda *Veronica* L. (Plantaginaceae)**“ i kandidatu dipl. farm. Jeleni Č. Živković odobri javnu odbranu po dobijanju saglasnosti Veća naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu.

Članovi Komisije:

Prof. dr Zoran Maksimović, vanredni profesor, mentor
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr Teodora Janković, viši naučni saradnik, mentor
Institut za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić", Beograd

Prof. dr Slavica Ražić, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr Tatjana Čebović, docent,
Univerzitet u Novom Sadu - Medicinski fakultet

Prof. dr Branislava Lakušić, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet