

Antioksidacijska aktivnost ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja

Ilijanić, Valentina

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:920347>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Valentina Ilijanić

ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST EKSTRAKATA
ODABRANIH VRSTA LJEKOVITOG BILJA

Završni rad

Rijeka, 2017.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Valentina Ilijanić

ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST EKSTRAKATA
ODABRANIH VRSTA LJEKOVITOG BILJA

Završni rad

Rijeka, 2017.

Završni rad izrađen je u laboratoriju Zavoda za kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci i Laboratoriju za magnetske rezonancije Zavoda za fizičku kemiju na Institutu „Ruđer Bošković“ u Zagrebu.

Mentor rada: **Prof.dr.sc. Srećko Valić.**

Rad ima 60 stranica, 30 slika, 6 tablica, 58 literaturnih navoda.

Zahvala

Najljepša hvala mom mentoru, prof.dr.sc. Srećku Valiću na idejama, savjetima, odgovorima te ukazanom strpljenju i vremenu, kao i srdačnoj pomoći pri izradi ovog završnog rada.

Veliko hvala Josipi, Ivi, Anđeli i Dominiku koji su uvijek bili tu da uz smijeh, zabavu, podržavanje i poticanje ljepše proteknu ove tri godine studiranja.

Posebnu zahvalnost iskazujem roditeljima i sestrama, koji su me svojom ljubavlju, bodrili i podržavali i u ružnim i u lijepim trenucima.

Hvala vam!

Posveta

Ovaj završni rad posvećujem prerano preminuloj teti Mariji.

Nedostaješ mi!

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	III
SUMMARY.....	IV
1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1. 1. Uvod.....	1
1. 2. Pregled područja istraživanja	3
1. 2. 1. SLOBODNI RADIKALI	3
1. 2. 1. 1. Mehanizam nastajanja slobodnih radikala	6
1. 2. 1. 2. Metode mjerenja aktivnosti slobodnih radikala	6
1. 2. 2. OKSIDACIJSKI STRES.....	8
1. 2. 3. ANTIOKSIDANSI I FITOKEMIČKE TVARI.....	9
1. 2. 3. 1. Antioksidansi.....	9
1. 2. 3. 2. Fitokemikalije.....	9
1. 2. 3. 2. 1. Polifenolni spojevi.....	11
1. 3. 1. ODABRANE VRSTE LJEKOVITOG BILJA	13
1. 3. 1. 1. Čičak.....	13
1. 3. 1. 1. 1. Sastav i aktivne tvari	13
1. 3. 1. 1. 2. Utjecaj na zdravlje	14
1. 3. 1. 2. Encijan.....	14
1. 3. 1. 2. 1. Sastav i aktivne tvari	15
1. 3. 1. 2. 2. Utjecaj na zdravlje	15
1. 3. 1. 3. Kopriva.....	16
1. 3. 1. 3. 1. Sastav i aktivne tvari	16
1. 3. 1. 3. 2. Utjecaj na zdravlje	17
1. 3. 1. 4. Maslačak.....	18
1. 3. 1. 4. 1. Sastav i aktivne tvari	19
1. 3. 1. 4. 2. Utjecaj na zdravlje	19
1. 3. 1. 5. Pelin.....	20
1. 3. 1. 5. 1. Sastav i aktivne tvari	20
1. 3. 1. 5. 2. Utjecaj na zdravlje	21
1. 3. 1. 6. Sikavica	21
1. 3. 1. 6. 1. Sastav i aktivne tvari	22
1. 3. 1. 6. 2. Utjecaj na zdravlje	22
1. 3. 1. 7. Stolisnik.....	23
1. 3. 1. 7. 1. Sastav i aktivne tvari	24
1. 3. 1. 7. 2. Utjecaj na zdravlje	24
1. 3. 1. 8. Trava iva.....	25
1. 3. 1. 8. 1. Sastav i aktivne tvari	26
1. 3. 1. 8. 2. Utjecaj na zdravlje	26
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	28

3. MATERIJALI I METODE	29
3. 1. Materijali.....	29
3. 2. Metode	30
3. 2. 1. PRIPREMA UZORAKA	30
3. 2. 1. 1. Priprema ljekovitog bilja za ekstrakciju	30
3. 2. 1. 2. Ekstrakcija ljekovitog bilja.....	30
3. 2. 2. METODA REDUKCIJE DPPH RADIKALA	32
3. 2. 3. ELEKTRONSKA SPINSKA REZONANCIJA (ESR).....	32
3. 2. 3. 1. Priprema uzoraka za mjerenje na ESR spektrometru	34
3. 2. 3. 2. Mjerenje na ESR spektrometru	34
4. REZULTATI	36
4. 1. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja	37
4. 2. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata korijenja ljekovitog bilja.....	38
4. 3. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata lišća ljekovitog bilja	40
4. 4. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata korijena i lista koprive	42
4. 5. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog korijena koprive	43
4. 6. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog lista koprive ...	45
5. RASPRAVA.....	47
5. 1. Usporedba antioksidacijske aktivnosti ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja	48
5. 2. Usporedba antioksidacijske aktivnosti ekstrakata korijenja ljekovitog bilja	48
5. 3. Usporedba antioksidacijske aktivnosti ekstrakata lišća ljekovitog bilja	49
5. 4. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata korijena i lista iste biljke – koprive.....	49
5. 5. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog korijena i lista koprive.....	49
5. 6. Utjecaj sastava i biološki aktivnih tvari odabranih vrsta ljekovitog bilja na antioksidacijsku aktivnost	50
6. ZAKLJUČAK.....	54
7. LITERATURA	56

SAŽETAK

Ljekovito bilje i njegovi pripravci se već stoljećima koriste protiv različitih akutnih i kroničnih bolesti, a razna istraživanja pokazala su kako ekstrakti ljekovitog bilja služe kao dobar izvor antioksidansa koji preveniraju nastanak bolesti i starenje. Cilj istraživanja bio je utvrditi i usporediti antioksidacijsku aktivnost biljnih napitaka pripremljenih od korijenja i lišća odabranih vrsta ljekovitog bilja te se pokazalo kako među različitim vrstama postoje očite razlike u rasponu rezultata. Korištena je metoda koja pruža mogućnost preciznog i uspješnog mjerenja koncentracije radikala u uzorku, metoda redukcije DPPH radikala spektroskopskim mjerenjem elektronske spinske rezonancije (ESR). Dobiveni rezultati uspoređeni su s podacima dostupnim u literaturi i rezultatima iz sličnih objavljenih istraživanja.

Ekstrakt lista trave ive pokazao je najjača antioksidacijska svojstva, dovodeći ESR signal u područje ispod granica detekcije samog instrumenta. Najslabiji antioksidacijski učinak imao je ekstrakt korijena maslačka, budući da je inhibirao najmanji broj DPPH radikala.

Ispitana je antioksidacijska aktivnost korijena i lista iste biljke – koprive te je dokazano da različiti dijelovi biljke, zbog različitog polifenolnog i kemijsko-mineralnog sastava, imaju različita antioksidacijska svojstva.

Veličina čestica utječe na ekstrakciju biološki aktivnih tvari iz ljekovitog bilja na način da ekstrakt od usitnjenih čestica sadrži više antioksidacijskih spojeva, a time i veću inhibitornu sposobnost uklanjanja DPPH radikala.

Ključne riječi: antioksidacijska aktivnost, antioksidansi, ljekovito bilje, ekstrakt, polifenoli, DPPH, elektronska spinska rezonancija (ESR), elektronska paramagnetska rezonancija (EPR)

SUMMARY

Medicinal herbs and herbal preparations have been used for many centuries against different acute and chronic diseases, and various studies have shown that herbal extracts can be a good source of antioxidants that prevent the emergence of diseases and aging. The aim of this research was to determine and compare the antioxidant activity of plant infusions prepared from roots and leaves of selected medicinal herbs and it has been shown that among the different species there are obvious differences in the range of results. The DPPH radical reduction method by spectroscopic electron spin resonance (ESR) was a method used to provide a precise and successful measure of the concentration of radicals in the sample. The obtained results were compared with the available data in the literature and results from a similar published researches.

The leaf extract of the mountain germander has shown the strongest antioxidant characteristics by bringing the ESR signal to the area below the detection limit of the instrument itself. The weakest antioxidant effect had the root extract of dandelion, since it inhibited the smallest number of DPPH radicals.

The antioxidant activity of the root and leaf of the same herbivore, nettle, was studied and it was proved that different parts of the plant, due to their different polyphenolic and chemical-mineral compositions, have different antioxidant characteristics.

The size of the particles affects the extraction of biologically active substances from medicinal plants because the extract of crushed particles contains more antioxidant compounds and with that the higher inhibitory ability to remove DPPH radicals.

Keywords: antioxidant activity, antioxidants, medicinal herbs, extract, polyphenols, DPPH, electron spin resonance (ESR), electron paramagnetic resonance (EPR)

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1. 1. Uvod

„Neka tvoja hrana bude tvoj lijek, a tvoj lijek neka bude tvoja hrana!“, izrekao je Hipokrat, grčki liječnik i filozof koji je još u antičko doba zagovarao i promicao ideju zamjene lijekova zdravim namirnicama i raznolikom prehranom. Ta ideja se može poistovjetiti s vjerovanjima drevnih Egipćana koji su smatrali da se određenoj hrani mogu pripisati određena ljekovita svojstva koja mogu pripomoći ozdravljenju, ali i prevenciji bolestima. Iako je znanost jako napredovala, današnji stručnjaci i znanstvenici iz područja javnog zdravstva i prehrane, kao i sami doktori medicine, smatraju hranu najvrjednijim lijekom 21. stoljeća [1].

Najnovija istraživanja pokazuju kako se ljudi sve više i više liječe prirodnom medicinom, naročito hranom, budući da je to pristupačniji način (samo)liječenja koji daje mogućnost izbora za razliku od propisane doze određenog lijeka [2]. Ljekovito bilje, biljni napitci i ostali njegovi pripravci najstariji su način prirodnog liječenja koji i danas koristi dvije trećine svjetskog stanovništva [3]. Smatra se da postoji oko 1 000 000 vrsta biljaka [4], od kojih je 20 000 ljekovito, a od toga samo 1 100 dobro istraženo. Približno 250 vrsta farmaceuti koriste za proizvodnju suvremenih lijekova jer sadrže jedinstvene biološki aktivne tvari. Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*, WHO) te farmaceutska, prehrambena i kozmetička industrija nastoje posvetiti više pozornosti ljekovitim svojstvima biljaka, kao i investirati u istraživanja tog područja [3].

Fitoterapija, odnosno metoda liječenja biljem, koristi cijele biljke, pojedine dijelove i/ili biljne pripravke, budući da ono „u svojoj strukturi sadrži spojeve koji mogu liječiti, spriječiti ili ublažiti simptome pojedinih bolesti [4]“, za jačanje imuniteta i dobivanje energije, tj. poboljšanje općeg stanja organizma. Biljni pripravci imaju veliku terapijsku širinu jer sadrže svojevrstne spojeve aktivnih i pratećih supstanci te se mogu primjenjivati u različitim oblicima.

Vanjska uporaba se odnosi na inhalacijske pripravke, biljne obloge i kupke, različite kreme, losione, tople meleme i ostalo, dok se za oralnu uporabu pripremaju biljni napitci, sirupi, tinkture, ali i ljekovita vina (lat. *vina medicata*) [2,3,5].

Najtradicionalnija primjena ljekovitog bilja je oralna i to u obliku **vodenog ekstrakta** - „čaja“. Vodene ekstrakte možemo podijeliti na oparke, uvarke i macerate. Oparak (infuz) je biljni napitak koji se priprema prelijevanjem ili namakanjem mekih dijelova biljaka kao što su listovi, cvjetovi i plodovi u kipućoj vodi. Uvarak (dekoka) je biljni napitak koji se priprema od tvrdih ili drvenastih dijelova biljke, kao što su sjemenke, bobice, kora ili korijenje koje se treba neko vrijeme kuhati u kipućoj vodi kako bi se izlučile ljekovite djelotvorne tvari. Macerat je biljni pripravak koji se koristi za biljke čije se aktivne tvari lako ekstrahiraju u vodi, npr. sluz. Takve biljke se potapaju u hladnu ili mlaku vodu i ostavljaju stajati određeno vrijeme, budući da sadrže termolabilne spojeve koje bi visoka temperatura uništila. Međutim, hladna/mlaka voda ne uništava bakterije i plijesni pa je Europska farmakopeja propisala posebne kriterije za pripravke koji se ekstrahiraju u takvim uvjetima [2,6,7].

Antioksidacijska aktivnost ljekovitog bilja uzrokovana je aktivnim tvarima koje se vežu za slobodne radikale sprječavajući primarna i sekundarna kronična oboljenja, bolesti srca i krvožilnog sustava, nastanak tumora i karcinoma te ostala upalna stanja organizma [3]. Također, imaju važnu ulogu u suzbijanju lančanih reakcija povećanja količine slobodnih radikala, kao i u zaustavljanju i popravljaju štete nastale oksidacijom i peroksidacijom lipida. U snažne biljne antioksidanse spadaju polifenolni spojevi (u prvom redu flavonoidi i fenolne kiseline), vitamini A, C i E, karotenoidi (kao β -karoten i likopen), aminokiseline (npr. cistein i metionin), hormon melatonin, koenzim Q10, tanin i neki minerali poput selena i cinka. Da bi antioksidansi imali jači utjecaj na organizam, potrebne su određene količine magnezija i bakra te vitamina B5 i B6 jer oni pridonose njihovom djelovanju [8,9].

1. 2. Pregled područja istraživanja

1. 2. 1. SLOBODNI RADIKALI

Slobodni radikali su nestabilne molekule ili dijelovi molekula koji imaju nespareni elektron u vanjskoj orbitali, a zadržavaju svoje jedinstvene, određene značajke. To svojstvo im daje obilježje visoke reaktivnosti, ali i jako kratko vrijeme poluživota od jedne nanosekunde do par sekundi, stoga teže sparivanju s drugim elektronom iz neposrednog okoliša kako bi postali stabilni. Što su slobodni radikali reaktivniji, to posjeduju manju specifičnost vezanja za okolne molekule pa se može reći da su vrlo česti oksidansi.

Najznačajniji predstavnici slobodnih radikala su reaktivni oblici kisika – **ROS** (engl. *Reactive Oxygen Species*), budući da ih dnevno, u svakoj ljudskoj stanici, nastane prosječno $2-4 \times 10^{10}$. Reaktivni oblici kisika se dijele na slobodne radikale i neradikalne oblike kisika (tablica 1).

Tablica 1. Reaktivni oblici kisika (ROS)

Izvor: Bradamante, V. *et al.* Oksidacijski stres i djelotvornost antioksidansa. Zagreb: Medicinska naklada, 2002.

Slobodni radikal	Neradikal
superoksidni (O_2^-)	vodikov peroksid (H_2O_2)
hidroksilni ($\cdot OH$)	singletni kisik ($^1\Delta gO_2$)
alkoksilni ($RO\cdot$)	ozon (O_3)
peroksilni ($RO_2\cdot$)	peroksinitrit ($ONOO^-$)
hidroperoksilni ($HO_2\cdot$)	lipohidroperoksid ($LOOH$)
lipoperoksilni ($LOO\cdot$)	hipokloritna kiselina ($HOCl$)

Isto tako, nestabilni, izrazito reaktivni, slobodni radikali su i reaktivni oblici dušika – **RNS** (engl. Reactive Nitrogen Species) (tablica 2), ali i ostali slobodni, nestabilni radikali nekih drugih kemijskih elemenata, osim fenoksilnog koji je stabilan (tablica 3) [8,10].

Tablica 2. Reaktivni oblici dušika (RNS)

Izvor: Bradamante, V. *et al.* *Oksidativni stres i djelotvornost antioksidansa*. Zagreb: Medicinska naklada, 2002.

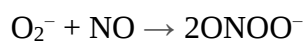
Radikali	dušikov (II) oksid ($\cdot\text{NO}$)
	dušikov (IV) oksid ($\cdot\text{NO}_2$)
Neradikali	nitroksilni anion (NO^-)
	nitrozilni kation (NO^+)
	nitronium ion (NO_2^+)
	nitratna kiselina (HNO_2)
	peroksinitrit (ONOO^-)
	alkilni peroksinitrit (ROONO)
	peroksinitritna kiselina (ONOO^-)
	nitrilni klorid (NO_2Cl)
	dušikov (III) oksid (N_2O_3)
	dušikov (IV) oksid (N_2O_4)

Tablica 3. Primjeri ostalih nestabilnih i stabilnih slobodnih radikala

Izvor: Bradamante, V. *et al.* *Oksidativni stres i djelotvornost antioksidansa*. Zagreb: Medicinska naklada, 2002.

Nestabilni	hidrirani (akvatizirani) elektron (e^-_{aq})
	vodikov (vodikov atom) ($H\cdot$)
	ugljikov ($RC\cdot$)
	fenildiazilni ($C_6H_5N=N\cdot$)
	tilni ($RS\cdot$)
	pertilni ($RSS\cdot$)
	ferilni ($F(IV)\cdot$)
	perferilni ($Fe(III)-O_2\cdot$)
Stabilni	fenoksilni ($C_6H_5O\cdot$)

Slobodni radikali mogu biti i oksidansi i reducensi te se mogu vezati na organske molekule (proteine, ugljikohidrate, lipide i nukleinske kiseline), neradikale ili radikale. U reakcijama s organskim kiselinama povećava se mogućnost nastajanja novih reaktivnih, nestabilnih molekula koje imaju sva obilježja slobodnih radikala, a onda oni pokreću novi lančani niz nastajanja novih slobodnih radikala i tako u beskonačnost. Neradikalni spojevi nastaju u reakcijama spajanja dva radikala, npr. produkt međusobne reakcije superoksidnog radikala (O_2^-) i dušikovog(II) oksida (NO) je neradikalni peroksinitrit ($ONOO^-$) koji se svrstava i u ROS i u RNS [10,11]. Nastajanje peroksinitrita ($ONOO^-$) odvija se prema izrazu:



Nisu svi slobodni radikali štetni, budući da ih ljudski organizam upotrebljava za imunološku obranu. Leukociti svojim mehanizmima koriste superoksidne radikale i vodikov peroksid kako bi uništili patogene bakterije [8]. Također, „dušikov oksid, koji je oksidans, nadzire krvni tlak. Kod povišenog krvnog tlaka stanice u stijenkama krvnih žila stvaraju dušikov oksid, koji opušta mišiće pa se krvni tlak smanjuje“ [8,12].

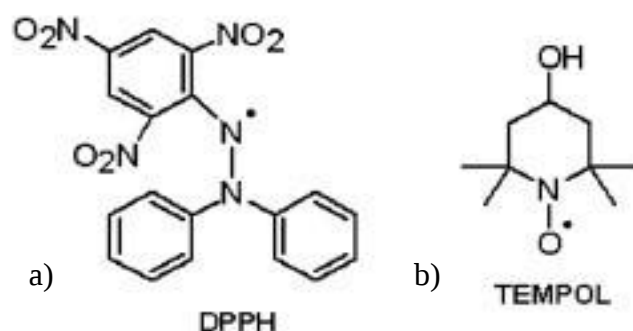
1. 2. 1. 1. Mehanizam nastajanja slobodnih radikala

Slobodni radikali mogu nastati iz endogenog ili egzogenog izvora i ne-enzimskim ili enzimskim reakcijama. Endogeni izvori mogu biti mitoza i mejoza, popravljjanje oštećenja stanica, tijekom apoptoze, kemotaksije, koagulacije, hiperoksije i hipoksije stanica, kao i općenitog stvaranja energije (metabolizam kisika). Egzogeni izvori mogu biti prehrana, lijekovi, alkohol, dim cigarete, umjetna bojila, pesticidi, ozon, azbest, smog, sumporni dioksid, radioaktivno i UV zračenje, emocionalni stres itd. [8,11].

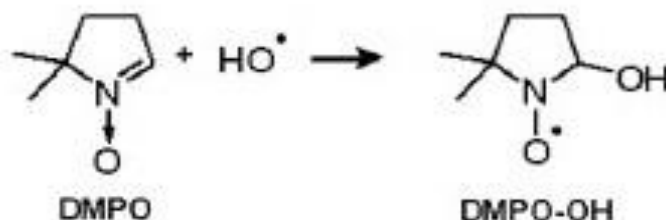
1. 2. 1. 2. Metode mjerenja aktivnosti slobodnih radikala

Iako su slobodni radikali vrlo nestabilni i reaktivni, postoje metode koje ih mogu detektirati, ali i mjeriti njihovu aktivnost. Izravnim metodama mjerenja smatramo pulsnu radiolizu, kemiluminiscenciju te mjerenje pomoću **elektronske spinske rezonancije (ESR)**, drugog naziva elektronska paramagnetska rezonancija (EPR). ESR je spektroskopska tehnika koja ima široku primjenu uključujući procjenu antioksidansa, omogućujući istraživanje kinetike i stehiometrije reakcija radikala i antioksidacijskih spojeva. Jedan od načina za obavljanje tih mjerenja je mjerenje koncentracije stabilnih slobodnih radikala, kao što su 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (**DPPH**) (slika 2a) i 4-hidroksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidinoksil

(TEMPOL) (slika 2b) koji dolaze u doticaj s antioksidansima. Drugi način, za mjerenje vrlo kratkotrajno živućih slobodnih radikala je *spin-trapping* tehnika (tehnika spinske stupice) u kojoj neki dijamagnetični spoj brzo reagira sa slobodnim radikalom, a kao produkt nastaje radikal duljeg vijeka trajanja. Najčešće se rabi nitrozo-skupina, odnosno DMPO (5,5-dimetil-1-pirolin-N-oksidi) jer nastaje relativno stabilan nitroksil-radikal ($\text{NO}^\bullet$), odnosno DMPO-OH radikal (slika 3). Neizravne metode mjerenja su metoda parametra ukupnog zaustavljanja radikala (engl. *Total radical-trapping antioxidant parameter*, TRAP), određivanje ukupnog antioksidacijskog statusa i druge te mjerenja pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC), atomske apsorpcijske spektrometrije (AAS), plinske kromatografije spregnute s masenom spektrometrijom (GC-MS), UV-VIS spektrofotometrije itd. [10,13,14].



Slika 2. Strukturne formule stabilnih slobodnih radikala: a) DPPH i b) TEMPOL.



Slika 3. DMPO i nastanak DMPO-OH radikala.

Izvor:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010350532009000800015&script=sci_arttext&tlng=es

1. 2. 2. OKSIDACIJSKI STRES

Oksidacijski stres je ubikvitarno prisutan proces, kako kod životinjskih, tako i kod biljnih vrsta. Što se tiče čovjeka, prisutan je i kod zdravih i kod bolesnih ljudi, budući da ljudski organizam neprestano stvara slobodne radikale, a i ostale reaktivne spojeve. Imamo sreću što tijelo koristi prirodne, antioksidacijske mehanizme obrane, prevenira i prekida oksidaciju te obnavlja oštećene stanice pa sve navedeno rezultira regulacijom homeostaze staničnog metabolizma. Pod pojmom oksidacijskog stresa možemo smatrati ukupan učinak međusobnih procesa stvaranja i razaranja reaktivnih tvari unutar biološkog organizma. U tom stanju počinje prevladavati oksidacija nad redukcijom, odnosno pomiče se oksido-redukcijska ravnoteža u stanicama.

Spomenuto može biti razlogom promjene bioloških makromolekula, odnosno proteina, ugljikohidrata, lipida i nukleinskih kiselina, što rezultira oštećenjem i smrću stanica, a samim time bolešću i starenjem. Glavni negativni učinci modifikacije makromolekula oksidacijom su:

- a) peroksidacija lipida koja dovodi do poremećaja i degradacije stanične membrane te oslobađanja njenih produkata u okolno područje, a posljedično do citotoksičnosti, zaustavljanja stanične diobe i kemotaksije;
- b) oksidacija proteina kod koje dolazi do križnog vezanja aminokiselina, karbonilacije i reakcija sa -SH skupinama pa time i do funkcionalnih promjena proteina, snižavanja enzimskih aktivnosti te razgradnje proteina te ostalih biomolekula;
- c) oksidacija nukleinskih kiselina koja je zaslužna za promjene sastavnica DNA, a može rezultirati drugačijim genskim izražajem, mutagenošću, karcinogenošću i tumorima.

Oksidacijski stres zato dovodi do mnogih akutnih i kroničnih patofizioloških stanja organizma pa je potpuno opravdano iskoristiti pozitivne učinke antioksidansa [10,11].

1. 2. 3. ANTIOKSIDANSI I FITOKEMIKALIJE

1. 2. 3. 1. Antioksidansi

Antioksidansi su molekule koje izravno ili neizravno reagiraju s reaktivnim, slobodnim radikalima stvarajući pri tome neradikalne produkte koji nastaju tek u završnom dijelu neutralizacije slobodnog radikala. Endogene izvore možemo naći unutar biološkog organizma, a egzogene antioksidanse unosimo putem biološki aktivnih tvari iz hrane i/ili pripravaka ljekovitog bilja, kao i farmaceutskih, kozmetičkih (prirodnih i sintetičkih) preparata te raznih dodataka prehrani koji preveniraju i anuliraju oksidacijske procese u tijelu.

Razna istraživanja su dokazala različite vrste antioksidansa (tablica 4) koji se razlikuju po svojim kemijskim karakteristikama, a samim time imaju različit utjecaj na biokemijske reakcije stanica i cjelokupno ljudsko zdravlje [10,15]. Prema američkoj Agenciji za hranu i lijekove, prehranom bi trebalo unositi u organizam četiri najznačajnija antioksidansa: vitamin C, vitamin E, β -karoten (provitamin vitamina A) i mineral selen [11].

1. 2. 3. 2. Fitokemikalije

Fitokemikalije su biološki aktivne tvari koje spadaju u skupinu sekundarnih biljnih metabolita, stoga nemaju ulogu u rastu i razvoju same biljke, ali su odgovorni za međuzavisnost biljke i okoline, imaju antimikrobno djelovanje, kao i funkciju zaštite od drugih štetnih utjecaja te nepovoljnih uvjeta. Posebno su važan faktor za ljudski organizam jer štite od novotvorina te bolesti srca i krvožilnog sustava. Danas je poznato oko 100 000 fitokemikalija koje spadaju u različite organske skupine, a najznačajniji su polifenolni i organosumporni spojevi, alkaloidi, kumarini, saponini, terpenoidi, trjeslovine te mnoge druge biomolekule od kojih većina ima značajnu antioksidacijsku aktivnost [3,16,17,18].

Tablica 4. Antioksidansi

Izvor: Literaturni navodi 8, 9, 10 i 11.

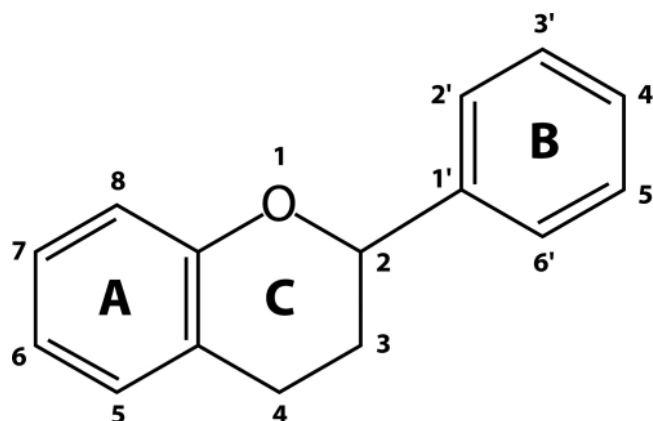
Preventivni	albumini	Enzimski	superoksid dismutaza (SOD)	Aminokiseline	cistein
	ceruloplazmin		SOD1		metionin
	deferoksamin		SOD2	Hormoni	melatonin
	laktoferin		SOD3		estrogeni
	transferin		glutation peroksidaza	Ostali	koenzim Q10
Fitokemikalije	polifenolni spojevi		ebselen		alopurinol
	karotenoidi		katalaza		lazaroidi
	glikozidi	Vitamini	C		tioli
	tanin		E		ubikvinol
	sastav eteričnog ulja		A		urična kiselina
		Minerali	selen		salicilati
			cink		manitol

SOD1 – citoplazmatska (topljiva) superoksid dismutaza; SOD2 – mitohondrijska superoksid dismutaza; SOD3 – ekstracelularni oblik superoksid dismutaze.

1. 2. 3. 2. 1. Polifenolni spojevi

Najveća skupina fitokemikalija je skupina **polifenolnih spojeva**, a svi polifenoli sudjeluju u uklanjanju slobodnih radikala [16]. Danas je poznato oko 8 000 različitih vrsta polifenola, a razlikuje ih kemijska struktura, broj ugljikovih atoma, biološka funkcija itd. Dijelev se na flavonoide, neflavonoide i kondenzirane forme polifenola [17].

Svi flavonoidi imaju osnovnu kemijsku strukturu od 15 ugljikovih atoma (slika 4), a međusobno ih razlikujemo po rasporedu različitih vezanih skupina. Dijelimo ih na flavanone, flavanole, flavone, flavonole, flavonolignane, biflavonoide, izoflavonoide, antocijanidine, leukoantocijanidine i procijanidine, a neki najvažiji se nalaze u tablici 5. Svi navedeni mogu sadržavati hidroksilne, metoksilne i acilne skupine, a često su glikozidirani s monosaharidima ili oligosaharidima [3,19,20]. U neflavanoide svrstavamo fenolne kiseline, stilibene i lignane. Fenolne kiseline se dijele na hidroksibenozojeve i hidroksicimetne kiseline, a najvažnije su kavena, klorogenska, galna, p-kumarinska ferulinska i valerijanska kiselina. Kondenzirane strukture mogu biti kondenzirani tanini, oligomeri, polimeri i ostale kondenzirane forme [17].



Slika 4. Osnovna struktura flavonoida

Izvor: https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=PMC3131677_ITX-4-069-g001&req=4.

Tablica 5. Neki izolirani biljni flavonoidi

Izvor: Literaturni navodi 19 i 20.

Flavanoni	taksifolin, naringenin, hesperetin, hesperidin, narirutin
Flavanoli	katehin, epigalokatehin, epikatehin
Flavoni	apigenin, luteolin, krisin, viteksin, glikozidi apigenina i luteolina
Flavonoli	astragalin, hiperozid, kvercetin, kvercitrin, izokvercitrin, miricetin, morin, rutin, kempferol, galangin, kvercetagetin, laricitrin, robinetin, fisetin,
Flavonolignani	silibin A, silibin B, izo-silibin A, izo-silibin B, silidianin, silikristin
Biflavonoidi	amentoflavon
Izoflavonoidi	daidzein, genistein
Antocijanidini	delfinidin, cijanidin, peonidin, malvidin, pelargonidin

1. 3. 1. ODABRANE VRSTE LJEKOVITOG BILJA

1. 3. 1. 1. Čičak

Čičak (veliki čičak, čičkovina, lapuh, repuh, lat. *Arctium lappa*) je dvogodišnja biljka iz porodice glavočika čiji su krupni listovi srcolikog oblika, cvjetne glavice grimiznocrvene boje s gusto zbijenim listićima s kukicama (slika 5), a sivosmeđi korijen dug i vretenast. Dijelovi koji se upotrebljavaju su lišće, zrele sjemenke i korijen s tim da svježi korijen čička ima jača ljekovita svojstva od osušenog [5,21,22].



Slika 5. Čičak

Izvor: http://www.wikiwand.com/es/Arctium_lappa.

1. 3. 1. 1. 1. Sastav i aktivne tvari

Čičak sadrži gorke tvari, eterično ulje, gume, trjeslovine, tanin, sumporne spojeve, kalijev fosfat, željezo, kalcij, magnezij, natrij, uljne smole, vitamine C i E, fenolne kiseline (klorogenska, kavena), flavonoide (kvercetin, kvercitrin, luteolin), sinarin (diester kavene i kininske kiseline), a u korijenu se nalazi polisaharid inulin te ostali spojevi. [5,21,22].

1. 3. 1. 1. 2. Utjecaj na zdravlje

Korijen čička se koristi kao povremeni „čistač“ krvi zato što ima blagi učinak detoksikacije, stimulira probavni, urinarni i limfni sustav te eliminaciju tvari kroz tjelesne kanale. Preporučuje se kod kronične upale zglobova i kože, budući da razgrađuje štetne toksine u organizmu te čak protiv trakavica i otrovanja živom. Lišće se kroz duži vremenski period koristi za kožne probleme, ekceme, lišaje, osipe i psorijazu te druge bolesti, a sjemenke protiv reume [5,21,23].

Najvažniji antioksidansi su vitamini C i E, kao i fenolne kiseline koje možemo naći u kori korijena u obliku klorogenske i kavene kiseline te različiti flavonoidi [24].

1. 3. 1. 2. Encijan

Encijan (lincura, srčanik, žuta sirištara, lat. *Gentiana lutea*) je trajna biljka iz porodice sirištara s jakom, glatkom i šupljom stabljikom na koju se nastavljaju sjedeći, široki, a prema vrhu duguljasti listovi. Ima žuti, pravilan cvijet s gustim skupinama (slika 6), kao i plod u obliku višesjemenog tobolca. Razgranati, široki korijen nalazi se duboko u zemlji i za njega se misli da može doživjeti i 60 godina [5,21,25]. Prvi podaci o uporabi datiraju još iz 2. stoljeća prije Krista kada je ilirski kralj Gencije preporučivao encijan kao lijek protiv kuge pa je rod sirištara i dobio naziv po njemu (lat. *Gentianaceae*). Primjenjivao se i u srednjem vijeku za prsna oboljenja i vrućice, a stanovništvo na području Alpi koristilo ga je kao vrhunski lijek za želučane i crijevne tegobe [26].



Slika 6. Encijan

Izvor: <http://www.efamilia.ro/sanatate-din-natura/gentiana-galbena-gentiana-iutea-familia-gentianaceae.html>.

1. 3. 1. 2. 1. Sastav i aktivne tvari

Encijan sadrži gorke glikozide: amarogentin koji je najgorči do sad poznati prirodni spoj, amarosverin, genciopikrin, gencin, genciamarin; fenolne spojeve (mangiferin, genticein, genticin, izogenticin, trimetoksiksanton), gume, trjeslovine, šećere, pektin, sluzi te mineralne soli. Glavni sastojci korijena su šećeri od kojih je najpoznatiji gencianoza, vrlo gorkog okusa [21,26,27].

1. 3. 1. 2. 2. Utjecaj na zdravlje

Encijan se smije primjenjivati samo prije jela, a prekomjerna doza izaziva povraćanje. Koristi se za funkcionalne poremećaje želuca (poticanje rada i peristaltike, lučenja želučanog soka; protiv žgaravice, mučnine, grčeva itd.), pripomaže protiv anemije, groznica i malarije, povećava apetit, kao i proizvodnju eritrocita te leukocita. Preporučuje se kod različitih poremećaja jetre (za žuticu, „masnu“ jetru i općenito insuficijenciju), žuči (protiv slabe

funkcionalne sposobnosti i za jače lučenje) te srčanih (za slabost i aritmiju) i crijevnih bolesti (protiv ameba, parazita i ostalih nametnika, proljeva, grčeva, različitih infekcija itd.) [21,25].

Genciopikrin, gorki glikozid encijana, pokazao je jaku inhibitornu sposobnost nad mijeloperoksidazom [28], enzimom koji stvara različite slobodne radikale oksidirajući pri tome proteine, lipide i antioksidacijske sastavnice LDL-a [29]. Fenolne skupine pokazuju antioksidacijsku aktivnost, dok genciopikrin, mangiferin i izogenticin vrše snažnu citotoksičnu aktivnost nad HeLa stanicama karcinoma [30].

1. 3. 1. 3. Kopriva

Kopriva (velika kopriva, lat. *Urtica dioica*) je trajna biljka iz porodice kopriva s uspravnom četverobridnom stabljikom, metličastim, zelenosivim cvatom smještenim u lisnim pazušcima i srčolikim, nazubljenim lišćem iz kojih izlazi tekućina koja peče i žari kada se vrhovi odlome na dodir. Također, cijeli nadzemni dio biljke je obrastao žarnim žarnim dlakama (slika 7). Korijen ima žuti, puzavi i razgranati podanak, a plod je mala crna sjemenka [4,25]. Koprivu su primjenjivali još u 1. stoljeću, za vrijeme Rimskog Carstva, budući da ju je grčki liječnik Dioskorid smatrao lijekom protiv opće slabosti, kašlja, krvarenja, rana, čireva i probavnih tegoba [3].

1. 3. 1. 3. 1. Sastav i aktivne tvari

Kopriva je bogata vitaminima C, A i K te B2 i B5, fitosterolima (β -sitosterol), flavonoidima (kvercetin, izokvercitrin, astragalin, rutin, kamferol, izorhamnetin), fenolnim kiselinama (kavenoil-malatna, klorogenska, ferulinska kiselina), organskim kiselinama

(limunska, mravlja, kininska, oksalna itd.), dušičnim tvarima (histamin, acetilkolin, kolin, betain, serotonin), alkaloidima, trjeslovinama i raznim drugim sastojcima [4,5,31]. U listovima se nalaze karotenoidi, ksantofili, klorofil, tanin, kumarin skopoletin te mineralne tvari poput željeza, kalcija, magnezija, kalija, fosfora, sumpora i silicija, a korijen sadrži brojne aminokiseline, polisaharide i šećere u obliku rezervnih tvari, fenilpropane, skopoletin, rijetki lignan neo-olivil i drugo [3,5,21].



Slika 7. Kopriva

Izvor: <http://biljke-kao-lijek.blogspot.hr/2013/03/kopriva-urtica-dioica-fam-urticaceae.html>.

1. 3. 1. 3. 2. Utjecaj na zdravlje

List koprive primjenjuje se za čišćenje krvi i organizma od toksina, a zbog velikog izvora kalija ima diuretsko djelovanje. Isto tako, koristi se protiv ekcema, urinarnih i reumatskih tegoba te nastanka bubrežnih kamenaca. Korijen se upotrebljava za rast kose, protiv opadanja i peruti te kod problema s povećanom prostatom, budući da njegovi sastojci polisaharidi i lektini imaju utjecaj na mehanizam diferencijacije stanica, kao i na metabolizam hormona testosterona [3,4,21,23]. Dimer kavene i jabučne kiseline (kavenoil-malat) je po strukturi sličan salicilnoj kiselini pa se vjeruje da djeluje kod upalnih procesa organizma [3].

Istraživanja su pokazala kako se ekstrakt koprive, zbog njegovog antioksidacijskog djelovanja, može primijeniti i u kozmetičkoj industriji, budući da flavonoid kvercetin i drugi polifenolni sastojci inhibiraju enzime kolagenazu i elastazu te tako potencijalno djeluju protiv starenja [32]. Također, vitamin C, flavonoidi (izokvercitrin, astragalin, rutin itd.), fenolne kiseline (kavenoil-malatna, klorogenska, ferulinska kiselina), karotenoidi i tanin imaju antioksidacijski učinak [31].

1. 3. 1. 4. Maslačak

Maslačak (divlji radič, regrat, žutinika, lat. *Taraxacum officinale*) je trajna biljka iz porodice glavočika s vretenastim, mesnatim, dubokim korijenom i dugim, pilastim lišćem koje tvori rozetu. Cjevasta stabljika nosi glavicu žutog cvata, a nakon što latice cvijeća otpadnu, ostaje zračna kugla formirana od sjemenki koje raznosi vjetar (slika 8). Cijela nadzemna biljka pa i korijen, puni su gorkog mliječnog soka. Nekada su Arapi i Grci primjenjivali maslačak za očne bolesti, a Fridrih Veliki koristio ga je za liječenje bubrega [5, 9].



Slika 8. Maslačak

Izvor: http://www.fungoceva.it/erbe_ceb/tarassaco.htm.

1. 3. 1. 4. 1. Sastav i aktivne tvari

Korijen maslačka sadrži taraksakozid (derivat hidroksi-fenil-octene kiseline), triterpene (taraksol, taraksasterol, β -amirin itd.), sterole (β -sitosterol, stigmasterol) i vrlo gorke spojeve – seskviterpenske laktone. Zanimljivo je da u proljeće sadrži 2%, a u jesen čak 40% inulina [3]. Glavni sastojci lišća su vitamin C, karoten, bjelančevine, ugljikohidrati i masne kiseline. Cvjetovi imaju žuto obojene karotenoide, a općenito zeleni dio i korijen sadrže više različitih vrsta flavonoidnih glikozida, kao i kavenu, klorogensku i hidroksi-fenil-octenu kiselinu. Mliječni sok također sadrži flavonoide, triterpene i inulin. [3,4,5,33]. Maslačak je bogat kalijem, željezom, fosforom i magnezijem, nekim drugim mineralima te ostalim aktivnim tvarima [25].

1. 3. 1. 4. 2. Utjecaj na zdravlje

Pripravci maslačka stimuliraju rad jetrenih, želučanih, crijevnih i žučnih žlijezda te žlijezda slinovnica i gušterače. Koriste se za povišene trigliceride i kolesterol, reumu pa i žučni kamenac. Biljni napitci pročišćavaju krv, potiču organe na izlučivanje, ubrzavaju metabolizam, a čak djeluju i na tumore zbog učinka polisaharida. Zeleni dio biljke ima snažan diuretski učinak, dok gorke tvari stimuliraju bronhijalne žlijezde i olakšavaju iskašljavanje [3,4]. Korijen može potaknuti usporeni probavni sustav te se primjenjuje za jetrene i žučne tegobe [23].

Maslačak ima snažnu antioksidacijsku aktivnost, a to se zasigurno može pripisati flavonoidnim glikozidima, klorogenskoj i kavenoj kiselini, vitaminu C, ali i prisutnim karotenoidima. Određeno istraživanje pokazalo je kako korijen maslačka, zbog derivata klorogenske kiseline, ima jaču antioksidacijsku aktivnost i od sintetičkog antioksidansa (*Trolox*) [34].

1. 3. 1. 5. Pelin

Pelin (akšenac, gorčika, osenač, lat. *Artemisia absinthium*) je trajna, aromatična biljka iz porodice glavočika u obliku polugrma s drvenastom, razgranatom stabljikom i urezanim listovima. Cvatove u obliku grozda tvore sitni žuti cvjetići, a cijela biljka je prekrivena srebrnozelenim dlačicama (slika 9) [4,5,23]. U svojim drevnim tekstovima, grčki liječnik Dioskorid, pisao je o njenoj sposobnosti istjerivanja glista, a Kinezi ga i danas upotrebljavaju za zaustavljanje krvarenja iz nosa [35].



Slika 9. Pelin

Izvor: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/all/artemisia-absinthium/>.

1. 3. 1. 5. 1. Sastav i aktivne tvari

Pelin sadrži eterično ulje u kojem se nalaze terpeni, tujol i otrovni tujon; gorke seskviterpenske laktone (absintin i anabsintin), jantarnu i jabučnu kiselinu, tanin, trjeslovine, smole, a od mineralnih tvari kalij i željezo. Također se u njemu nalaze razni flavonoidi (artemizitin, katehin), flavonoidni glikozidi (glikozidi kvercetina i kemferola) te fenolne kiseline (kavena i galna) [3,4,5,21,36].

1. 3. 1. 5. 2. Utjecaj na zdravlje

Aktivne tvari pelina djeluju na probavni sustav tako što poboljšavaju rad žuči, prokrvljenost glatkih mišića trbušnih organa te pripomažu kod bolesnih stanja želuca, jetre i slezene. Vjeruje se da pripravci stimuliraju izlučivanje hormonalnih žlijezda, naročito nadbubrežne žlijezde te se primjenjuju kod dijabetesa, reume, kao i za potrebe boljeg rada bubrega. Isto tako, koriste se za povećanje apetita, protiv anemije, tegoba centralnog živčanog sustava i nesanice. Zanimljivo je da pelin u manjim količinama povišuje krvni tlak, a u većim ga snižava [3,37].

Dokazano je da prisutno eterično ulje djeluje antibakterijski [38], a zahvaljujući flavonoidima, flavonoidnim glikozidima i fenolnim kiselinama, pelin ima vrlo snažnu antioksidacijsku aktivnost te posljedično, zaštitni učinak DNA od oksidacijskog oštećenja izazvanog vodikovim peroksidom [36,39].

1. 3. 1. 6. Sikavica

Sikavica (badelj, osljebad, bijeli stričak, lat. *Silybum marianum*) je jednogodišnja ili dvogodišnja biljka iz porodice glavočika s razgranatom stabljikom i vretenastim korijenom. Ima oštro, bodljikavo lišće koje je prošarano bijelim žilama, kao i velike, ljubičaste, rjeđe bijele cvatove koji su okruženi nazubljenim, ovojnim listićima (slika 10). Vjetar lako raznosi plod kojega čini crnosmeđa sjemenka [4]. Postoje zapisi kako se, već u doba Isusova rođenja, korijen sikavice koristio za poticanje povraćanja, a plodovi od 16. i 17. stoljeća za tegobe s jetrom [3].



Slika 10. Sikavica

Izvor: <https://unkraeuter.info/silybum-marianum-mariendistel/>.

1. 3. 1. 6. 1. Sastav i aktivne tvari

U plodovima sikavice nalazi se silimarin, odnosno mješavina flavonolignana koja se sastoji od silibina A, silibina B, *izo*-silibina A, *izo*-silibina B, silidianina, silikristina, ali i određenih flavonoida – taksifolina, kvercetina, kvercetola i kamferola. Također, sadrže bjelančevine, ulje s visokim udjelom palmitinske, oleinske i linolne kiseline, sterole (β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol) te tokoferol. Zeleni dio je bogat flavonoidima, flavonoidnim glikozidima, klorogenskom i kavenom kiselinom, fumarnom kiselinom te poliacetilenima [3,4,40,41].

1. 3. 1. 6. 2. Utjecaj na zdravlje

Silimarin sikavice djeluje na hepatocite tako što može spriječiti prodiranje toksina, budući da ima utjecaj na vanjsku građu membrane, poboljšati učinak enzima polimeraze, kao i sinteze proteina na ribosomima. Stimulira rad enzima na razgradnju štetnih tvari, potiče obnavljanje oštećenih jetrenih stanica kod „masne“ jetre, ciroze jetre, ali i trovanja određenim

lijekovima (npr. fenotiazinima). Zeleni dijelovi se primjenjuju protiv žutice, žučnih kolika i raznih bolesnih stanja jetre.

Istraživanja su pokazala kako flavonolignani i flavonoidi silimarina značajno utječu na slobodne radikale i smanjuju peroksidaciju membranskih lipida [3,40] i dokazano je da se oparak (infuz) sikavice pokazao boljim izvorom biološki aktivnih tvari od metanolnog ekstrakta za te potrebe [42]. Flavonolignani ispitivani *in vitro* djeluju protiv reaktivnih kisikovih oblika uzrokovanih UV zrakama [43], a silibin čak može zaštititi plazmidnu DNA tijekom rendetskog zračenja [44]. Različite sorte sikavice sadrže različitu količinu i vrstu polifenolnih komponenti pa samim time i različite antioksidacijske aktivnosti te utjecaj na oksidacijski stres organizma [41]. Spomenuto uvelike otvara prostor daljnjim istraživanjima i studijama.

1. 3. 1. 7. Stolisnik

Stolisnik (hajdučka trava, božje drvce, kumica, lat. *Achillea millefolium*) je trajna, aromatična biljka iz porodice glavočika s čvrstom, punom stabljikom te naizmjenično poredanim dvostruko i trostruko urezanim listovima. Bijeli ili ružičastocrveni cvjetići tvore ravan, velik i gust cvat (slika 11), a razgranati podanak je površinski horizontalan [35,45]. Smatra se da je stolisnik ime „*Achillea*“ dobio po grčkom junaku Ahileju koji je, prema Homerovoj Ilijadi, njime zaustavljao krvarenja svojih vojnika u Trojanskom ratu [35]. Grčki liječnik Dioskorid opisao je njegovu vrlo ljekovitu sposobnost, naročito kod zacjeljenja i krvarenja rana. Pisci srednjeg vijeka su preuzeli to znanje i preporučivali ga za unutarnje i vanjske povrede [3].



Slika 11. Stolisnik

Izvor: <http://www.youcanlearnseries.com/Landscape/Plants/Yarrow.aspx>.

1. 3. 1. 7. 1. Sastav i aktivne tvari

Stolisnik sadrži eterična ulja u kojima se nalaze monoterpeni i seskviterpeni, razne flavonoide (apigenin, kvercetin, luteolin, patuletin, rutin), flavonoidne glikozide (glikozide apigenina, hiperozida, izokvercitrina, kvercitrina, luteolina i rutina) i fenolne kiseline (klorogenska, kavena, *p*-kumarinska, valerijanska), alkaloidne, kumarine, trjeslovene, sterole, dušične tvari, brojne aminokiseline, vitamine (vitamin C, K, folna kiselina), karoten, tanin, salicilnu, mravlju, i octenu kiselinu te masne kiseline. Također, sadrži željezo, natrij, kalij, fosfor, sumpor, mineralne soli, ali i određene glikoproteine kojima je, za sad, poznata funkcija, ali ne i kemijska struktura [3,4,5,21,45,46,47].

1. 3. 1. 7. 2. Utjecaj na zdravlje

Eterična ulja imaju umirujuće djelovanje i olakšavaju iskašljavanje, dok vodene otopine hlapljivih komponenti eteričnih ulja potiču bolji rad žuči te imaju diuretski i protuupalni učinak.

Dušične tvari snižavaju tjelesnu temperaturu, ali i visok krvni tlak, a flavonoidi i flavonoidni glikozidi imaju spazmolitičko djelovanje. Produkt doticaja gorkih tvari i sluznice su gastrini koji povećavaju apetit, a gorke tvari također stimuliraju izlučivanje pepsina i solne kiseline pa posljedično i želučanog soka te sline. Stolisnik se primjenjuje za dispepsiju, kao i grčeve potaknute crijevnim, želučanim i menstrualnim tegobama. Isto tako, koristi se protiv unutarnjih i vanjskih krvarenja, reumatskih tegoba te bolesnih stanja gornjih dišnih puteva, bubrega, jetre i mjehura [3,4,45].

Ukupan polifenolni sadržaj stolisnika ima značajnu antioksidacijsku i antibakterijsku aktivnost [46,47,48], a određena istraživanja su pokazala kako i eterična ulja doprinose radikalnom antimikrobnom i antioksidacijskom učinku, budući da zbog svog sastava imaju veću aktivnost uklanjanja slobodnih radikala i od sintetičkog antioksidansa (*Trolox*) te značajno inhibiraju proizvodnju dušikovog oksida u makrofazima, aktiviranima lipopolisaharidom *in vitro* [48,49]. Također, dokazano je kako flavonoidi i ostali fenolni spojevi vodenog ekstrakta stolisnika imaju antimutageni potencijal te da mogu statistički sniziti postotak kromosomske promjene uzrokovane kemoterapijskim sredstvom *in vivo* na štakorima, budući da nemaju citotoksični učinak i jer su pokazali antimutageno i zaštitno djelovanje na stanice koštane srži [50].

1. 3. 1. 8. Trava iva

Trava iva (gorski dubčac, mali dubčac, lat. *Teucrium montanum*) je višegodišnja, aromatična, sitna biljka iz porodice usnatica sa srebrnozelenim lišćem i bijeložutim cvijećem. Raste u obliku okruglog, gustog grma polegnutog na kamenito tlo (slika 12). Vrijednost i cijenjenost ove biljke najbolje opisuje poznata narodna izreka: „Trava iva od mrtva pravi živa!“ [5,21,45].



Slika 12. Trava iva

Izvor: <http://botany.cz/en/teucrium-montanum/>.

1. 3. 1. 8. 1. Sastav i aktivne tvari

Trava iva sadrži eterično ulje u kojem se nalaze seskviterpeni (α -kalakoren, β -selinen, γ -kurkumen, δ -kadinen, τ -kadinol itd.), gorke tvari, trjeslovine, saponine, kolin, tanin, selen, flavonoide (apigenin, cirsiliol, cirsimaritin, luteolin), flavonoidne glikozide (glikozid luteolina), kao i fenolne kiseline [5,21,45,51,52,53,54].

1. 3. 1. 8. 2. Utjecaj na zdravlje

Ljekovito djelovanje i puni sastav trave ive nisu još u potpunosti znanstveno istraženo, ali se određeni učinak zna pa se pripravci primjenjuju za, želučane, jetrene, crijevne, probavne i menstrualne tegobe, bolesna stanja žuči, dišnog sustava te usta i grla. Isto tako, koriste se za liječenje raznih infekcija, afti, gljivica, gihta, ali i noćnog znojenja uzrokovanog tuberkulozom [5,21,45].

Trava iva ima značajnu antioksidacijsku aktivnost zbog sadržaja flavonoida, flavonoidnih glikozida, fenolnih kiselina te najvjerojatnije prisutnosti selen [54,55], a zbog sadržaja eteričnog ulja i antibakterijski i antifungalni učinak [51,52]. Štoviše, pokazala je jako citotoksično djelovanje na ciljne stanice K562 humane kronične mijeloične leukemije i HeLa adenokarcinoma cerviksa pa se može smatrati obećavajućim izvorom učinkovitih i jedinstvenih, biološki aktivnih tvari za određene terapijske svrhe [56].

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovoga istraživanja je utvrditi i usporediti antioksidacijsku aktivnost ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja; utvrditi razlike među ispitivanim ekstraktima korijenja čička, encijana, koprive i maslačka te lišća koprive, pelina, sikavice, stolisnika i trave ive. Također, cilj je ispitati različitost u antioksidacijskom djelovanju korijena i lista iste biljke – koprive, kao i utjecaja veličine čestica, odnosno razlike usitnjenog i neusitnjenog korijena i lista koprive. Korištena je metoda redukcije 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikala spektroskopskim mjerenjem elektronske spinske rezonancije (ESR). Za određene biljke nema objavljenih istraživanja o korištenju ESR metode ili kombinacije DPPH i ESR metode određivanja antioksidacijske aktivnosti pa je cilj usporediti dobivene rezultate s objavljenim rezultatima ostalih dosadašnjih provedenih istraživanja.

3. MATERIJALI I METODE

3. 1. Materijali

Ispitivano ljekovito bilje je kupljeno u „bio&bio“ trgovini i biljnoj ljekarni „Galena“ (Rijeka, Hrvatska) te ubrano 2016. godine na području Visoke Hercegovine (Bosna i Hercegovina). Korišteni dijelovi i opis odabranog ljekovitog bilja opisano je u tablici 6. Priređena koncentracija 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikala, proizvođača „Sigma“ (St. Louis, MO, SAD), otopljenog u etanolu (96%, v/v), proizvođača Kemika (Zagreb, Hrvatska), iznosila je $c = 0,15 \text{ mmol/L}$.

Tablica 6. Oznake i podrijetla ljekovitog bilja korištenog u ovom istraživanju.

Biljka	Dio biljke	Oznaka	Kupljeno/ ubrano	Proizvođač/ područje branja	Zemlja podrijetla
čičak	korijen	CK	kupljeno ¹	AGRISTAR d.o.o.	Kina
encijan	korijen	EK	ubrano	Visoka Hercegovina	Bosna i Hercegovina
kopriva	korijen	KK, KK*	kupljeno ¹	AGRISTAR d.o.o.	Bugarska
maslačak	korijen	MK	kupljeno ¹	AGRISTAR d.o.o.	Kina
kopriva	list	KL, KL*	kupljeno ¹	AGRISTAR d.o.o.	Srbija
pelin	list	PL	kupljeno ²	-	Hrvatska
sikavica	list	SIL	kupljeno ²	-	Hrvatska
stolisnik	list	STL	ubrano	Visoka Hercegovina	Bosna i Hercegovina
trava iva	list	IL	ubrano	Visoka Hercegovina	Bosna i Hercegovina

KK* – neusitnjeni korijen koprive; KL* – neusitnjeni list koprive.

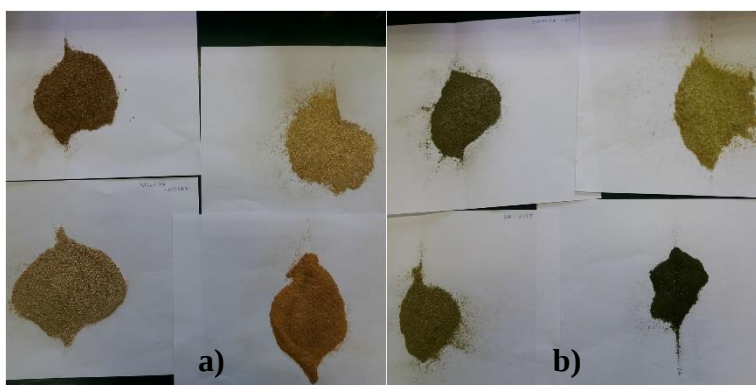
Broj (¹) označava biljku kupljenu u „bio&bio“ trgovini, a (²) u biljnoj ljekarni „Galena“.

3. 2. Metode

3. 2. 1. PRIPREMA UZORAKA

3. 2. 1. 1. Priprema ljekovitog bilja za ekstrakciju

Ljekovito bilje je usitnjeno u mlinu za kavu UM-100, proizvođača „Elta“ (Rödermark, Njemačka). Površina mlinca za kavu je temeljito obrisana celuloznom vatom između svakog usitnjavanja pojedine biljke. Nakon tog postupka, svi uzorci su prosijani kroz isto sito kako bi čestice bile iste veličine (slika 13).



Slika 13. Prosijano ljekovito bilje: a) korijenje; b) lišće.

3. 2. 1. 2. Ekstrakcija ljekovitog bilja

Ekstrakcija ljekovitog bilja je provedena na najčešći način tradicionalne priprave biljnog napitka – „čaja“. U 250 mL kipuće prirodne izvorske vode „Jana“ dodano je 1,50 g usitnjene biljke, promiješano žličicom i kuhano 1 minutu. Na isti način pripremljeni su uzorci neusitnjenog korijena i lista koprive. Biljni napitci ostavljeni su 10 minuta poklopljeni u lončiću u kojem su i kuhani (slika 14). Volumen od 250 mL je ekvivalentan volumenu šalice za čaj, a masa od 1,50 g je prosječna masa biljne suhe tvari u filter-vrećicama.



Slika 14. Poklopljeni lončić s biljnim napitkom.

Pripremljeni uzorci su filtrirani kroz filter-papir kako bi se odstranili neželjeni čestični zaostaci te ostavljeni hladiti pri sobnoj temperaturi u čašama pokrivenima aluminijskom folijom kako ne bi došlo do oksidacije (slika 15). Biljni napitci prelivani su u čašice s čepom (slika 16) i pohranjeni u hladnjaku na $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ do trenutka mjerenja.



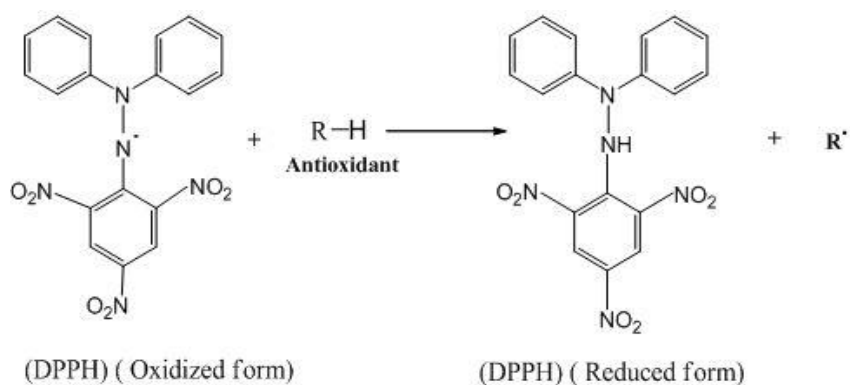
Slika 15. Uzorci na hlađenju pri sobnoj temperaturi.



Slika 16. Uzorci u čašicama s čepom.

3. 2. 2. METODA REDUKCIJE DPPH RADIKALA

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) je slobodni radikal čija je molekulska formula $C_{18}H_{12}N_5O_6$, a ime prema IUPAC-ovoj nomenklaturi di(fenil)-(2,4,6-trinitrofenil)iminoazan.. Radikal je stabilan temeljem delokalizacije nesparenog elektrona, budući da molekula ne dimerizira. Sparivanjem atoma vodika antioksidansa i nesparenog elektrona dušikovog atoma DPPH radikala nastaje redukcija istog, ali se u toj i svakoj narednoj reakciji oslobodi novi slobodni radikal R (slika 17), sve do trenutka završnog dijela neutralizacije i nastanka neradikalnog produkta [57].



Slika 17. Redukcija DPPH radikala i njegov oksidirani i reducirani oblik strukture.

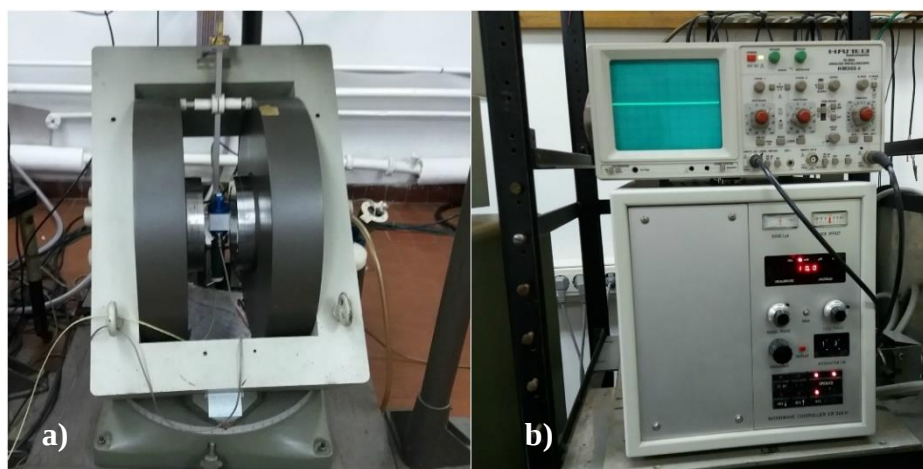
Izvor: <http://www.assignmentpoint.com/science/biology/physical-chemical-constituents-zingiber.html>.

3. 2. 3. ELEKTRONSKA SPINSKA REZONANCIJA (ESR)

Elektronska spinska rezonancija (engl. *Electron Spin Resonance*, ESR), također poznata i kao elektronska paramagnetska rezonancija (engl. *Electron Paramagnetic Resonance*, EPR), je spektroskopska metoda koja se temelji na detekciji apsorpcije mikrovalnog zračenja određene frekvencije koja je potaknuta elektromagnetskim poljem molekula kao što su slobodni

radikali i ioni prijelaznih metala, spojevi koji imaju nesparene elektrone. Kad se na uzorak primijeni vanjsko magnetsko polje, paramagnetski nespareni elektroni mogu se orijentirati paralelno ili antiparalelno u odnosu na smjer magnetskog polja, budući da je spin elektrona, koji iznosi $\pm \frac{1}{2}$, uzrokovan njegovim spinskim magnetskim momentom. Na taj način stvaraju se dvije različite razine energije nesparenih elektrona, a pri apsorpciji mikrovalne energije nastaje prijelaz iz niže razine energije u višu. ESR, stoga detektira apsorpciju mikrovalne energije koja se javlja pri energijskom prijelazu nesparenih elektrona u primijenjenom magnetskom polju. Amplituda ESR signala je proporcionalna broju nesparenih elektrona prisutnih u uzorku što omogućuje kvantifikaciju slobodnih radikala [58].

Mjerenje antioksidacijske aktivnosti ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja provedeno je u Laboratoriju za magnetske rezonancije Zavoda za fizičku kemiju na Institutu „Ruđer Bošković“ u Zagrebu pomoću ESR spektrometra E-109, proizvođača „Varian, Inc.“ (Palo Alto, KA, SAD), koji je dodatno opremljen mikrovalnim mostom ER 041 XG, proizvođača „Bruker“ (Karlsruhe, Njemačka). Neki dijelovi instrumenta prikazani su na slici 18.



Slika 18. a) magnetsko polje s rezonantnom šupljinom; b) kontrolni uređaj mikrovalnog polja.

3. 2. 3. 1. Priprema uzoraka za mjerenje na ESR spektrometru

1.

- a) priređena je otopina DPPH radikala u etanolu (96%, v/v), koncentracije $c = 0,15 \text{ mmol/L}$;
- b) snimljen je spektar otopine DPPH radikala u koju je dodano 10% vode „Jana“ – slijepa proba.

2.

- a) priređen je uzorak u kojem je otopini DPPH radikala dodano 10% ekstrakta biljke;
- b) zabilježeno je početno vrijeme od dodatka ekstrakta otopini radikala ($t = 0$);
- c) uzorak je promiješan i dio je prebačen u kapilaru koja je s donje strane začepljena glinom te potom ubačena u EPR cjevčicu promjera 4 mm, a cjevčica stavljena u rezonantnu šupljinu.

3. Postupci 1b i 2 ponovljeni su za svako slijedeće pojedino snimanje uzorka.

3. 2. 3. 2. Mjerenje na ESR spektrometru

Snimanje ESR spektara izvedeno je pri centralnom polju od 331 mT (3310 G), frekvenciji od 9,28 GHz, magnetskom posmaku od 10 mT (100 G), snazi mikrovalnog polja od 10 mW, amplitudi modulacije 0,1 mT (1 G), pojačanju 1250 i vremenu posmaka magnetskog polja od 20 s. Kapilara u ESR cjevčici korištena je kako bi se izbjegla rezonancija zbog dipolnih momenata vode i etanola.

ESR spektrometar spektre prikazuje u obliku prve derivacije ovisnosti apsorpcije mikrovalnog zračenja o promjeni magnetskog polja, a budući da su tek dvostruko integrirane vrijednosti proporcionalne broju DPPH radikala, iste su izračunane i obrađene pomoću „EW (EPRWare) Scientific Software Service“ programa.

Od početnog trenutka ($t = 0$), u kojem je otopini DPPH radikala dodano 10% ekstrakta biljke, mjeri se i prati intenzitet ESR signala, a u ovom slučaju pad intenziteta zbog pada broja DPPH radikala. Svi uzorci normirani su prema početnoj vrijednosti dvostrukog integrala slijepe probe (otopine DPPH radikala u koju je dodano 10% vode „Jana“). Prije svakog pojedinog mjerenja ponovno je snimljen spektar slijepe probe. Spektar reakcijske otopine uzorka sniman je tijekom 30 minuta: svakih 30 sekundi tijekom prvih 5 minuta, svake minute između 5. i 10. minute, svake 2 minute između 10. i 20. minute te svakih 5 minuta između 20. i 30. minute. Za akumuliranje i računsku obradu spektra korišten je EW (EPRWare) Scientific Software Service program.

Prije samih mjerenja, snimani su pripremni spektri mogućeg najslabijeg i najjačeg uzorka s obzirom na antioksidacijsku aktivnost kako bi se utvrdila optimalna koncentracija ekstrakta pojedine biljke. Potrebno je odrediti navedeni parametar kako bi se postigli isti uvjeti mjerenja pojedinih uzoraka, kao i mogućnost ekvivalentne usporedbe.

Rezultati su prikazani pomoću grafova izrađenih u „MS Office Excel“ programu, a korištene oznake u tablici 6.

4. REZULTATI

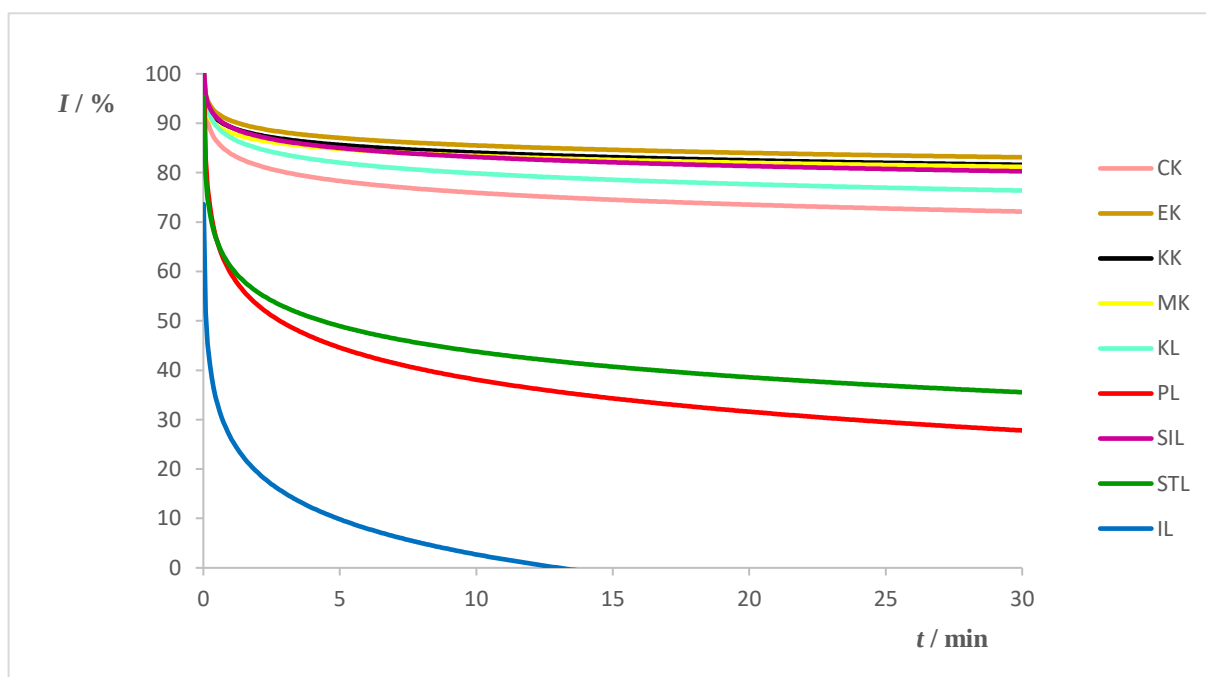
Antioksidacijska aktivnost pojedinog ekstrakta ljekovite biljke, odnosno sposobnost deaktivacije DPPH radikala, prikazana je u obliku relativnog intenziteta (I); omjera intenziteta DPPH otopine nakon dodatka ekstrakta biljke u određenom vremenu t (I_t) i intenziteta slijepe probe (I_0). Prema tome, relativni intenzitet I izračunan je prema izrazu:

$$I = \frac{I_t}{I_0} \cdot 100\%$$

gdje je I_t intenzitet dobiven dvostrukim integriranjem prve derivacije apsorpcijskog spektra DPPH otopine nakon dodatka ekstrakta biljke, a I_0 intenzitet dobiven dvostrukim integriranjem prve derivacije apsorpcijskog spektra slijepe probe. Dobivene vrijednosti izražene su u postocima.

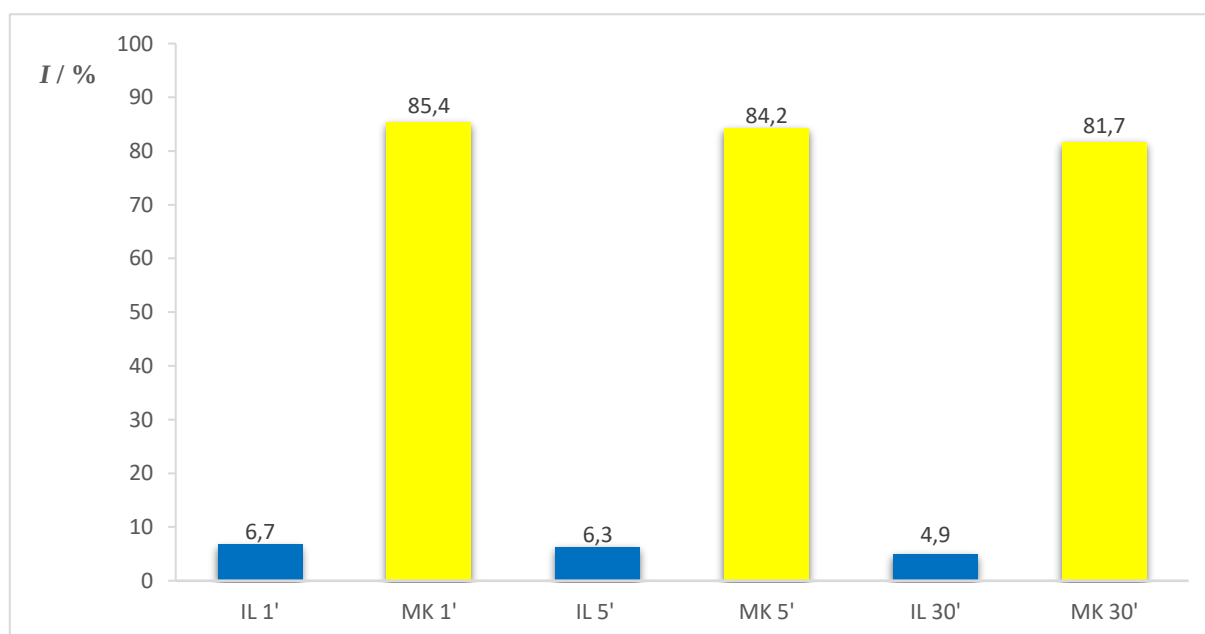
4. 1. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja

Slika 19 grafički prikazuje pad intenziteta ESR signala reakcijskih otopina pojedinih uzoraka ekstrakata ljekovitog bilja, odnosno pad broja DPPH radikala, snimanih tijekom 30 minuta. Nakon 30 minuta, uzorak korijena čička pokazuje pad intenziteta početnog signala (I_0) na 71,4%, korijena encijana 81,4%, korijena koprive 81,3%, korijena maslačka 81,7%, lista koprive 74,6%, lista pelina 26,0%, lista sikavice 78,4%, lista stolisnika 37,5% te lista trave ive na svega 4,9%. Jasno je kako najveći gubitak intenziteta ESR signala, do samog ruba i ispod granica detekcije, pokazuje uzorak lista trave ive, dok se najmanji pad signala očituje kod uzorka korijena maslačka.



Slika 19. Ovisnost relativnog intenziteta I o vremenu t za pojedine uzorke ekstrakata ljekovitog bilja.

Slika 20 grafički prikazuje razlike nakon prve, pete i tridesete minute u padu intenziteta ESR signala uzorka trave ive koji pokazuje najjaču antioksidacijsku aktivnost i uzorka korijena maslačka koji ima najslabiju antioksidacijsku aktivnost u ovome istraživanju. Početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta trave ive nakon prve minute pao na 6,7%, nakon pete na 6,3%, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja na 4,9%. Ekstrakt korijena maslačka je nakon prve minute smanjio početni signal na slabih 85,4%, nakon pete na 84,2%, a nakon 30 minuta signal se smanjio za samo 18,3%.



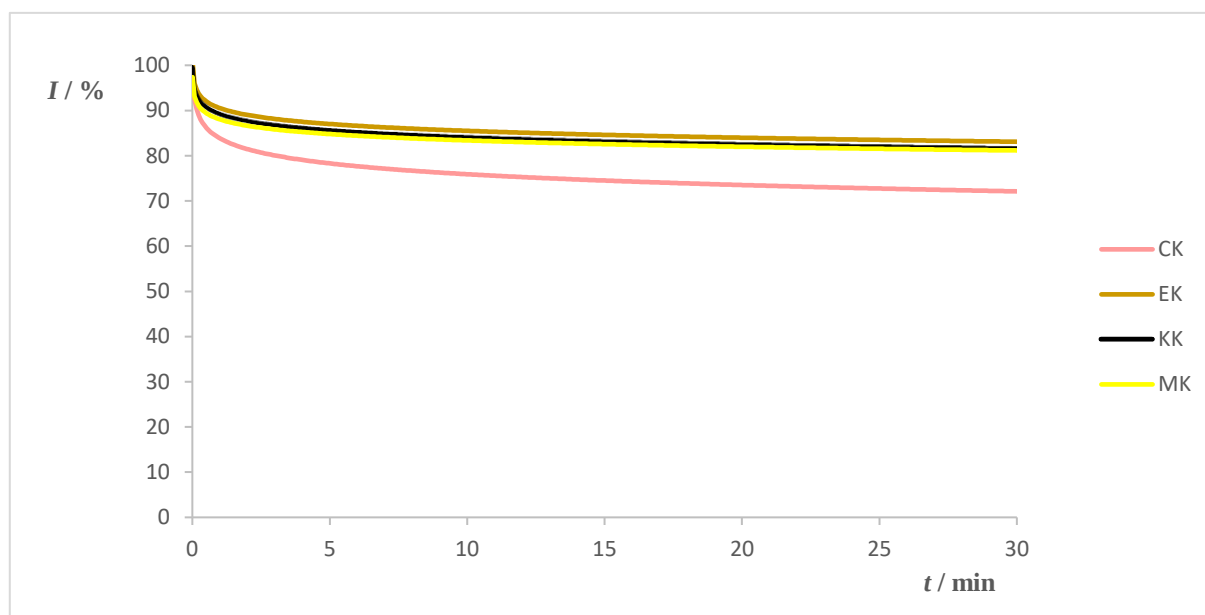
Slika 20. Relativni intenziteti ESR signala DPPH nakon dodatka ekstrakata lista trave ive (IL) i korijena maslačka (MK) u trenutku $t_1 = 1$ min, $t_5 = 5$ min i $t_{30} = 30$ min.

4. 2. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata korijenja ljekovitog bilja

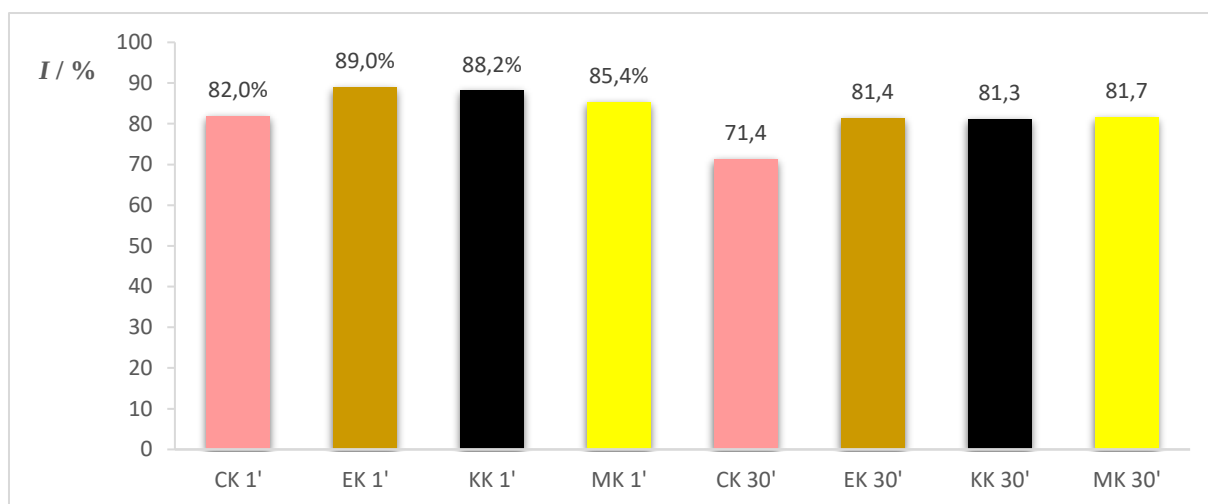
Slika 21 grafički prikazuje razliku pada intenziteta ESR signala među ispitivanim uzorcima korijenja ljekovitog bilja, snimanih tijekom 30 minuta. Već spomenuti ekstrakt korijena maslačka je najslabije deaktivirao DPPH radikal, dok je ekstrakt korijena čička

pokazao najveću antioksidacijsku moć u smanjenju početnog intenziteta signala. Prema tome, počevši od najjačeg, poredak ekstrakata korijenja u odnosu na antioksidacijsku aktivnost glasi: CK, KK, EK, MK.

Na slici 22 se također jasno mogu vidjeti razlike u padu intenziteta ESR signala uzoraka korijenja nakon prve i tridesete minute. Početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta korijena čička nakon prve minute pao na 82,0%, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja na 71,4%. Također, ekstrakt korijena encijana je početni signal smanjio na 89,0% nakon prve minute, a nakon tridesete na 81,4%. Ekstrakt korijena koprive smanjio je početni signal za 11,8% nakon prve minute, dok je nakon 30 minuta relativni intenzitet signala iznosio 81,3 % vrijednosti početnog signala I_0 . Dodatkom ekstrakta korijena maslačka, nakon prve minute izmjeren je intenzitet signala od 85,4%, a 81,7% na kraju mjerenja, u tridesetoj minuti.



Slika 21. Ovisnost relativnog intenziteta I o vremenu t za pojedine uzorke korijenja ljekovitog bilja.



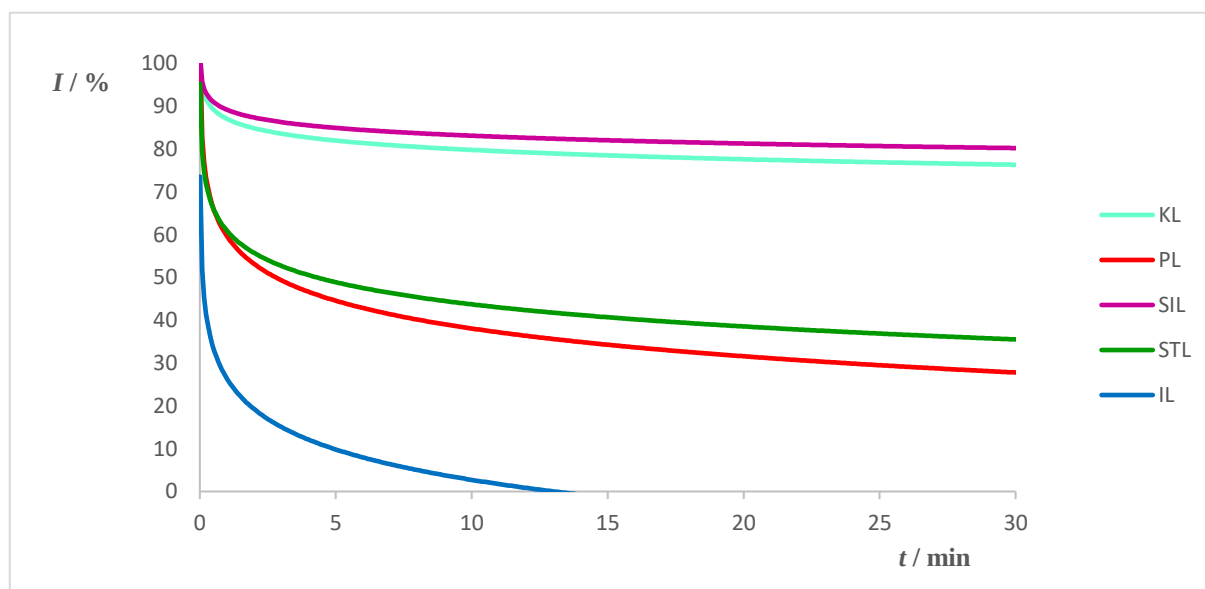
Slika 22. Relativni intenziteti ESR signala DPPH nakon dodatka ekstrakata korijenja čička (CK), encijana (EK), koprive (KK) i maslačka (MK) u trenutku $t_1 = 1$ min i $t_{30} = 30$ min.

4. 3. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata lišća ljekovitog bilja

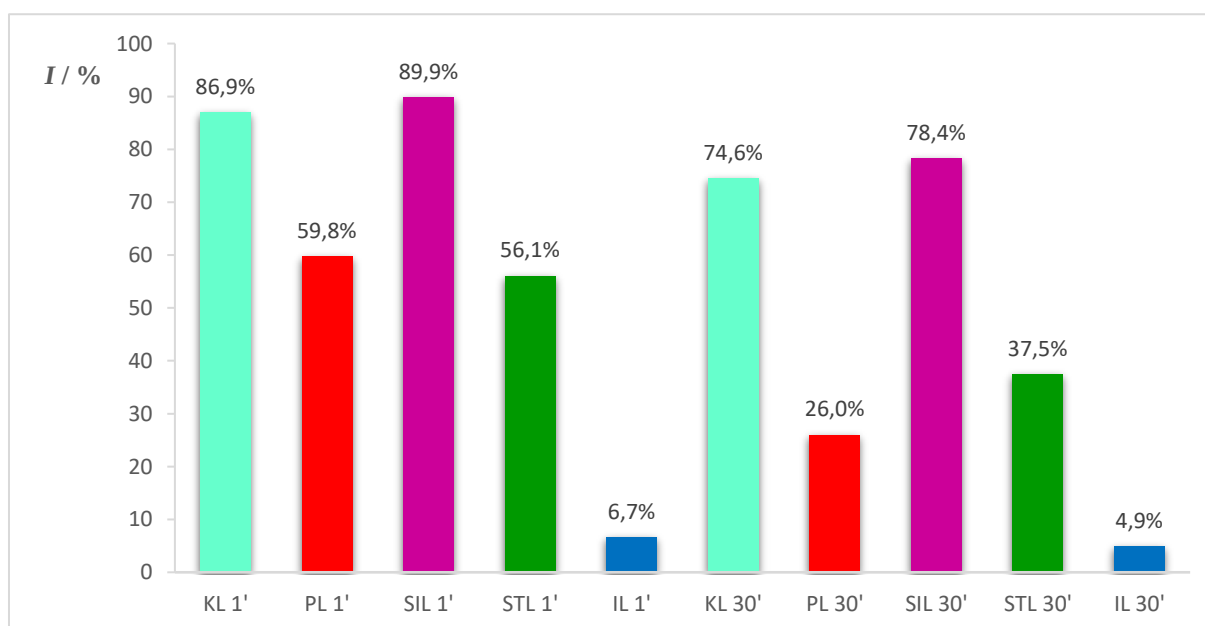
Slika 23 grafički prikazuje razliku pada intenziteta ESR signala među ispitivanim uzorcima lišća ljekovitog bilja, snimanih tijekom 30 minuta. Već spomenuti ekstrakt lista trave ive je deaktivirao najveći broj DPPH radikal, dok je ekstrakt lista sikavice pokazao najmanju antioksidacijsku moć u smanjenju početnog intenziteta signala. Prema tome, počevši od najjačeg, poredak ekstrakata lišća u odnosu na antioksidacijsku aktivnost glasi: IL, PL, STL, KL, SIL.

Na slici 24 se također mogu jasno vidjeti razlike u padu intenziteta ESR signala uzoraka lišća nakon prve i tridesete minute. Početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta lista koprive nakon prve minute pao na 86,9%, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja na 74,6%. Također, ekstrakt lista pelina je početni signal smanjio na 59,8% nakon prve minute, a nakon tridesete na izuzetih 26,0%. Ekstrakt lista sikavice smanjio je početni signal za izuzetno slabih 10,1% nakon prve minute, dok je nakon 30 minuta relativni intenzitet signala iznosio 78,4%

vrijednosti početnog signala I_0 . Isto tako, početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta lista stolisnika nakon prve minute pao za odličnih 43,9%, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja signal je iznosio izvrsnih 37,5%. Dodatkom ekstrakta lista trave ive, izmjereni su najmanji relativni intenziteti signala, nakon prve minute od 6,7%, a 4,9% na kraju mjerenja, u tridesetoj minuti.



Slika 23. Ovisnost relativnog intenziteta I o vremenu t za pojedine uzorke lišća ljekovitog bilja.

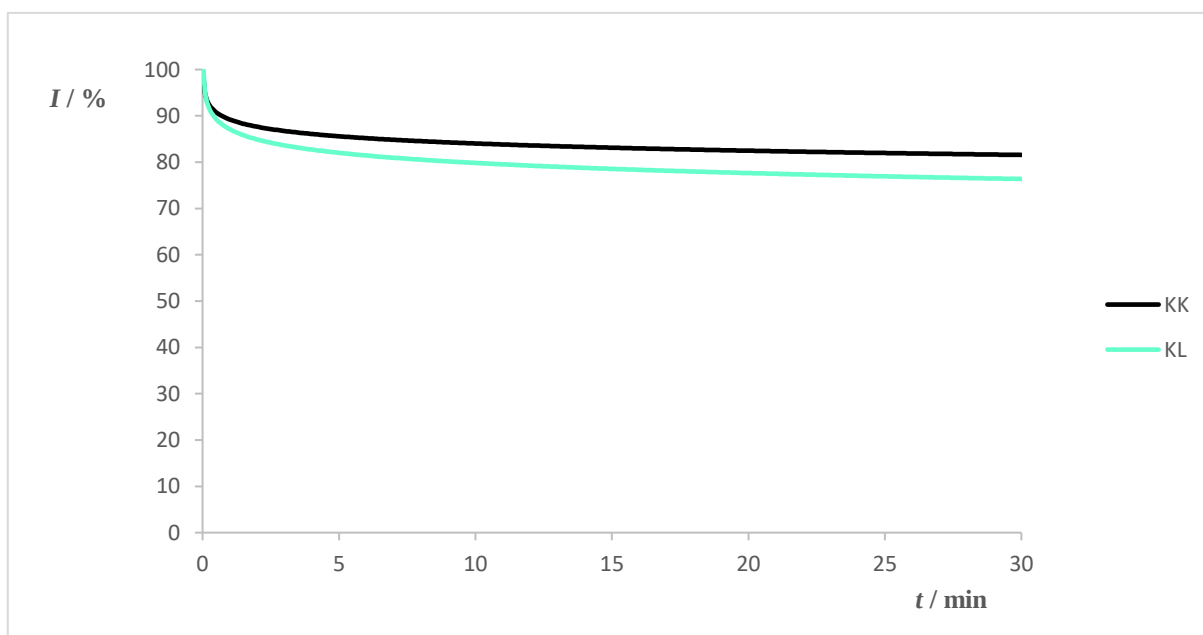


Slika 24. Relativni intenziteti ESR signala DPPH nakon dodatka ekstrakata lišća koprive (KL), pelina (PL), sikavice (SIL), stolisnika (STL) i trave ive (IL) u trenutku $t_1 = 1$ min i $t_{30} = 30$ min.

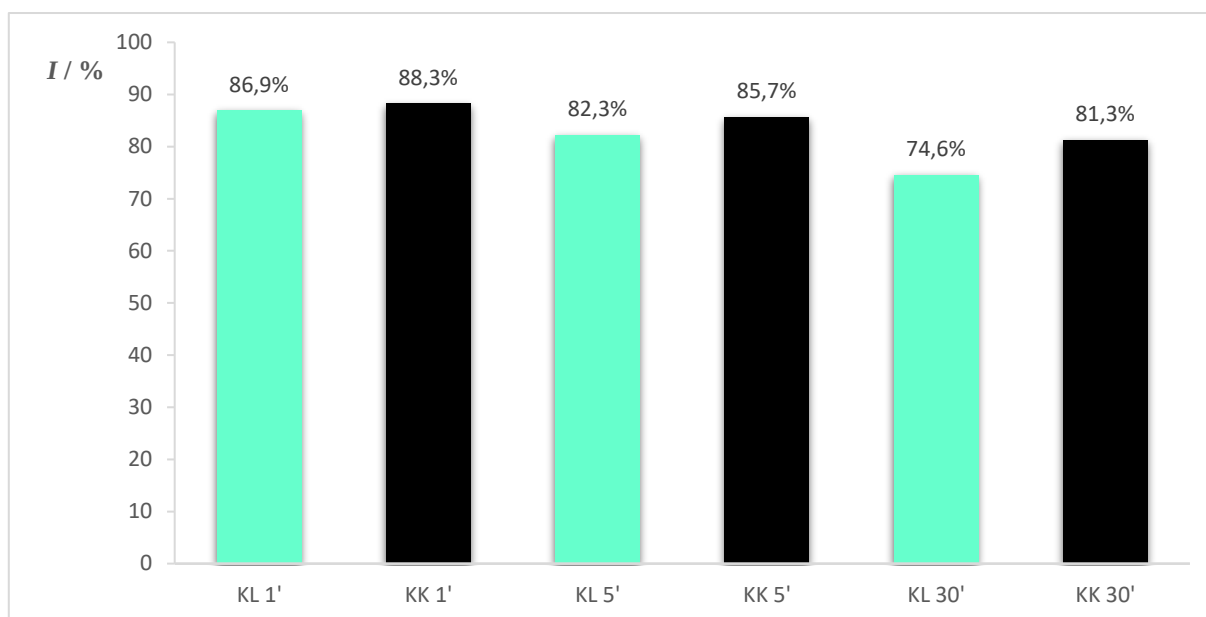
4. 4. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata korijena i lista koprive

Slika 25 grafički prikazuje razliku pada intenziteta ESR signala među ispitivanim uzorcima korijena i lista iste biljke – koprive, mjerenih tijekom 30 minuta. Ekstrakt lista koprive je deaktivirao veći broj DPPH radikala, dok je ekstrakt korijena koprive pokazao manju antioksidacijsku moć u smanjenju početnog intenziteta signala.

Na slici 26 je također jasno vidljiva razlika u padu intenziteta ESR signala uzoraka korijena i lista koprive nakon prve, pete i tridesete minute. Početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta lista koprive nakon prve minute pao na 86,9%, 82,3% nakon pete minute, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja na 74,6%. Ekstrakt korijena koprive smanjio je početni signal za slabih 11,7% nakon prve minute, na 85,7% nakon pete minute, dok je nakon 30 minuta relativni intenzitet signala iznosio 81,3% vrijednosti početnog signala I_0 .



Slika 25. Ovisnost relativnog intenziteta I o vremenu t za uzorke lista i korijena koprive.



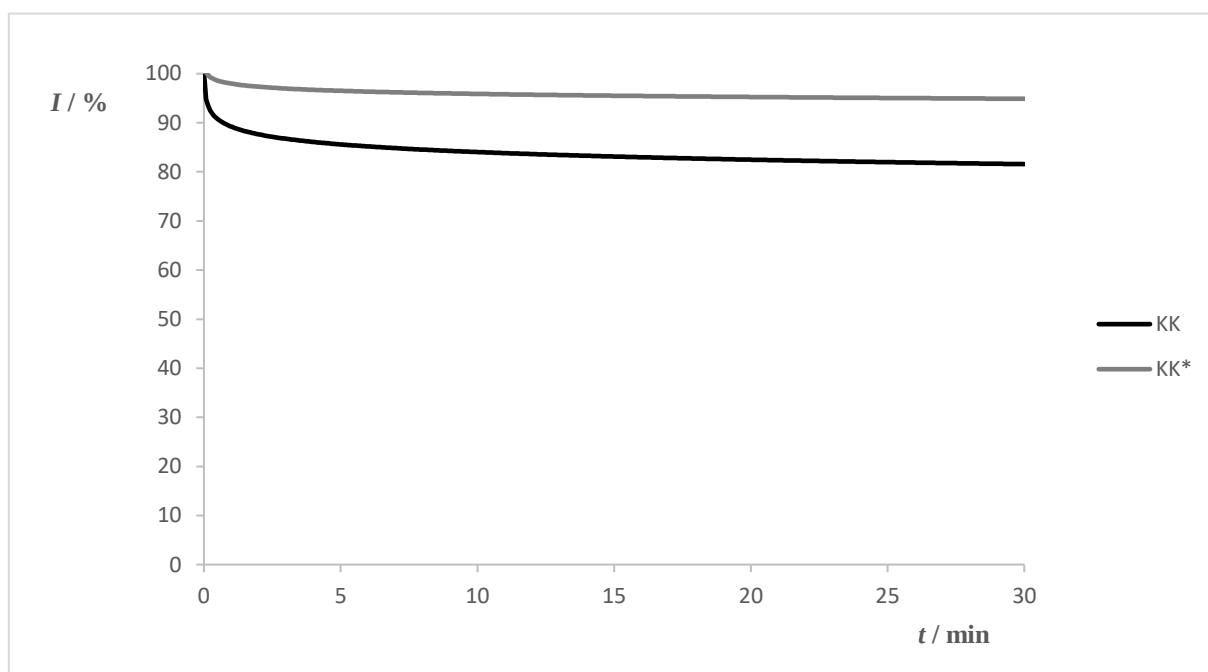
Slika 26. Relativni intenziteti ESR signala DPPH nakon dodatka ekstrakata lista koprive (KL) i korijena koprive (KK) u trenutku $t_1 = 1$ min, $t_5 = 5$ min i $t_{30} = 30$ min.

4. 5. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog korijena koprive

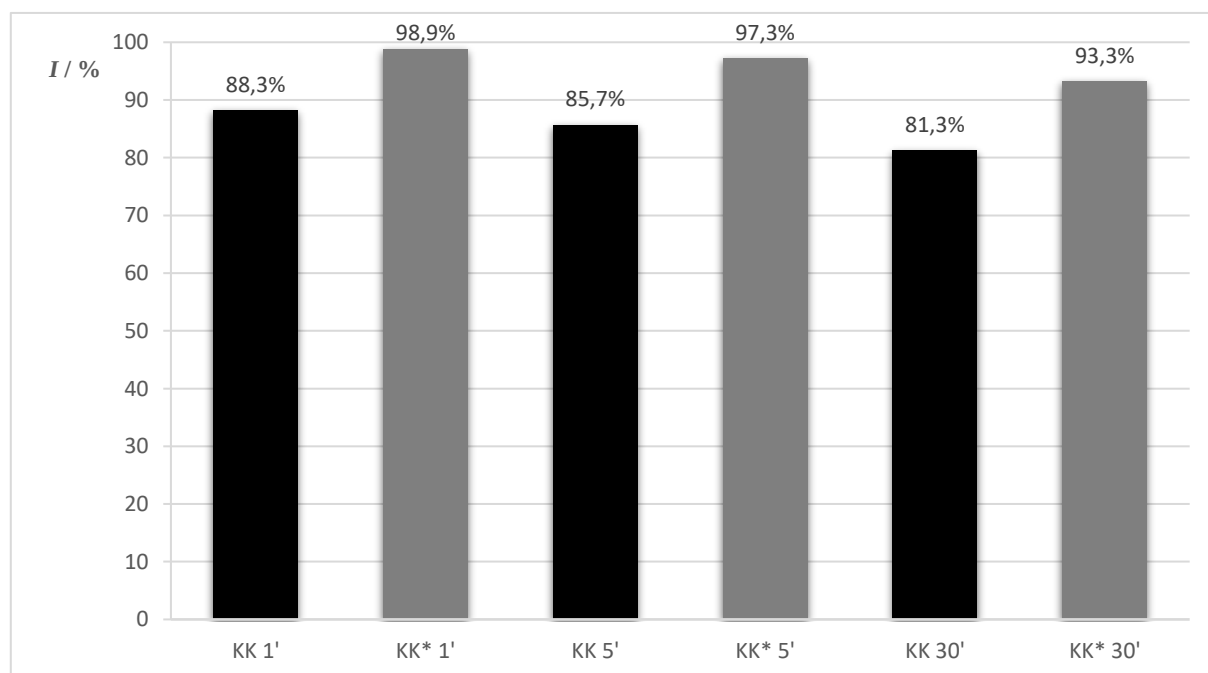
Slika 27 grafički prikazuje razliku pada intenziteta ESR signala među ispitivanim uzorcima usitnjenog i neusitnjenog korijena koprive, snimanih tijekom 30 minuta. Ekstrakt usitnjenog korijena koprive je jače inhibirao broj DPPH radikala, dok je ekstrakt neusitnjenog korijena koprive pokazao manju antioksidacijsku moć u smanjenju početnog intenziteta signala, kao i najmanju u odnosu na sva mjerenja pojedinih uzoraka.

Na slici 28 je također jasno vidljiva razlika u padu intenziteta ESR signala uzoraka usitnjenog i neusitnjenog korijena koprive nakon prve, pete i tridesete minute. Početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta usitnjenog korijena koprive nakon prve minute pao na 88,3%, 85,7% nakon pete minute, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja na 81,3%. Ekstrakt neusitnjenog korijena koprive smanjio je nakon prve minute početni signal za 1,1%, najslabiji

rezultat u svim mjerenjima pojedinih uzoraka, na 97,3% nakon pete minute, dok je nakon 30 minuta relativni intenzitet signala iznosio 93,3% vrijednosti početnog signala I_0 .



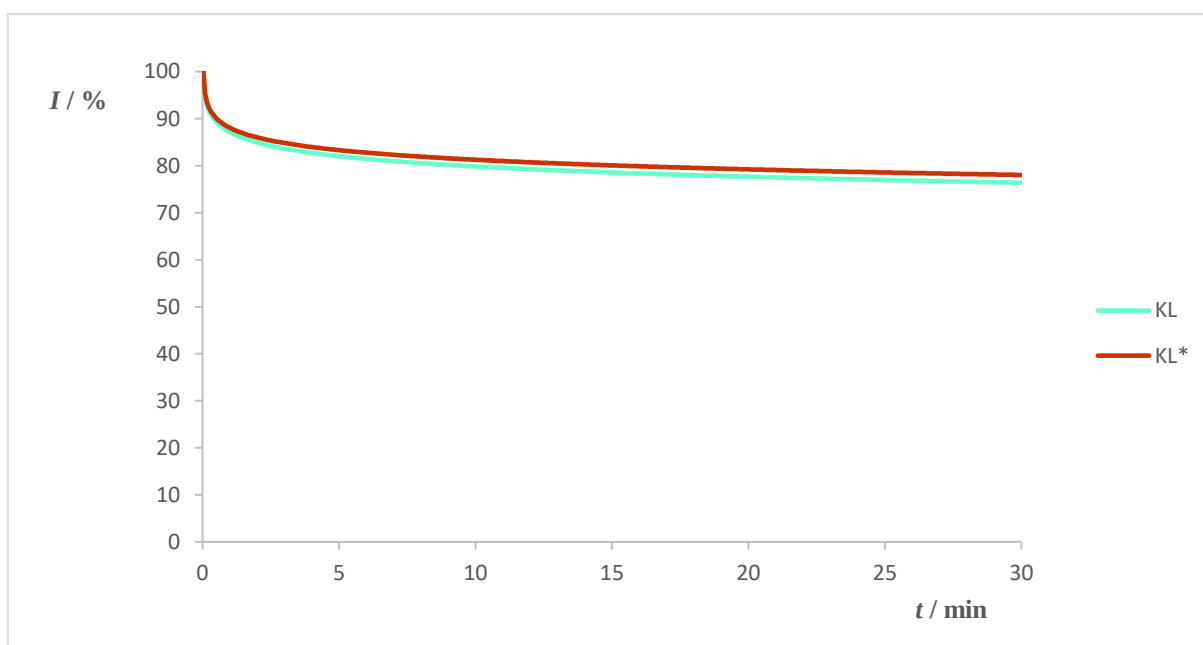
Slika 27. Ovisnost relativnog intenziteta I o vremenu t za uzorke ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog korijena koprive.



Slika 28. Relativni intenziteti ESR signala DPPH nakon dodatka ekstrakata usitnjenog (KK) i neusitnjenog (KK*) korijena koprive u trenutku $t_1 = 1$ min, $t_5 = 5$ min i $t_{30} = 30$ min.

4. 6. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog lista koprive

Slika 29 grafički prikazuje razliku pada intenziteta ESR signala među ispitivanim uzorcima usitnjenog i neusitnjenog lista koprive, snimanih tijekom 30 minuta. Ekstrakt usitnjenog lista koprive je jače inhibirao broj DPPH radikala, dok je ekstrakt neusitnjenog lista koprive pokazao manju antioksidacijsku moć u smanjenju početnog intenziteta signala.

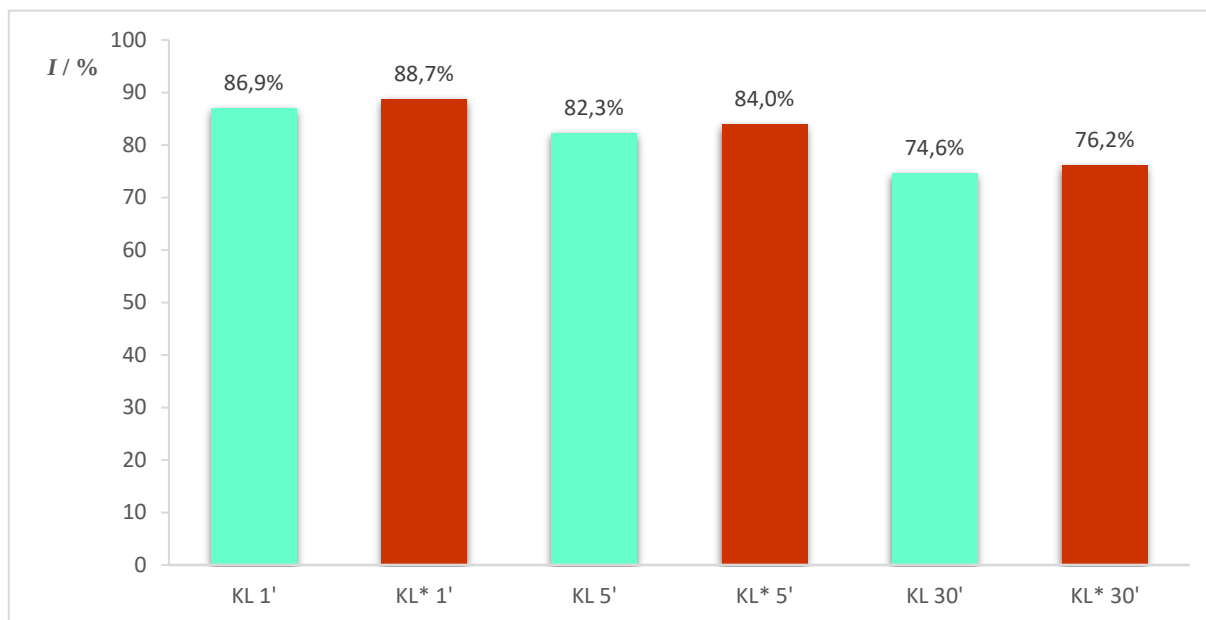


Slika 29. Ovisnost relativnog intenziteta I o vremenu t za uzorke ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog lista koprive.

Iako imaju jako slične rezultate, na slici 30 je također jasno vidljiva razlika u padu intenziteta ESR signala uzoraka usitnjenog i neusitnjenog lista koprive nakon prve, pete i tridesete minute, Početni intenzitet signala (I_0) je dodatkom ekstrakta usitnjenog lista koprive nakon prve minute pao na 86,9%, 82,3% nakon pete minute, a u zadnjoj, tridesetoj minuti mjerenja na 74,6%. Ekstrakt neusitnjenog lista koprive smanjio je početni signal za 11,3% nakon prve minute, na 82,3% nakon pete minute, dok je nakon 30 minuta relativni intenzitet

signala iznosio 74,6% vrijednosti početnog signala I_0 . Dodatkom oba ekstrakta, izmjereni su slični intenziteti signala

koji se nakon sva tri trenutka mjerenja razlikuju za oko 2%.



Slika 30. Relativni intenziteti ESR signala DPPH nakon dodatka ekstrakata usitnjenog (KL) i neusitnjenog (KL*) lista koprive u trenutku $t_1 = 1$ min, $t_5 = 5$ min i $t_{30} = 30$ min.

Prikazani rezultati u ovome istraživanju jasno ukazuju na međusobne razlike antioksidacijske aktivnosti svih pojedinih uzoraka i raspon od najjače deaktivacije broja DPPH radikala koji je pokazao ekstrakt lista trave ive, dok je najmanji pad intenziteta početnog signala (I_0) zabilježen kod ekstrakta neusitnjenog korijena koprive. Isto tako, vidljive su razlike među ispitivanim uzorcima korijenja, kao i lišća te da postoji različitost antioksidacijskog djelovanja korijena i lista iste biljke – koprive, ali i da veličina čestica utječe na isto.

5. RASPRAVA

Ovim istraživanjem, koristeći metodu redukcije DPPH radikala spektroskopskim mjerenjem elektronske paramagnetske rezonancije, nastojalo se ispitati, utvrditi i usporediti antioksidacijsku aktivnost ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja. Ispitan je antioksidacijski učinak najtradicionalnijeg oblika primjene ljekovitog bilja – biljnog napitka („čaja“) s obzirom na upotrijebljeni dio biljke, ali i utjecaj veličine čestica na isto. Također, poštovana je tradicionalna priprava napitka, a za svaki uzorak tijekom ESR mjerenja ponovljen je potpuno jednak način priređivanja otopine u koju je dodana optimalna koncentracija ekstrakta svake pojedine biljke od 10% kako bi se postigla mogućnost lake i ekvivalentne usporedbe.

Postoje zapisi kako se već stotinama godina navedeno pojedino ljekovito bilje koristi za prevenciju i liječenje od raznih akutnih i kroničnih bolesti te da uistinu, konzumiranjem, dolazi do ozdravljenja i poboljšanja općeg stanja organizma. Isto tako, i danas ljudi diljem svijeta koriste ljekovito bilje i njegove pripravke te se sve više promovira uporaba pozitivnih, prirodnih i ljekovitih svojstava istih. Prema tome, vrlo je važno znanstveno utvrditi i dokazati utjecaj jedinstvenih bioloških aktivnih tvari ljekovitog bilja, ali i općenito hrane, budući da ono što unosimo u organizam utječe na cjelokupno fizičko i psihičko zdravlje, a tako i na ljudski život. Iz spomenutih razloga znanstveno-istraživačka zajednica ustrajno radi na ispitivanju, utvrđivanju i analiziranju sastava ljekovitog bilja da bi se pravilno i promišljeno primjenjivali, ali i očuvali darovi prirode. Temelj teme ovog istraživanja je, upravo zbog svega navedenog, antioksidacijska aktivnost ljekovitog bilja i usporedba dobivenih rezultata s drugim objavljenim saznanjima.

5. 1. Usporedba antioksidacijske aktivnosti ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja

Svi ispitivani uzorci imaju antioksidacijsku aktivnost, budući da ESR mjerenja svih uzoraka pokazuju pad intenziteta početnog signala (I_0), odnosno sposobnost ekstrakata u deaktiviranju DPPH radikala. Na slikama 19 i 20 jasno je vidljivo kako u ovom istraživanju ekstrakt trave ive ima najjača antioksidacijska svojstva jer njen uzorak pokazuje najveći gubitak intenziteta ESR signala, dovodeći ga zapravo u područje ispod granica detekcije. Najslabiji antioksidacijski učinak ima korijen maslačka, budući da je najmanje snizio vrijednost početnog signala I_0 . Slika 20 prikazuje intenzitete signala u trenucima nakon prve, pete i tridesete minute tako da su vrlo jasne razlike najjače i najslabije antioksidacijske aktivnosti. Prema rezultatima, počevši od najjačeg, poredak ekstrakata odabranih vrsta ljekovitog bilja u odnosu na antioksidacijsku aktivnost glasi: IL, PL, STL, CK, KL, SIL KK, EK, MK.

5. 2. Usporedba antioksidacijske aktivnosti ekstrakata korijenja ljekovitog bilja

Među ispitivanim ekstraktima korijenja ljekovitog bilja, kao ekstrakt s najjačom antioksidacijskom aktivnošću pokazao se korijen čička (slika 21,22) koji bi se mogao uvrstiti među jače izvore antioksidansa u ovom istraživanju, one koji su za otprilike 30 i više posto smanjili broj DPPH radikala tijekom 30 minuta. Zanimljivo je kako nakon prve minute ekstrakt korijena maslačka nije imao najslabiji učinak inhibicije DPPH radikala, ali je, u konačnici, najslabije snizio intenzitet početnog signala (I_0). Ekstrakti korijenja encijana i koprive se mogu uvrstiti među slabije izvore antioksidansa u ovom istraživanju, budući da su, tijekom 30 minuta, broj DPPH radikala snizili za manje od 20%. (slika 22).

5. 3. Usporedba antioksidacijske aktivnosti ekstrakata lišća ljekovitog bilja

Na slikama 23 i 24 se jasno može vidjeti kako među ispitivanim ekstraktima lišća ljekovitog bilja, očitu najjaču antioksidacijsku aktivnost ima ekstrakt lista trave ive čiji se intenzitet uzorka potpuno izgubio do granice detekcije samog instrumenta, dok je najslabiji antioksidacijski učinak, čak i nakon prve minute mjerenja (slika 24), pokazao ekstrakt lista sikavice. Ekstrakti lišća pelina i stolisnika se mogu uvrstiti među jače izvore antioksidansa u ovom istraživanju, budući da su, tijekom 30 minuta, broj DPPH radikala smanjili za više od 30% (slika 24).

5. 4. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata korijena i lista iste biljke – koprive

Na slikama 25 i 26 se jasno vidi razlika antioksidacijske aktivnosti različitih korištenih dijelova iste biljke za pripravu biljnog napitka. Ekstrakt lista koprive je više snizio broj DPPH radikala i time pokazao jaču antioksidacijsku aktivnost, dok je ekstrakt korijena koprive pokazao manju antioksidacijsku moć u smanjenju početnog intenziteta signala nakon 30 minuta mjerenja.

5. 5. Antioksidacijska aktivnost ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog korijena i lista koprive

U oba slučaja ispitivanja razlike usitnjenog i neusitnjenog, kako korijena, tako i lista koprive, bolju antioksidacijsku aktivnost pokazali su usitnjeni ekstrakti (slika 27,28,29,30). Zanimljivo je kako su uzorci ekstrakata usitnjenog i neusitnjenog lista koprive pokazali sličnu

inhibitornu sposobnost uklanjanja DPPH radikala, i u svim trenucima, nakon prve, pete i tridesete minute razlikuju se za oko 2% (slika 30).

5. 6. Utjecaj sastava i biološki aktivnih tvari odabranih vrsta ljekovitog bilja na antioksidacijsku aktivnost

Ekstrakt lista trave ive pokazao je najveću inhibitornu sposobnost deaktiviranja DPPH radikala, budući da se intenzitet uzorka potpuno izgubio, do granice detekcije samog instrumenta. Navedeno se može pripisati sadržaju flavonoida (apigenin, cirsiolol, cirsimaritin, luteolin), flavonoidnih glikozida (glikozid luteolina), kao i fenolnim kiselinama [5,21,45,54], a za pretpostaviti je da selen također utječe na antioksidacijski učinak, budući da je on, prema američkoj Agenciji za hranu i lijekove, jedan od četiri najznačajnija antioksidansa [11,53]. U istraživanju Mitreskog i suradnika [54] otkrivene su dvije nove hidroksicimetne kiseline, kao i šest feniletanoidnih glikozida koji najvjerojatnije pridonose značajnoj antioksidacijskoj aktivnosti. Rezultati Stankovića i suradnika [55], koji su ispitivali antioksidacijsku aktivnost upravo pomoću metode DPPH radikala *in vitro*, ukazuju na to da je trava iva vrijedan izvor fenolnih spojeva, odnosno prirodnih antioksidansa.

Ekstrakt lista pelina je početni intenzitet ESR signala smanjio za iznimnih 74%. To se zasigurno može pripisati flavonoidima (artemizitin, katehin), flavonoidnim glikozidima (glikozidi kvercetina i kemferola) te fenolnim kiselinama (kavena i galna) [3,4,5,21,36]. Ali i suradnici u svom radu [39] navode kako pelin, pri određenoj koncentraciji sadržaja fenola i flavonoida *in vitro*, posjeduje antioksidacijsku aktivnost koja štiti DNA od oksidacijskog oštećenja izazvanog vodikovim peroksidom.

Stolisnik se također može uvrstiti među jače antioksidacijske izvore u ovom radu, budući da u svome sastavu sadrži razne flavonoide (apigenin, kvercetin, luteolin, patuletin, rutin), flavonoidne glikozide (glikozide apigenina, hiperozida, izokvercitrina, kvercitrina, luteolina i rutina), fenolne kiseline (klorogenska, kavena, p-kumarinska, valerijanska), vitamin C i karoten [3,4,5,21,45,46,47]. Grupa autora [46] je za detekciju antioksidacijske aktivnosti rabila upravo DPPH i ESR metodu. Određen je ukupan polifenolni sadržaj koji je, u njihovom istraživanju, bio izvorom jakih antioksidansa. Raudonis i suradnici [47] su također koristili DPPH metodu i dokazano je kako klorogenska kiselina, rutin, luteolin i glikozid luteolina izuzetno dobro uklanjaju radikale. U svom radu Kazemi [48] ističe kako i eterična ulja doprinose radikalnom antioksidacijskom učinku, budući da zbog svog sastava imaju veću aktivnost uklanjanja slobodnih radikala i od sintetičkog antioksidansa (*Trolox*) te značajno inhibiraju proizvodnju dušikovog oksida u makrofazima, aktiviranim lipopolisaharidom *in vitro*. Ahmadi-Dastgerdi i suradnici [49], koji su isto koristili DPPH metodu ispitivanja, ističu kako su eterična ulja snažni antioksidansi.

Ekstrakt korijena, koji je najviše smanjio početni signal I_0 , je ekstrakt korijena čička koji sadrži značajne aktivne tvari kao što su vitamini C i E, fenolne kiseline (klorogenska, kavena), flavonoide (kvercetin, kvercitrin, luteolin) i sinarin (diester kavene i kininske kiseline) [5,21,22]. Chen i suradnici [24] navode kako su najvažniji antioksidansi čička vitamini C i E, kao i fenolne kiseline koje možemo naći u kori korijena u obliku klorogenske i kavene kiseline te različiti flavonoidi. Također su dokazali kako klorogenska kiselina ima veću sposobnost uklanjanja radikala od vitamina E te da guljenje korijena uvelike smanjuje antioksidacijski učinak.

Antioksidacijski učinak ekstrakta lista sikavice se može pripisati sadržaju flavonoida, flavonoidnih glikozida te klorogenskoj i kavenoj kiselini [3,4,41]. Lucini i suradnici [41] smatraju da različite sorte sikavice sadrže različitu količinu i vrstu polifenolnih komponenti pa

samim time i različite antioksidacijske aktivnosti te utjecaj na oksidacijski stres organizma. Većina istraživanja [40,42,43,44] provela se nad ekstraktom ploda sikavice koji je pokazao izrazitu inhibitornu sposobnost uklanjanja radikala zbog svog ukupnog polifenolnog sastava.

Može se reći kako je ekstrakt korijena encijana slab izvor antioksidansa u ovom istraživanju. Slaba, ali prisutna antioksidacijska sposobnost može se najvjerojatnije pripisati fenolnim spojevima (mangiferin, genticein, genticin, izogenticin, trimetoksikanton) [21,26,27], dok je prema Nastasijeviću i suradnicima [28] genciopikrin, gorki glikozid encijana, pokazao jaku inhibitornu sposobnost nad mijeloperoksidazom, enzimom koji stvara različite slobodne radikale oksidirajući pri tome proteine, lipide i antioksidacijske sastavnice LDL-a [29].

U ovom istraživanju najslabiji antioksidacijski učinak ima ekstrakt korijena maslačka, budući da je najmanje smanjio vrijednost početnog signala I_0 i to za samo 18,3%. To je iznenađenje, budući da Kenny i suradnici [34] ističu kako korijen maslačka, zbog derivata klorogenske kiseline, ima jaču antioksidacijsku aktivnost i od sintetičkog antioksidansa (*Trolox*). Pretpostavlja se da najmanji, ali prisutan antioksidacijski učinak, ekstrakt korijena maslačka ima zbog flavonoidnih glikozida, klorogenske i kavene kiseline, vitamina C, ali i prisutnih karotenoida [3,4,5,33]. Budući da antioksidacijsko djelovanje ovisi o mnogim čimbenicima, navedeno se najvjerojatnije može pripisati drugačijem vremenu branja i sastavu tla.

Ekstrakt lista koprive pokazao je jača antioksidacijska svojstva od ekstrakta korijena koprive, a može se pretpostaviti da je za koprivin antioksidacijski učinak odgovoran sadržaj vitamina C i A, flavonoida (kvercetin, izokvercitrin, astragalin, rutin, kamferol, izorhamnetin), fenolnih kiselina (kavenoil-malatna, klorogenska, ferulinska kiselina) i karotenoida u lišću [4,5,31]. Ioana i suradnici [31] ističu kako flavonoidi (izokvercitrin, astragalin, rutin itd.) i fenolne kiseline (kavenoil-malatna, klorogenska, ferulinska kiselina) imaju antioksidacijski

učinak, a grupa autora [32] dokazala je da se ekstrakt koprive, zbog njegovog antioksidacijskog djelovanja, može primijeniti i u kozmetičkoj industriji, budući da flavonoid kvercetin i drugi polifenolni sastojci inhibiraju enzime kolagenazu i elastazu te tako potencijalno djeluju protiv starenja.

6. ZAKLJUČAK

Razrađena tema i obrada dobivenih rezultata u ovom istraživanju pokazuju kako su ljekovite biljke, odnosno pripravci biljnih napitaka, dobar izvor antioksidansa koji preveniraju nastanak bolesti i starenje. Svi uzorci imaju veću ili manju antioksidacijsku aktivnost, a među različitim vrstama ljekovitog bilja postoje razlike u rasponu rezultata.

Ekstrakt lista trave ive pokazao je najjača antioksidacijska svojstva jer njen uzorak pokazuje najveći gubitak intenziteta ESR signala, dovodeći ga zapravo u područje ispod granica detekcije samog instrumenta. Najslabiji antioksidacijski učinak ima ekstrakt korijena maslačka, budući da je najmanje snizio broj DPPH radikala. Može se zaključiti kako ekstrakti lišća imaju puno bolju inhibitornu sposobnost uklanjanja DPPH radikala, tj. puno su bolji izvori antioksidansa. Izdvajaju se ekstrakt korijena čička koji je početni signal I_0 smanjio za otprilike 30%, dok ekstrakt lista sikavice spada u slabije izvore antioksidansa među ispitivanim uzorcima ekstrakata lišća.

Isto tako, može se zaključiti kako korijen i list koprive imaju različit sastav i udio aktivnih tvari, budući da su pokazali razliku u odnosu na antioksidacijsku aktivnost te da različiti dijelovi biljke imaju različita antioksidacijska svojstva.

Na antioksidacijsku aktivnost utječe i veličina čestica jer manje čestice biljnog napitka, odnosno veća površina istih bolje ekstrahira biološke aktivne tvari iz ljekovitog bilja koje onda jače utječu na antioksidacijska svojstva uklanjanja DPPH radikala.

DPPH metoda koja je spektroskopski mjerena elektronskom spinskom rezonancijom, pokazala se dobrom, preciznom i uspješnom metodom za mjerenje antioksidacijske aktivnosti ljekovitog bilja.

Također, treba naglasiti kako *in vivo* i *in vitro* ispitivanja pokazuju različite rezultate antioksidacijske aktivnosti ljekovitog bilja, a sve u korelaciji s ostalim objavljenim istraživanjima.

7. LITERATURA

1. Vezilić, M. „Osnovne informacije o pravilnoj prehrani.“ *Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije*. Dostupno na <http://www.zzjzdnz.hr/hr/zdravlje/hrana-i-zdravlje/300>. Pristupljeno 12. 06. 2017.
2. Boucher, C. *Curing Everyday Ailments the Natural Way*. New York: Reader's Digest, 2002.
3. Toplak Galle, K. *Hrvatsko ljekovito bilje*. Zagreb: Mozaik knjiga, 2001.
4. Opletal, Lj., Volàk, J. *Bilje za zdravlje*. Varaždin: Stanek d.o.o., 2001.
5. Grusky, Z. *Zlatna knjiga ljekovitog bilja*, peto izmijenjeno i dopunjeno izdanje. Zagreb: Nakladni zavod Matice hrvatske, 1999.
6. „Tekući oblici.“ *Plantagea*. Dostupno na <http://www.plantagea.hr/fitoterapija1/farmaceutski-ljekoviti-oblici-biljaka-2/tekuci-oblici/>. Pristupljeno 12. 06. 2017.
7. „Vodeni ekstrakti.“ *Plantagea*. Dostupno na <http://www.plantagea.hr/fitoterapija1/biljni-ekstrakti-2/ekstrakti-iscrpine-biljaka/vodeni-ekstrakti/>. Pristupljeno 12. 06. 2017.
8. Reuben, C. *Antioksidansi – Cjeloviti vodič*. Zagreb: Logotip, 1998.
9. Carper, J. *Hrana – čudesni lijek*. Rijeka: Leo-commerce d.o.o., 2000.
10. Bradamante, V., Granić, P., Klepac, R., Kovač, Z., Lacković, Z., Lovrić, J., Medić-Šarić, M., Šošić, Z., Žarković, N. et al. *Oksidativni stres i djelotvornost antioksidansa*. Zagreb: Medicinska naklada, 2002.
11. Medić-Šarić, M., Buhač, I., Bradamante, V. *Vitamini i minerali: istine i predrasude*. Zagreb: 4000, 2000.
12. Black, D. *Taming Oxygen's Wild Side: How Antioxidants Guard Our Health*. Springville, UT: Tapestry Press, 1998. – „Pripisano francuskom znanstveniku Paulu Bertu, 1874. god.“
13. Pine, SH. *Organska kemija*. Zagreb: Školska knjiga, 1994.
14. dos Santos, AB, Silva, DHS, Bolzani, VD, Santos, LA, Schmidt, TM, Baffa, O. „Antioxidant Properties of Plant Extracts: an EPR and DFT Comparative Study of the Reaction with DPPH, TEMPOL and Spin Trap DMPO.“ *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2009;20(8):1483-1492.
15. Hartman, PE, Shankel, DM. „Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules.“ *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1990;15(3):145-182.
16. „Fitokemikalije u zaštiti zdravlja.“ *Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu*. Dostupno na http://www.pbf.unizg.hr/zavodi/zavod_za_poznavanje_i_kontrolu_sirovina_i_prehrambenih_proizvoda/laboratorij_za_znanost_o_prehrani/fitokemikalije_u_zastiti_zdravlja. Pristupljeno 18. 06. 2017.

17. Rogić, R. *Antioksidacijska svojstva nekih biljnih svojti s područja Blidinja (Bosna i Hercegovina) – diplomski rad*. Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2014.
18. Ribera, AE, Zuniga, G. „Induced plant secondary metabolites for phytopatogenic fungi control: a review.“ *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2012;12(4):893-911.
19. Kazazić, SP. „Antioksidacijska i antiradikalna aktivnost flavonoida.“ *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 2004;55(4):279-290.
20. Lovrić, M. *Udio flavonoida u ekstraktima lista rogača (Ceratonia siliqua L.): utjecaj lokaliteta i spola biljke – diplomski rad*. Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2015.
21. Zovkić, I. *Naše ljekovito bilje i fitoterapija*. Đakovo: Karitativni fond UPT „Ne živi čovjek samo o kruhu“, 1999.
22. Ferracane, R., Graziani, G., Gallo, M., Fogliano, V., Ritieni, A. „Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves.“ *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2010;51(2):399-404.
23. Bremness, L. *Sve o ljekovitim i začinskim biljkama*. Zagreb: Mozaik knjiga, 2009.
24. Chen, FA, Wu, AB, Chen, CY. „The influence of different treatments on the free radical scavenging activity of burdock and variations of its active components.“ *Food Chemistry*. 2004;86(4):479-484.
25. Lesinger, I. *Kućna biljna ljekarna (Kam – Met)*. Rijeka: Adamić, 2006.
26. Lambert Ortiz, E. *Enciklopedija bilja, mirodija i začina: Cjelovit i praktičan vodič za kuhare*. Zagreb: Knjiga trgovina, 1998.
27. Atkinson, J.E., Gupta, P., Lewis, J. R. „Some phenolic constituents of *Gentiana lutea*.“ *Tetrahedron*. 1969;25(7):1507-1511.
28. Nastasijević, B., Lazarević-Pasti, T., Dimitrijević-Branković, S., Pasti, I., Vujačić, A., Joksić, G., Vasić, V. „Inhibition of myeloperoxidase and antioxidative activity of *Gentiana lutea* extracts.“ *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2012;7(11):1487-1490.
29. Vučinić, B., Radovanović, D., Čanović, D., Spasić, M., Pavlović, M., Milošević, B. et al. „Predictive significance of myeloperoxidase for the occurrence of postoperative vascular complications.“ *Medicinski časopis*. 2016; 50(1):17-25.
30. Balijagić, J., Janković, T., Zdunić, G., Bosković, J., Savikin, K., Godevac, D. et al. „Chemical Profile, Radical Scavenging and Cytotoxic Activity of Yellow Gentian Leaves (*Gentianeae luteae folium*) Grown in Northern Regions of Montenegro.“ *Natural Product Communications*. 2012;7(11):1487-1490.

31. Ioana, N., Viorica, I., Diana-Carolina, I., Valeria, R. „Preliminary research regarding the therapeutic uses of *Urtica dioica* L. Note II. The dynamics of accumulation of total phenolic compounds and ascorbic acid.“ *Farmacia*. 2013;61(2):276-283.
32. Bourgeois, C., Leclerc, ÉA, Corbin, C., Doussot, J., Serrano, V., Vanier, JR et al. „Nettle (*Urtica dioica* L.) as a source of antioxidant and anti-aging phytochemicals for cosmetic applications.“ *Comptes Rendus Chimie*. 2016;19(9):1090-1100.
33. Schutz, K., Kammerer, DR, Carle, R., Schieber, A. „Characterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herb by high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry.“ *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2005;19(2):179-186.
34. Kenny, O., Smyth, TJ, Hewage, CM, Brunton, NP. „Quantitative UPLC-MS/MS analysis of chlorogenic acid derivatives in antioxidant fractionates from dandelion (*Taraxacum officinale*) root.“ *International Journal of Food Science & Technology*. 2015;50(3):766-773.
35. Bremness, L. *Sve o bilju*. Zagreb: Mozaik knjiga, 1995.
36. Ali, M., Abbasi, BH, Ihsan-ul-Haq. „Production of commercially important secondary metabolites and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L.“ *Industrial Crops and Products*. 2013;49:400-406.
37. Lesinger, I. *Kućna biljna ljekarna (Mrk –Slj)*. Rijeka: Adamić, 2006.
38. Hasannezhad, S., Sani, AM, Yaghooti, F. „Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil and Methanolic Extract of *Artemisia absinthium* L. Aerial Part on Typical Food-borne Pathogens.“ *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2016;19(5):1066-1074.
39. Ali, A., Khalil-ur-Rahman, Jahan, N., Jamil, A., Rashid, A., Shah, SMA. „Protection of DNA during oxidative stress and cytotoxic potential of *Artemisia absinthium*.“ *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;29(Suppl. 1):295-299.
40. Mhamdi, B., Abbassi, F., Smaoui, A., Abdelly, C., Marzouk, B. „Fatty acids, essential oil and phenolics composition of *Silybum marianum* seeds and their antioxidant activities.“ *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;29(3):953-959.
41. Lucini, L., Kane, D., Pellizzoni, M., Ferrari, A., Trevisi, E., Ruzickova, G., Arslan, D. „Phenolic profile and *in vitro* antioxidant power of different milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] cultivars.“ *Industrial Crops and Products*. 2016;83:11-16.
42. Pereira, C., Barros, L., Carvalho, AM, Santos-Buelga, C., Ferreira, ICFR. „Infusions of artichoke and milk thistle represent a good source of phenolic acids and flavonoids.“ *Food & Function*. 2015;6(1):56-62.
43. Svobodova, A., Zdarilova, A., Walterova, D., Vostalova, J. „Flavonolignans from *Silybum marianum* moderate UVA-induced oxidative damage to HaCaT keratinocytes.“ *Journal of Dermatological Science*. 2007;48(3):213-224.

44. Fu, HY, Lin, MZ, Muroya, Y., Hata, K., Katsumura, Y., Yokoya, A. et al. „Free radical scavenging reactions and antioxidant activities of silybin: Mechanistic aspects and pulse radiolytic studies.“ *Free Radical Research*. 2009;43(9):887-897.
45. Lesinger, I. *Kućna biljna ljekarna (Smi – Ž)*. Rijeka: Adamić, 2012.
46. Benedec, D., Popica, IE, Oniga, I., Hanganu, D., Duma, M., Silaghi-Dumitrescu, R. et al. „Comparative HPLC-MS analysis of phenolics from *Achillea distans* and *Achillea millefolium* and their bioactivity.“ *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia*. 2015;60(4):257-266.
47. Raudonis, R., Jakstas, V., Burdulis, D., Benetis, R., Janulis, V. „Investigation of contribution of individual constituents to antioxidant activity in herbal drugs using postcolumn HPLC method.“ 2009;45(5):382-394.
48. Kazemi, M. „Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium* L., *Anethum graveolens* L., and *Carum copticum* L. essential oils.“ *Journal of Herbal Medicine*. 2015;5(4):217-222.
49. Ahmadi-Dastgerdi, A., Ezzatpanah, H., Asgary, S., Dokhani, S., Rahimi, E. „Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Flowers and Leaves of *Achillea millefolium* subsp *millefolium*.“ *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2017;20(2):395-409.
50. Düsman, E., de Almeida, IV, Coelho, AC, Balbi, TJ, Düsman Tonin, LT, Vicentini, VEP. „Antimutagenic Effect of Medicinal Plants *Achillea millefolium* and *Bauhinia forficata* In Vivo.“ *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:893050.
51. Vukovic, N., Milosevic, T., Sukdolak, S., Solujic, S. „The chemical composition of the essential oil and the antibacterial activities of the essential oil and methanol extract of *Teucrium montanum*.“ *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2008;73(3):299-305.
52. Vukovic, N., Milosevic, T., Sukdolak, S., Solujic, S. „Antimicrobial Activities of Essential Oil and Methanol Extract of *Teucrium montanum*.“ *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2007;4(Suppl. 1):17-20.
53. Jurisic, R., Vladimir-Knezevic, S., Kalodera, Z., Grgic, J. „Determination of selenium in *Teucrium* species by hydride generation atomic absorption spectrometry.“ *Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences*. 2003;58(1-2):143-145.
54. Mitreski, I., Stanoeva, JP, Stefova, M., Stefkov, G., Kulevanova, S. „Polyphenols in Representative *Teucrium* Species in the Flora of R. Macedonia: LC/DAD/ESI-MSn Profile and Content.“ *Natural Product Communications*. 2014;9(2):175-180.
55. Stankovic, MS, Niciforovic, N., Topuzovic, M., Solujic, S. „Total Phenolic Content, Flavonoid Concentrations and Antioxidant Activity, of The Whole Plant and Plant Parts Extracts from *Teucrium Montanum* L. Var. *Montanum* , F. *Supinum* (L.) Reichenb.“ *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2011;25(1):2222-2227.

56. Stankovic, MS, Mitrovic, TLj, Matic, IZ, Topuzovic, MD, Stamenkovic, SM. „New Values of Teucrium species: in Vitro Study of Cytotoxic Activities of Secondary Metabolites.“ *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2015;43(1):41-46.
57. Kedare, SB, Singh, RP. „Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay.“ *Journal of Food Science and Technology – Mysore*. 2011;48(4):412-422.
58. Dikalov, S., Griending, KK, Harrison, DG. „Measurement of Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Studies.“ *Hypertension*. 2007;49(4):717–727.

ŽIVOTOPIS

OSOBNJE INFORMACIJE

Ilijanić Valentina



Bujska 26, 51000 Rijeka (Hrvatska)

051 631 831 095 878 3544

valentina.ilijanic@gmail.com

Spol Žensko | Datum rođenja 06.07.1995. | Državljanstvo hrvatsko

OBRAZOVANJE I
OSPOSOBLJAVANJE

06.10.2014.-danas

Preddiplomski sveučilišni studij Sanitarnog inženjerstva

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka (Hrvatska)

06.09.2010.-16.05.2014.

SSS – Klasična gimnazija

Salezijanska klasična gimnazija s pravom javnosti Rijeka, Rijeka (Hrvatska)

10.09.2001.-18.06.2010.

Osnovna škola

07.01.2002.-18.06.2010. Osnovna škola Kantrida, Rijeka (Hrvatska)
10.09.2001.-21.12.2001. Osnovna škola Srdoči, Rijeka (Hrvatska)

OSOBNJE VJEŠTINE

Materinski jezik hrvatski

Ostali jezici

engleski

RAZUMIJEVANJE		GOVOR		PISANJE
Slušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
B2	B2	B1	B1	B2

Komunikacijske vještine

- komunikativna, ljubazna, nasmiješena i iskrena osoba

Poslovne vještine

- želja za učenjem i napretkom
- trudim se kvalitetno izvršiti zadane zadatke
- odgovorna i odlučna u donošenju odluka i izvršavanju postupaka
- poštena osoba

Digitalna kompetencija	SAMOPROCJENA				
	Obrada informacija	Komunikacija	Stvaranje sadržaja	Sigurnost	Rješavanje problema
	Iskusni korisnik	Iskusni korisnik	Samostalni korisnik	Iskusni korisnik	Iskusni korisnik

Vozačka dozvola

AM, B1, B

DODATNE INFORMACIJE

Certifikati

Međunarodno ECCL natjecanje – Europski certifikat iz poznavanja latinskog jezika i rimske kulture (srebro)