Odabrane biljne droge porodice Apiaceae

Mihić, Lara

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:247641

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Lara Mihić

Odabrane biljne droge porodice Apiaceae

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Maje Bival Štefan.

Hvala od srca mentorici, doc. dr. sc. Maji Bival Štefan, na stručnom vodstvu i pruženoj pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala mojim prijateljima što su uvijek nesebično prihvaćali zadatak da svaku moju boljku naprave manjom, a svako moje veselje još većim.

Hvala bratu što je uvijek bio tu za mene, to je pravo bogatstvo.

I na kraju, hvala mami i tati jer znam da kamo god da pođem, njihova me ljubav i podrška uvijek prati. Za to im nikada ne ću moći dovoljno zahvaliti.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Porodica štitarke (Apiaceae, Umbelliferae) 2
1.2. Anisi fructus – plod anisa 3
1.3. Foeniculi fructus – plod komorača 4
1.4. Carvi frutus – plod kima 5
1.5. Coriandri frutus – plod korijandra 6
1.6. Eterična ulja 7
2. OBRAZLOŽENJE TEME 8
3. MATERIJALI I METODE 10
3.1. Materijali 11
3.1.1. Biljni materijal 11
3.1.2. Instrumenti i pribor 11
3.1.3. Reagensi, standardi i ostale kemikalije 11
3.2. Analiza biljnih droga metodom tankoslojne kromatografije 12
3.3. Određivanje sadržaja eteričnog ulja 14
3.4. Analiza eteričnog ulja metodom tankoslojne kromatografije 15
4. REZULTATI I RASPRAVA 17
4.1. Anisi fructus – plod anisa 18
4.1.1. Prikaz rezultata 18
4.1.2 Pregled istraživanja 20
4.2. Foeniculi fructus – plod komorača 24
4.2.1. Prikaz rezultata 24
4.2.2. Pregled istraživanja 26
4.3. Carvi fructus – plod kima 29
4.3.1. Prikaz rezultata 29
4.3.2. Pregled istraživanja 31
4.4. Coriandri fructus – plod korijandra 34
4.4.1. Prikaz rezultata 34
4.4.2 Pregled istraživanja 35
5. ZAKLJUČAK 39
6. LITERATURA 41
7. SAŽETAK/ SUMMARY 50
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

1.1. Porodica štitarke (Apiaceae, Umbelliferae)

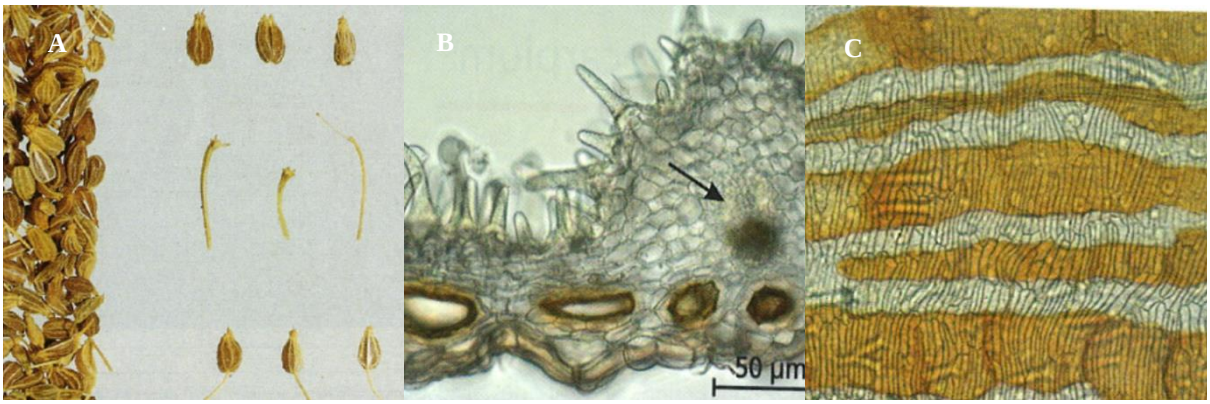
Porodica Apiaceae obuhvaća oko 160 vrsta u Hrvatskoj. Većinom su to zeljaste biljke, sa stabljikom na kojoj razlikujemo čvorove i šuplje članke, te karakterističnim štitastim cvatovima, po čemu su i dobile ime. Cvjetovi su maleni, većinom bijele boje a tek rjeđe ružičasti ili žuti. Listovi su gotovo uvijek razdijeljeni te obuhvaćaju stabljiku rukavcem. Plod im je suhi kalavac koji se na kraju raspada uzduž šavova u dva jednosjemena plodića. Građa ploda je karakteristična i važna za sistematsku podjelu porodice. U usplođu svakog plodića nalazi se 5 provodnih snopića a iznad njih se ističu glavna rebra (2 postrana i 3 leđna). Između njih se nalaze udubljenja u kojima se nalaze shizogeni sekretorni kanali (uljni kanali). Zbog znatnih količina eteričnih ulja štitarke su poznate ljekovite biljke koje se često koriste i kao začini (Ehrendorfer, 1978). Od ljekovitih i jestivih biljaka ovamo pripadaju angelika, anis, celer, jelenčica, kim, komorač, korijandar, krasuljica, ljupča, mrkva, pastinak i peršin. Otrovne biljke te porodice su kukuta, trubeljika, divlji peršin i druge (Živković, 1997).



Slika 1. Shema cvijeta i ploda porodice Apiaceae: A cvjetni dijagram, D cvijet, B-C, E-F izdanak, štitac i plod, G-H kalavac (Ehrendorfer, 1978)

1.2. Anisi fructus – plod anisa

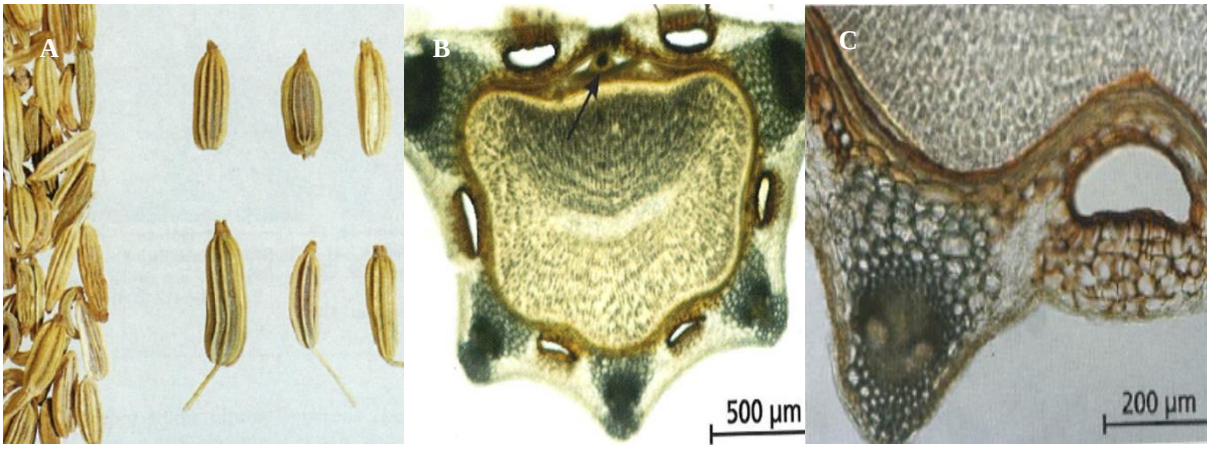
Anisi fructus (plod anisa) je osušeni suhi plod vrste *Pimpinella anisum* L. (Apiaceae), jednogodišnje biljke, kultivirane u mnogim zemljama, a osobito u Španjolskoj, južnoj Rusiji i Bugarskoj (www.henriettes-herb.com). Plodovi su jajolikog i duguljastog oblika te prileglo dlakavi. Plod je kalavac (shizokarp), dug 3-5 mm, kruškastog oblika, pri vrhu malo sužen, žućkastozelen ili zelenkastosiv. Svaki merikarp ima pet slabo istaknutih rebara. Plod anisa vrlo je aromatična mirisa i slatkasto aromatična okusa. Poprečni presjek od sredine svakog merikarpa razlikuje se od većine ostalih plodova biljaka porodice Apiaceae u tome što sadrži puno više (30 do 40) žlijezda s eteričnim uljem. Glavne sastavnice droge su eterično ulje (1,5 do 3,5%), dok su ostale sastavnice masno ulje, šećeri i sluz. Aktivnost ploda anisa ovisi o sadržaju i sastavu eteričnog koje sadrži. Glavna sastavnica eteričnog ulja je *trans*-anetol (80-90%) dok su ostale sastavnice anisaldehid, anisketon, aniseva kiselina, p-metoksiacetofenon, α-terpineol i D-limonen (Kuštrak, 2005). Pokazuje sekretolitičko, spazmolitičko i karminativno djelovanje (https://www.henriettes-herb.com), dok u visokim dozama djeluje kao antispazmodik, antiseptik i antimikotik. U narodnoj se medicini koristi kao emenagog, laktogog i afrodizijak (Wichtl, 2004).



Slika 2. **A** Makroskopski prikaz droge Anisi fructus; **B** Mikroskopski prikaz prereza droge Anisi fructus; **C** Mikroskopski prikaz kanalića s eteričnim uljem (Rahfeld, 2009)

1.3. Foeniculi fructus – plod komorača

Foeniculi fructus (plod komorača) je plod vrste *Feoniculum vulgare* Mill., Apiaceae koja ima dvije podvrste: *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare* i *Foeniculum vulgare* Mill. subsp. *vulgare* var. *dulce* (Mill.) Batt. & Trab. Raste samoniklo na području južne Europe, sjeverne Afrike i južne Amerike. Plod komorača je kalavac koji se raspada na dva merikarpa. Dug je 5-11 mm, a širok 2-4 mm, zelenkast ili žutiosmeđ, s jako istaknutim svijetlim rebrima i tamnijim dolinicama u kojima se nalazi po jedan shizogeni kanal s eteričnim uljem, a na komisuri su po dva kanala. Plod slatkog komorača je duži i na komisuri širi, žućkaste boje. Plod komorača sadrži eterično ulje, masno ulje, proteine, flavonoide i kumarine. Eterično ulje slatkog komorača sadrži 80-90% *trans*-anetola; 4,2-5,4% limonena; 0,4-0,8% α- pinena te manje od 1% (+)-fenhona. Od drugih sastavnica eterično ulje komorača sadrži: metilkavikol, anisaldehid, fenikulin, terpineol i različite terpenske ugljikovodike u manjim količinam (Kuštrak, 2005). Eterično ulje gorkog komorača u usporedbi sa slatkim ima manji sadržaj anetola i veći udio fenhona (barem 15%). Komoračev je plod ekspektorans, spazmolitik i karminativ. Sastavnica je mnogih medicinskih čajeva. Posebno je cijenjen u dječjoj praksi za ublažavanje grčeva u dojenčadi i kao sekretolitički ekspektorans. U pučkoj je medicini poznat kao emenagog, a dojilje ga znaju koristiti kao laktogog (poboljšava lučenje mlijeka). Komoračevo eterično ulje kod dispeptičkih tegoba djeluje spazmolitički, ublažava grčeve u probavnom traktu, nadutost crijeva (suzbija meteorizam), a s obzirom da djeluje bakteriostatski, dodaje se kao konzervans različtim pripravcima. Smatra se izvrsnim korigensom mirisa i okusa (Kuštrak, 2005; Wichtl, 2004).

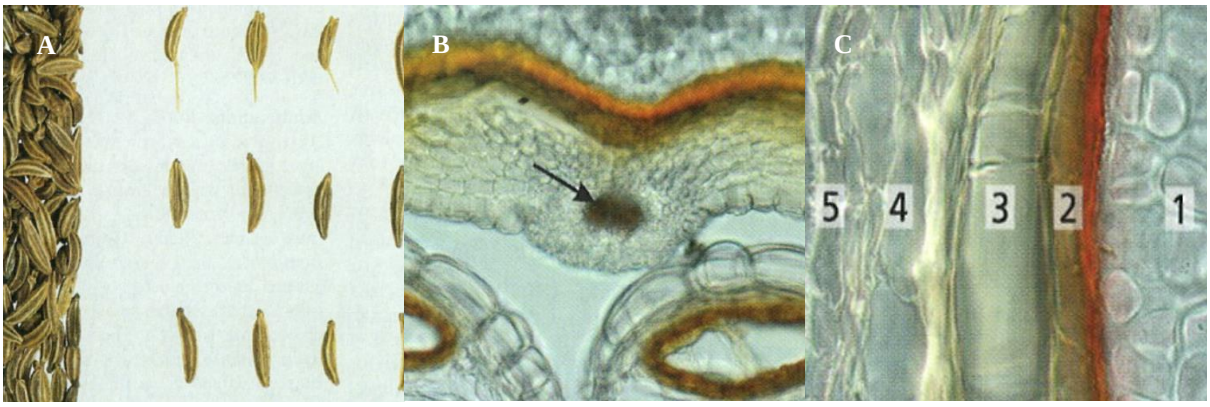


Slika 3. **A** Makroskopski prikaz droge Foeniculi fructus; **B** Mikroskopski prikaz prereza droge Foeniculi fructus; **C** Mikroskopski prikaz kanalića s eteričnim uljem (Rahfeld, 2009)

1.4. Carvi frutus – plod kima

Carvi fructus (plod kima) je plod vrste *Carum carvi* L., Apiaceae. Raste na području Europe i Azije. Plod kima duguljasto je jajolik kalavac, 3-6 mm dug, gol, na presjeku eliptičan, smeđe do sivkastosmeđe boje. Raspada se u dva merikarpa, koja na poprečnom presjeku imaju oblik pravilnog peterokuta na kojemu se vidi 5 uskih, istaknutih, žutosmeđih rebara i 4 tamnije dolinice (Kuštrak, 2005). Plod sadrži eterično ulje, masne kiseline, proteine, ugljikohidrate, te flavonoide (glikozide kvercetina i kemferola), fenolne kiseline i furanokumarine. U eteričnom ulju prevladavaju (+)-karvon i (+)-limonen. Od drugih terpena u ulju ima α-pinena, β-pinena, sabinena i kar-3-ena.

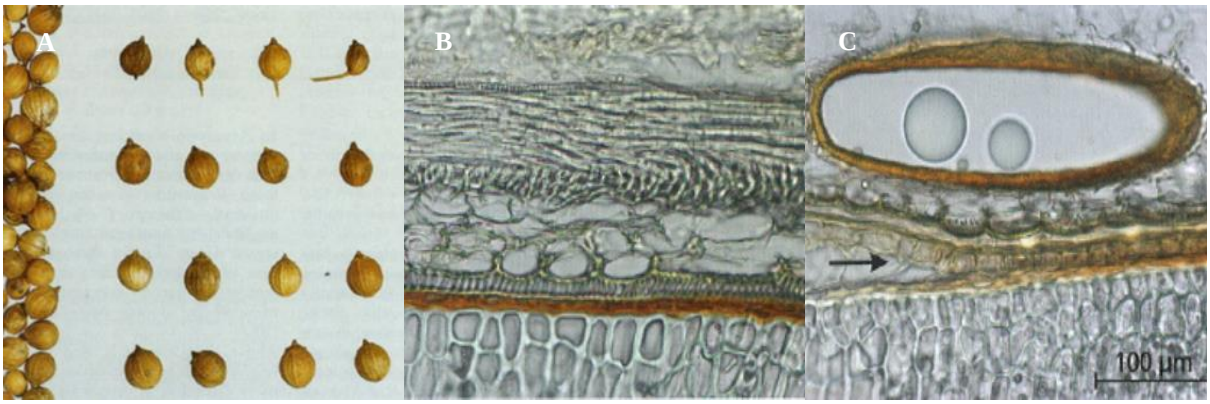
Plod kima djeluje kao karminativ, stomahik i kolagog, a pokazuje i antimikrobno djelovanje. Eterično ulje dobiveno destilacijom ploda kima vodenom parom bogato je monoterpenskim ketonom karvonom i monoterpenom limonenom (Kuštrak, 2005; Wichtl 2004).



Slika 4. **A** Makroskopski prikaz droge Carvi fructus; **B** Mikroskopski prikaz prereza droge Carvi fructus; **C** Mikroskopski prikaz prereza droge Carvi fructus (Rahfeld, 2009)

1.5. Coriandri frutus – plod korijandra

Coridandri fructus (plod korijandra) je plod vrste *Coriandrum sativum* L., Apiaceae. Kao samonikla biljka korijandar raste u istočnom dijelu Mediterana i u zapadnoj Aziji. Plod korijandra je kalavac, ali nije razdvojen; tek kada se pritisne, razdvaja se na dva merikarpa. Oblika je okrugla do ovalna, tvrd je i iznutra katkada šupalj. Ima 10 slabo istaknutih, vijugavih glavnih rebara i 10 ravnih, sporednih rebara. Sjemenka ima na poprečnom i uzdužnom presjeku oblik polumjeseca. Sadrži oko 1% eteričnog ulja, oko 20% masnog ulja, 16% proteina te male količine flavonoida, furanoizokumarina i derivata kavene kiseline. Koristi se kao stomahik, karminativ i spazmolitik. Korijandrovo eterično ulje sadrži 60-75% linalola, a od ostalih sastavnica prisutni su kamfor, γ-terpinen, geraniol i α-pinen. Eterično ulje ima baktericidno i fungicidno djelovanje (Kuštrak, 2005; Wichtl, 2004) .



Slika 5. **A** Makroskopski prikaz droge Coriandri fructus; **B** Mikroskopski prikaz prereza Coriandri fructus; **C** Mikroskopski prikaz kanalića s eteričnim uljem (Rahfeld, 2009)

1.6. Eterična ulja

Kao što je spomenuto, navedene biljne droge sadrže eterično ulje. Eterična ulja su hlapljivi i mirisni biljni produkti (sekundarni metaboliti). Smjese su velikog broja kemijski različitih sastavnica (20-200). No, uvijek je samo nekoliko sastavnica prisutno u većoj količini, a ostale su prisutne u tragovima (< 1%). Poznato je više od 3000 spojeva koje ulaze u sastav ulja. Prema skeletu ugljikovodika dijele se na terpene, fenilpropane i druge spojeve. Pripadaju različitim skupinama organskih spojeva (ugljikovodici, alkoholi, fenoli, aldehidi, ketoni, oksidi...). Eterična ulja uglavnom sadrže spojeve u slobodnom obliku, a samo neka sadrže glikozidno vezane sastavnice. Dobro su topljiva u lipofilnim otapalima, a teško se otapaju u vodi. Većina ih je lakša od vode (specifična težina 0,84-0,18). Optički su aktivna. Spremnici eteričnog ulja mogu se nalaziti ezgozgeno (na površini biljnog organa) i endogeno (unutar biljnog organa), kao što je slučaj u porodice Apiaceae. Eterično ulje smješteno je u ovih vrsta shizogeno – stvara se pukotina između 2-4 stanice koja se postepeno povećava rastom stanica te se oblikuje šupljina; najčešće su okom vidljive okruglaste tvorevine okružene epitelnim stanicama koje izlučuju eterično ulje u šupljinu.

Biološke uloga eteričnog ulja su privlačenje kukaca zbog oprašivanja, smanjenje transpiracije, odbijanje biljojeda, zaštita od fitopatogenih mikroorganizama i nametnika, inhibicija rasta (klijanja) drugih biljaka – potencijalnih natjecatelja za isti prostor. Kako su eterična ulja smjesa velikog broja različitih sastavnica koja pokazuju brojne farmakološke učinke (pr. anitmikrobno, protuupalno, spazmolitičko, analgetsko), široko se koriste u farmaciji. No, najprije ih je potrebno izolirati iz biljne droge. Metode izolacije eteričnog ulja su destilacija (hidrodestilacija - vodena, vodenoparna, parna; vakuum-destilacija), ekstrakcija (nepolarnim otapalima ili superkritičnim fluidom) i prešanje (Vladimir-Knežević, 1998).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Plodovi i eterično ulja anisa, komorača, kima i korijandra upotrebljavaju se već tisućama godina u prehrani ljudi, a nalaze i svoju široku primjenu u farmaciji. Nerijetko se koriste u pedijatrijskoj populaciji (dojenačke kolike) što zahtijeva posebnu pažnju. Stoga se za ove biljne droge i eterična ulja provode brojna znanstvena istraživanja kako bi se utvrdila opravdanost njihove primjene. Za farmaceutsku primjenu nužan je zahtjev kvalitete koji obuhvaća parametar sigurnosti i učinkovitosti, stoga je osim primjene farmacije temeljene na dokazima, u procjeni opravdanosti primjene pojedine biljne droge nužno kontrolirati i osigurati kvalitetu biljnih droga koje se nalaze na našem tržištu, na način da se ispita odgovaraju li zahtjevima koje propisuje Europska farmakopeja. Cilj ovog diplomskog rada je provesti kvalitativnu i kvantitativnu analizu navedenih komercijalno dostupnih biljnih droga te pregledati dostupnu znanstvenu i stručnu literaturu. Iako se primjena ljekovitih droga porodice Apiaceae poglavito odnosi na dispeptičke tegobe i kašalj povezan s respiratornim infekcijama, novija istraživanja pokazuju puno veći potencijal primjene u farmaciji.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

3.1.1. Biljni materijal

U ovom diplomskom radu korišteni su suhi plodovi biljnih vrsta *Pimpinella anisum* L., *Feoniculum vulgare* Mill., *Carum carvi* L. i *Coriandrum sativum* L. koji su komercijalno dostupni u ljekarnama i specijaliziranim trgovinama u Hrvatskoj.

3.1.2. Instrumenti i pribor

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su sljedeći instrumenti:

- analitička vaga (Mettler-Toledo, Švicarska-SAD)
- ploče za tankoslojnu kromatografiju (TLC) silikagel 60 F_{254} (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- ultrazvučna kupelj Sonorex Digital 10 P (Bandelin, Berlin, Njemačka)
- UV lampa (Camag, Muttenz, Švicarska)
- vodena kupelj (Inko, Zagreb, Hrvatska)

3.1.3. Reagensi, standardi i ostale kemikalije

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su sljedeći reagensi, standardi i ostale kemikalije:

- anetol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- anisaldehid (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- bezvodni natrij-sulfat (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- etanol 96 % p.a. (Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska)
- etil-acetat (POCH S. A., Gliwice, Poljska)
- fosfomolibdenska kiselina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- heksan (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- ksilen (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- linalol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- maslinovo ulje (Kemig, Zagreb, Hrvatska)
- metilen-klorid (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
- sulfatna kiselina (POCH S. A., Gliwice, Poljska)
- toluen (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- vanilin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)

3.2. Analiza biljnih droga metodom tankoslojne kromatografije

Anisi fructus

Uzeto je 0,10 g samljevene biljne droge te ekstrahirano s 2 mL metilen-klorida 15 minuta. Eksrtakt je filtriran i pažljivo uparen do suha na vodenoj kupelji pri 60 °C. Ostatak je otopljen u 0,5 mL toluena. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 3 μL anetola i 40 μL maslinova ulja u 1 mL toluena.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F254, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korišten je toluen. Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja kromatograma svježe pripremljenom otopinom fosfomolibdenske kiseline u 96% etanolu (200 g/L) i zagrijavanja na 120 °C 5 min (EDQM, 2018).

Foeniculi fructus

Uzeto je 0,30 g samljevene biljne droge te ekstrahirano s 5 mL metilen-klorida 15 minuta. Eksrtakt je filtriran i pažljivo uparen do suha na vodenoj kupelji pri 60 °C. Ostatak je otopljen u 0,5 mL toluena. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 60 μL anetola u 1 mL toluena.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa heksana i toluena u volumnim omjerima 20:80 (*V*/*V*). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja kromatograma sulfatnom kiselinom i zagrijavanja na 140 °C 5 min (EDQM, 2018; Wagner i Bladt, 2009).

Carvi fructus

Uzeto je 0,50 g samljevene biljne droge te ekstrahirano s 5 mL etil-acetata 2-3 minute. Eksrtakt je filtriran preko bezvodnog natrijevog sulfata.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa etil-acetata i toluena u volumnim omjerima 5:95 (*V*/*V*). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja kromatograma otopinom anisaldehida i zagrijavanja na 100-105 °C 2-4 min (EDQM, 2018).

Coriandri fructus

Uzeto je 0,50 g samljevene biljne droge te ekstrahirano s 5 mL heksana 15 minuta. Eksrtakt je filtriran preko bezvodnog natrijevog sulfata. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 15 µL linalola i 25 µL maslinova ulja u 5 mL heksana .

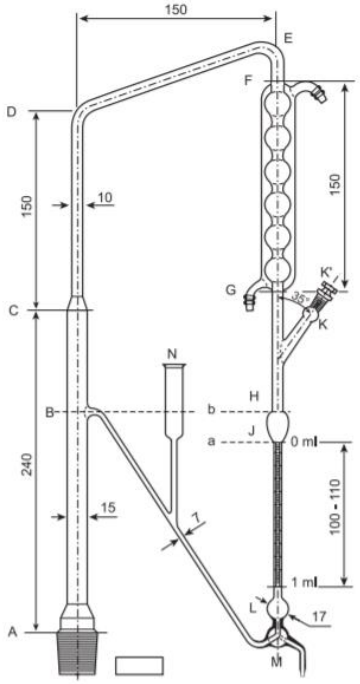
Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa etil-acetata i toluena u volumnim omjerima 5:95 (V/V). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče na dnevnom svjetlu nakon prskanja kromatograma otopinom anisaldehida i zagrijavanja na 100-105 °C 2-4 min (EDQM, 2013).

3.3. Određivanje sadržaja eteričnog ulja

Volumetrijsko određivanje eteričnog ulja destilacijom pomoću vodene pare provodi se u aparaturi propisanoj u Europskoj farmakopeji (Slika 6). Aparatura za određivanje eteričnih ulja sastoji se od tikvice s okruglim dnom i produženim grlom, lijevka za punjenje vode, vertikalne cijevi, hladila, bočne cijevi s ubrušenim čepom, graduirane cijevi, trosmjernog pipca, stativa te termostatirane električne grijače košare.

10,0 ili 30,0 g cjelovite ili propisno usitnjene droge unese se u gore navedenu tikvicu s destiliranom vodom i destilira 2 sata prethodno prilagođenom brzinom destilacije 2-3 mL po minuti. Zatim se destilacija zaustavi te nakon 10 minuta očita volumen eteričnog ulja otopljenog u 0,50 mL ksilena (mL).

Rezultat se izražava mililitrima eteričnog ulja na kilogram biljne droge. (EDQM, 2018)



Slika 6. Dio aparature za određivanje eteričnih ulja u biljnim drogama; dimenzije su u mm (EDQM, 2018)

3.4. Analiza eteričnog ulja metodom tankoslojne kromatografije

Uzorci eteričnih ulja dobiveni su destilacijom pomoću vodene pare provedenom u aparaturi propisanoj u Europskoj farmakopeji.

Anisi aetheroleum

1 g izoliranog eteričnog ulja otopljen je u toluenu i razrijeđen do 10 ml s istim otapalom. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 10 µL linalola, 30 µL anisaldehida i 200 µL anetola u toluenu i razrijeđena do 15 mL istim otapalom. 1 mL ove otopine razrijeđen je s toluenom do volumena od 5 mL.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa etil-acetata i toluena u volumnim omjerima 7:93 (*V*/*V*). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja 1% otopinom vanilina u etanolu, potom 10% etanolnom otopinom sulfatne kiseline i zagrijavanja na 100-105 °C 10 min (EDQM, 2018; Wagner i Bladt, 2009).

Foeniculi aetheroleum

1 g izoliranog eteričnog ulja otopljen je u toluenu i razrijeđen do 10 ml s istim otapalom. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 10 µL linalola, 30 µL anisaldehida i 200 µL anetola u toluenu i razrijeđena do 15 mL istim otapalom. 1 mL ove otopine razrijeđen je s toluenom do volumena od 5 mL.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa etil-acetata i toluena u volumnim omjerima 7:93 (*V*/*V*). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja 1 % otopinom vanilina u etanolu, potom 10 % etanolnom otopinom sulfatne kiseline i zagrijavanja na 100-105 °C 10 min (EDQM, 2018; Wagner i Bladt, 2009).

Carvi aetheroleum

40 µL izoliranog eteričnog ulja otopljeno je u toluenu i razrijeđeno do 1 ml s istim otapalom. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 10 µL linalola, 30 µL anisaldehida i 200 µL anetola u toluenu i razrijeđena do 15 mL istim otapalom. 1 mL ove otopine razrijeđen je s toluenom do volumena od 5 mL.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa etil-acetata i toluena u volumnim omjerima 5:95 (*V*/*V*). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja 1% otopinom vanilina u etanolu, potom 10% etanolnom otopinom sulfatne kiseline i zagrijavanja na 100-105 °C 10 min (EDQM, 2018; Wagner i Bladt, 2009).

Coriandri aetheroleum

10 µL izoliranog eteričnog ulja otopljeno je u toluenu i razrijeđeno do 1 ml s istim otapalom. Poredbena otopina je pripremljena otapanjem 10 µL linalola u 1 mL toluena.

Analiza tankoslojnom kromatografijom provedena je na pločama s tankim slojem silikagela F_{254}, na koje su pomoću kapilare linijski nanesena ispitivana i poredbena otopina. Kao pokretna faza korištena je smjesa etil-acetata i toluena u volumnim omjerima 5:95 (*V*/*V*). Odijeljene sastavnice detektirane su promatranjem ploče pod UV-lampom pri 254 nm te na dnevnom svjetlu nakon prskanja otopinom anisaldehida i zagrijavanja na 100-105℃ 10-15 min (EDQM, 2013; Wagner i Bladt, 2009).

.

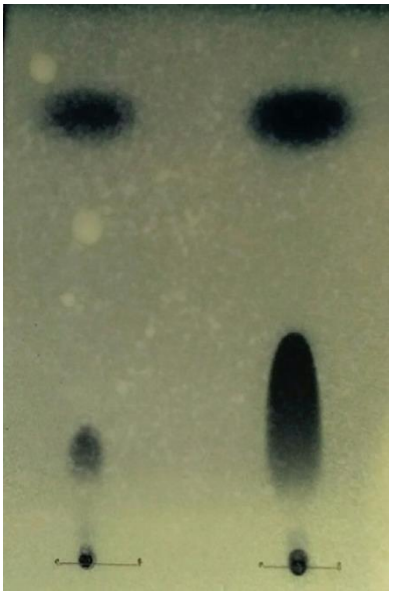
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Anisi fructus – plod anisa

4.1.1. Prikaz rezultata

Identifikacija tankoslojnom kromatografijom dala je sljedeće rezultate: nakon prskanja kromatograma reagensom (Slika 7) vidi se u donjoj trećini kromatograma ispitivanog ekstrakta droge Anisi fructus plava boja (trigliceridi) na sličnom mjestu kao i u kromatogramu poredbene otopine (trigliceridi maslinova ulja). U gornjem dijelu kromatograma vidi se plava zona na ispitivanoj otopini koja pozicijom odgovara položaju anetola (R_F = 0,84) na kromatogramu poredbene otopine.

Određivanje sadržaja eteričnog ulja droge Anisi fructus provedeno je prema propisu Europske farmakopeje. Masa droge uzete u analizu iznosila je 10,001 g. Volumen eteričnog ulja dobivenog destilacije iznosio je 0,67 mL, što umanjeno za iznos ksilena stavljenog prije početka destilacije u gradijentnu cijev (0,50 mL), daje volumen eteričnog ulja u iznosu od 0,17 mL. Dakle, određeni sadržaj eteričnog ulja iznosi 17 mL/kg, a zahtjev je da sadrži minimalno 20 mL/kg bezvodne droge (EDQM, 2018).

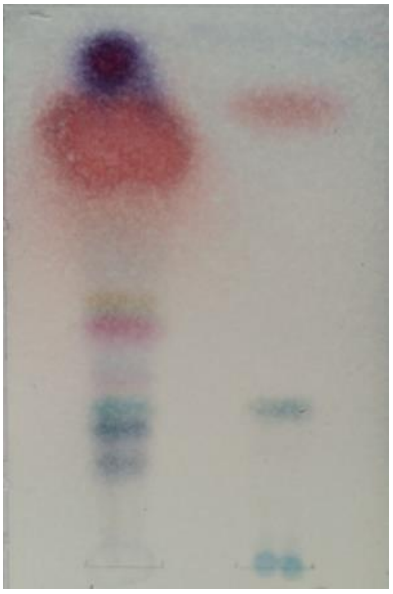


Slika 7. Kromatogram ispitivanog ekstrakta Anisi fructus i poredbene otopine

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: toluen
Detekcija: fosfomolibdenska kiselina u 96% etanolu (200g/L), 120 °C
Ispitivani ekstrakt: **Af -** Anisi fructus
Poredbene supstancije: **P** - anetol (R_F = 0,84) i maslinovo ulje

Izolacijom eteričnog ulja iz biljnog materijala (odvaga grubo samljevenog ploda aniša = 30,035 g) dobiveno je 0,52 mL eteričnog ulja koje se kasnije koristilo u identifikaciji eteričnog ulja.

Identifikacija Anisi aetheroleum tankoslojnom kromatografijom dala je sljedeće rezultate: u gornjem dijelu kromatograma (Slika 8) crvena zona dobivena poredbenom otopinom odgovora anetolu (R_F = 0,84), a prisutna je na istom položaju i u istoj boji i kod ispitivanog eteričnog ulja, gdje je puno izraženija. Blizu starta nalazi se plava zona koja odgovara linalolu (R_F = 0,29), a u manjoj koncentraciji je prisutna i u ispitivanoj otopini eteričnog ulja. Na kromatogramu ispitivane otopine, ljubičasta zona blizu fronta odgovara monoterpenskim ugljikovodicima



Slika 8. Kromatogram ispitivane otopine Anisi aetheroleum i poredbene otopine

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: etil-acetat, toluen 7:93 (*V*/*V*)
Detekcija: vanilin-sulfatna kiselina, 120 °C
Ispitivana otopina: **Aae -** Anisi aetheroleum
Poredbene supstancije: **P** - linalol (R_F = 0,29) i anetol (R_F = 0,84)

4.1.2 Pregled istraživanja

In vitro istraživanja

Antimikrobna aktivnost vodenog i etanolnog ekstrakta (25 g ploda je ekstrahirano s 500 mL otapala i potom liofilizirano) ploda anisa testirana je naspram mikroorganizama *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Citrobacter koseri, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Enterobacter aerogenes, Micrococcus luteus, Staphylococcus epidermidis* i *Candida albicans*. Rast većine mikroorganizama je inhibiran, međutim, nije uočena aktivnost vodenog ekstrakta ploda anisa naspram *P. aeruginosa* i *E. coli* (Gülçin i sur., 2003).

Dokazano je da metanolni ekstrakt plada anisa smanjuje rezistenciju *P. aeruginosa* prema pojedinim antibioticima. Ispitane su koncentracije ekstrakta i antibiotika koje primjenjene pojedinačno ne inhibiraju rast bakterija. Ekstrakt ploda anisa je bio osobito učinkovit u kombinaciji s kloramfenikolom, gentamicinom, cefaleksinom, tetraciklinom i nalidiksinskom kiselinom protiv *P. aeruginosa* uzrokujući gotovo potpunu inhibiciju rasta. Manje je bio učinkovit protiv određenih rezistentnih sojeva *P. aeruginosa*, ali je inhibirao rast za 74% u kombinaciji s tetraciklinom (Aburjai i sur., 2001).

Sekretolitički učinak ploda anisa ispitan je na izoliranim cilijarnim epitelnim stanicama žabljeg ezofagusa. Umjereno povećanje mukocilijarnog transporta uočeno je 90 sekundi nakon aplikacije 200 μL infuza anisova ploda (4,6 g/100 mL vode) (Müller-Limmroth i Fröhlich, 1980).

Eterično ulje anisa je pokazalo je inhibitornim učinak na oksidaciju LDL-a kataliziranu bakrom. Učinak je korelirao s ukupnonim sadržajem fenolinih sastavnica u eteričnom ulju (Teissedre i Waterhouse, 2000).

Ispitan je bronhodilatacijski učinak vodenog i etanolnog ekstrakta te eteričnog ulja anisa na izoliranim trahealnim glatkim stanicama zamorca. Vodeni i etanolni ekstrakt aniša pokazali su učinak sličan učinku teofilina, dok je eterično ulje pokazalo nešto manju aktivnost. Utvrđeno bronhodilatacijsko djelovanje posljedica je inhibitornog učinka na muskarinske receptore (Boskabady i Ramazani-Assari, 2001).

Lokalni anestetički učinak *trans*-anetola istraživan je na freničnom živcu štakora nakon što je električni inerviran; zabilježeno je smanjenje kontrakcije za 10,3% u koncentraciji 10^{-3} μg/mL,

za 43,9% pri koncentraciji 10^{-2} μg/mL, za 79,7% pri koncentraciji 10^{-1} μg/mL te za 100% kod koncentracije *trans*-anetola 1μg/mL (Ghelardini i sur., 2001).

Anetol je u koncentraciji ispod 1mM se pokazao kao potentni inhibitor aktivacije nuklearnog faktora kappa β iniciranog tumor nekrotizirajućim faktorom, što bi moglo objasniti ulogu anetola u supresiji upale i karcinogeneze (Chainy i sur., 2000).

***In vivo* istraživanja**

Estrogenska aktivnost *trans*-anetola istraživana je na spolno nezrelim ženkama štakora kojima je dan peroralno u dozi 80 mg/kg tjelesne mase unutar tri dana. Zabilježen je porast mase uterusa s 0,5 g/kg na 2 g/kg čime su rezultati istraživanja potvrdili estrogensku aktivnost *trans*-anetola, a drugi su eksperimenti pokazali da nema antiestrogensku, progesteronsku, antiprogesteronsku, androgensku niti antiandrogensku aktivnost (Dhar, 1995).

Lokalni anestetski učinak *trans*-anetola je ispitivan pomoću kunjuktivalnog refleksa kod zečeva. *Trans*-anetol u koncentracijama od 3 do 1000 μg/mL apliciran je u konjunktivalnu vreću a učinak je bio sličan učinku prokaina iste koncentracije (Ghelardini i sur., 2001).

Antitumorska aktivnost *trans*-anetola ispitivala se na albino mišu s EAS (*eng*. Ehrlich ascites tumour) tumorom u šapi. Anetol je primijenjen oralno u dozi od 500 mg/kg, odnosno 1000 mg/kg svaki drugi dan u periodu od 60 dana. Uočeno je o dozi ovisno smanjenje mase tumora, volumena tumora, te produženje vremena preživljenja, a histopatološke promjene su bile usporedive onima nakon tretmana ciklofosfamidom (Al-Harbi i sur., 1995).

Kliničke studije

Kombiniranom biljnom pripravku koji je sadržavao suhi ekstrakt lista bršljana kao glavni sastojak, dekokt timijana i anisa te sluzi korijena bijelog sljeza ispitivan je učinak na simptome kašlja i njegovu podnošljivost. Istraživanje je provedeno na 62 pacijenta s prosjekom od 50 godina starosti (raspon 16-89), a među pacijentima su bili oni s iritirajućim kašljem kao simptomom obične prehlade (n = 29), bronhitisom (n = 20) i bolesti dišnog sustava s viskoznom sluzi (n = 15). Srednja vrijednost dnevnog unosa bila je 10 mL sirupa (raspon 7,5-15), a srednja vrijednost trajanja liječenja iznosila je 12 dana (raspon 3-23 dana). Rezultat je bio poboljšanje simptoma u svih pacijenata u usporedbi s početnim stanjem. (Buechi i sur., 2005).

Toskikološka istraživanja

Akutna oralna toksičnost izražena kao LD_{50} vrijednost po kg tjelesne mase štakora za eterično ulje iznosi 2,7 g (Von Skramlik, 1959), dok za *trans*-anetol iznosi 1,82-5,0 g za miša, odnosno 2,1-3,2 g za štakora i 2,16 g za zamorca (Lin, 1991). Procijenjena oralna letalna doza za čovjeka je 50-500 mg/kg tjelesne mase (https://toxnet.nlm.nih.gov/index.html).

Intraperitonealna LD_{50} *trans*-anetola je određena na 0,65-1,41 g/kg u miša, odnosno 0,9-2,67 g/kg u štakora (Lin, 1991). Suhi etanolni ekstrat (1:2) pokazao je mutagenost na streptomicin ovisnim sojevima *Salmonella typhimurium* pri visokim koncentarcijama (Shashikanth i Hosono, 1986).

U sudiji na štakorima, jedinke u grupi koja se hranila s najvišom dozom (1% *trans*-anetola kroz 117 tjedana) razvile su hiperplastične i djelomično neoplastične promjene u jetri ženki štakora (ali ne i mužjaka); utvrđeno je da nastale neoplastične promjene nisu rezultat direktne genotoksičnosti *trans*-anetola (Lin, 1991).

U studijama reproduktivne toksičnosti, *trans*-anetol je pokazao o dozi ovisnu antiimplantacijsku aktivnost na odraslim skotnim ženkama štakora u 1.-10. danu trudnoće. U usporedbi s kontrolnom skupinom (gdje su po završetku trudnoće sve ženke rodile zdrave mlade), *trans*-anetol u dozi 50, 70 i 80 mg/kg tjelesne mase inhibirao je implantaciju za 33%, 66% , odnosno 100%. Daljnji eksperimenti su pokazali da antimplantacijska aktivnost u dozi 80 mg/kg aktivnost nije zabilježena 1.-2. dan trudnoće, odnosno bila je 100 % 3.-5. dan trudnoće, a 6.-10. dan iznosila je 60% (Dhar, 1995).

Estragol, prisutan u maloj količini u eteričnom ulju anisa, pokazuje genetoksično svojstvo u bakterijama, kvascima i stanicama sisavaca, dok na *Salmonella typhimurium* nije zabilježena mutagena aktivnost, vjerojatno zbog odsutnosti kompleksnog metabolizma koji je potreban za bioaktivaciju (Bristol, 2011). Dokazano je da estragol i njegov 1'-hidroksi metabolit uzrokuju značajno povećanje u incidenciji hepatocelularnog karcinima u mužjaka CD-1 miševa nakon njihove primjene subkutanom injekcijom 1.-22. dana starosti miša (Drinkwater i sur., 1976). Estragol ili njegov metabolit, 1'-hidroksiestragol, vežu se na DNA. Nekoliko studija je pokazalo kancerogeni učinak estragola u miševima. 1'- hidroksiestragol i ostali metaboliti i sintetski derivati pokazali su se kao potentni kancerogeni (Wiseman i sur., 1987). Profil metabolizma, metabolička aktivnost i kovalentno vezanje estragola su ovisni o dozi, međutim imaju tenedenciju biti značajno smanjeni pri niskoj razini izloženosti (manje vrijednosti od onih koje bi se dobile za linearno smanjenje ovisno o dozi). Prema studijima na glodavcima zaključuje se

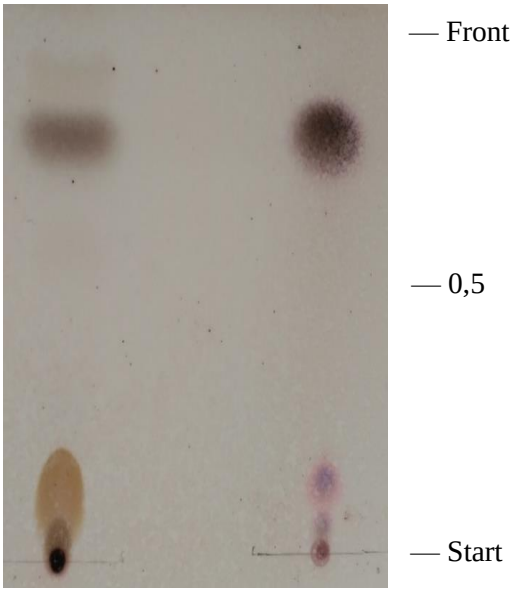
da su ovi događaji malo vjerojatni pri dozi 1-10 mg estragola/kg t.m., što je aproksimativno 100-1000 puta više od ljudske izloženosti estragolu tradicionalnom prehranom i dodanim začinima (www.ema.europa.eu). Glavni metabolički put pri niskim dozama estragola u štakora i miša je O-demetilacija s ugljikovim dioksidom kao terminalnim metabolitom, ali kako se doza povećava, udio O-demetilacije u metabolizmu estragola se smanjuje i drugi metabolički putevi, osobito 1'-hidroksilacija postaju značajni (Paini 2012).

4.2. Foeniculi fructus – plod komorača

4.2.1. Prikaz rezultata

Identifikacija tankoslojnom kromatografijom dala je sljedeće rezultate: nakon prskanja kromatograma ispitivane otopine ekstrakta ploda komorača reagensom (Slika 9) uočava se ljubičasta zona koja odgovara anetolu (R_F = 0,85). Na kromatogramu ne uočava se zona koja bi odgovarala fenhonu, ketonu kojeg nalazimo u vrsti *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. vulgare var. vulgare.

Određivanje sadržaja eteričnog ulja u drogi Foeniculi fructus provedeno je prema propisu Europske farmakopeje. Masa droge uzete u analizu iznosila je 10,003 g. Volumen nakon destilacije iznosio je 0,64 mL, što umanjeno za iznos ksilena stavljenog prije početka destilacije u gradijentnu cijev (0,50 mL), daje volumen eteričnog ulja u iznosu od 0,14 mL. Dakle, određeni sadržaj iznosi 14 mL/kg što je manje od zahtjeva za minimalno 20 mL/kg koji je zadan u monografiji droge (EDQM, 2018).



Slika 9. Kromatogram ispitivanog ekstrakta Foeniculi fructus i poredbene otopine

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: heksan, toluen (20:80 *V/V*)
Detekcija: sulfatna kiselina, 140 °C
Ispitivani ekstrakt: **Ff -** Foeniculi fructus
Poredbene supstancije: **P** - anetol (R_F = 0,85)

Izolacijom eteričnog ulja iz biljnog materijala (odvaga samljevenog ploda komorača = 40,0 g) dobiveno je 0,65 mL eteričnog ulja koje se kasnije koristilo u identifikaciji eteričnog ulja.

Analizom Foeniculi aetheroleum tankoslojnom kromatografijom dobiveni su sljedeći rezultati: u gornjem dijelu kromatograma (Slika 10) crvena zona dobivena referentnom otopinom odgovora anetolu (R_F = 0,85), a prisutna je na istom položaju i u istoj boji i kod ispitivane otopine. Na istom položaju na kromatogramu ispitivane otopine nalazi se i manja količina metilkavikola, izomera atenolola. Kromatogram referentne otopine pokazuje plavu zonu blizu starta (linalol, R_F = 0,3).



Slika 10. Kromatogram ispitivane otopine Foeniculi aetheroleum i poredbene otopine

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: etil-acetat, toluen 7:93 (*V*/*V*)
Detekcija: vanilin-sulfatna kiselina, 100 - 105 °C
Ispitivana otopina: **Fae -** Foeniculi aetheroleum
Poredbene supstancije: **P** - linalol (R_F = 0,29) i anetol (R_F = 0,84)

4.2.2. Pregled istraživanja

In vitro istraživanja

Djelovanje eteričnog ulja komorača na rast bakterija ispitano je metodom dilucije. Dokazana je inhibicija rasta bakterija vrste *E. coli* pri čemu je minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) eteričnog ulja komorača bila 0,5% *V/V*, dok je za *S. aureus* iznosila 0,25% *V/V* a za *S. typhimurium* 1% *V/V*. Kod gljivice *C. albicans* MIC je iznosio 0,5% *V/V* (Hammer i sur., 1999). Značajnu antibakterijsku aktivnost eteričnog ulja komorača (10 µL nerazrijeđenog ulja ispitano difuzijskom metodom) pokazalo je naspram *Brevibacterium linens, Clostridium perfringens, Leuconstoc cremosis* i *S. aureus* (Ruberto i sur., 2000).

Spazmolitički učinak eteričnog ulja komorača ispitan je na izoliranom uterusu štakora. Ustanovljeno je značajno i o dozi ovisno smanjenje intenziteta kontrakcije inducirane oksitocninom i prostaglandinom E_2. Komoračevo ulje također je smanjilo frekvenciju kontrakcija induciranim s prostaglandinom E_2 ali ne i kontrakcija induciranih oksitocinom (Ostad i sur., 2001).

In vivo istraživanja

Vodeni ekstrakt komorača (masene koncentracije 10%), primijenjen u žeudac anesteziranog štakora brzinom 0,15 mL/min povećao je sekreciju želučanog soka za više od 3 puta u usporedbi s bazalnom sekrecijom (Vasudevan i sur., 2000).

Protuupalni učinak istraživan je na na štakorima s edemom uzrokovanim karagenanom. Ispitan je 80 %-tni etanolni ekstrakt komorača u dozi 100 mg/kg tjelesne mase. Ispitivana doza uzrokovala je smanjenje edema za 36%, dok je indometacin u dozi od 5 mg/kg smanjio edem za 45% (Mascolo i sur. 1987).

Oralna primjena acetonskog ekstrakta komorača kod odraslih ženki štakora s uklonjenim ovarijima u dozi 0,5-2,5 mg/kg tjelesne mase dovela je do o dozi ovisnog estrogenskog učinka. Zapažena je indukcija estrus faze ciklusa (nakon 10 dana u 40% ženki štakora pri 0,5 mg/kg, odnosno u 100% jedinki za 2,5 mg/kg) i povećanje mase endometrija, cerviksa i vagine. Također, estrogenski efekt ispitivan je i na zrelim mužjacima štakora koji su primali esktrakt u dozi 1,5-2,5 mg/kg kroz 15 dana. Nije uočena značajna promjena u tijelu ili masi organa, ali osobito u visokoj dozi zabilježene su promjene u proteinima te alkalnoj i kiseloj fosfatazi u sjemenovodu, testisima, sjemenom mjehuriću i prostati (Malini i sur., 1985).

Hepatoprotektivni učinak eteričnog ulja komorača je proučavan koristeći ugljikov tetraklorid koji je uzrokovao akutno jetreno oštećenje u štakora. Pri paralelnoj primijeni komoračevog eteričnog ulja (0,4 ml/kg) s ugljikovim tetraklorougljikom, uočeno je značajno smanjenje hepatotoksičnosti. Zabilježena je smanjena koncentracija serumske aspartat aminotransferaze, alanin aminotransferaze, alkalne fosfataze i bilirubina (Ozbek i sur., 2003).

Liofilizirani vodeni ekstrakt komorača primijenjen je peroralno u dozi 190 mg/kg tjelesne mase (što je ekvivalentno suhoj biljnoj tvari u dozi 1000 mg/kg) tijekom 5 dana te je uočeno značajno smanjejne sistoličkog krvnog tlaka kod štakora sa spontanom hipertenzijom, ali učinak na normotenzivne štakore nije zabilježen. Ekstrakt je za 80% povećao količinu izmokrenog urina kod hipertenzivnih štakora, te povećao renalnu ekskreciju natrija i kalija, pokazavši da komorač djeluje kao diuretik i natriuretik (El Bardai i sur., 2001).

Kliničke studije

Kliničkom studijom provedenom na trideset žena ispitan je učinak eteričnog ulja komorača na intenzitet boli u dismenoreji. Intenzitet boli kod pacijenatica s umjerenom do jakom dismenorejom proučavan je linearnom analognom metodom kroz 5 dana u 3 uzastopna ciklusa (prvi ciklus: bez intervencije; drugi ciklus: mefenaminska kiselina 250 mg svakih 6 sati, oralno; treći ciklus: 2% komoračevo ulje - 25 kapi svaka 4 sata, oralno) (Jahromi i sur., 2003). Iako studija nije bila slijepa i broj ispitanica je bio mali, dobiveni rezultati sugeriraju da obje intervencije učinkovito smanjuju menstrualnu bol u usporedni s kontrolnim ciklusom, dok je mefenaminska kiselina aktivnija od komoračeva ulja.

Randomizirana, dvostruko-slijepa placebom kontrolirana studija učinka čaja protiv kolika (koji uz ostale biljne droge sadrži i plod komorača) provedena je na 70 djece s kolikama u dobi od 2-8 tjedana. Primjena čaja u količini od 150 mL do tri puta dnevno smanjila je kolike kod 57% djece (Weizman i sur., 1993).

Učinkovitost komoračeva čaja u liječenju dojenačkih kolika ispitivana je u randomiziranoj, placebo kontroliranoj studiji, provedenoj na 125 (62 u eksperimentalnoj grupi i 59 u kontrolnoj grupi) djece u dobi 2 do 12 tjedana starosti. Oralna primjena 0,1% emulzije komoračava ulja u vodi (oko 12 mg/kg tjelesne mase dnevno) tijekom 7 dana imala je značajno bolji učinak na smanjenje intenziteta dojenačkih kolika u odnosu na placebo. Olakšanje od količkih simptoma je procijenjivano kao smanjenje kumulativnog plakanja na manje od 9 sati tjedno. Nisu uočene nikakve nuspojave (Alexandrovich i sur., 2003). S obzirom da je pretpostavljeni mehanizam

patogeneze kolika spazam intestinalnih glatkih mišića, terapeutski učinak ulja komoračeva ploda je inteterpretiran kao posljedica spazmolitičke aktivnosti.

Randomizirana, dvostruko slijepa, placebom kontrolirana studija je provedana kako bi se ispitala učinkovitost i nuspojave fitoterapijskih pripravaka *Matricariae recutita* L., *Foeniculum vulgare* M. var *dulce* i *Melissa officinalis* L. u tretiranju 93 dojenčadi s kolikama. Rezultati su pokazali da su bebe koje su primale ekstrakt pokazale poboljšanje unutar jednog tjedna intervencije (Savino i sur., 2005). Međutim, s obzirom na preporuke koje je izdala Europska agencija za lijekove (www.ema.europa.eu), izlaganje estragolu osjetljivih grupa kao što su mala djeca, trudnice i doilje treba biti svedeno na minimum.

Toksikološka istraživanja

Oralna primjena etanolnog ekstrakta komorača u miša u dozi 0,5, 1 i 3 g/kg tjelesne mase nije uzrokovala ugibanje, niti značajne promjene u tijelu i masi vitalnih organa ili u morfološkim, hematološkim i spermatogenskim parametrima u usporedbi s kontrolnom skupinom u periodu od 24 h (Shah i sur., 1991). Vrijednost LD_{50} odgovaraju 3,8 g/kg tjelesne mase (Opdyke, 1974) za eterično ulje u štakora, ali u novijim sutidijama oralni LD_{50} je procijenjen na 1,326 g/kg tjelesne mase (Ostad i sur., 2000). U ovoj studiji, životinje na kojima je primijenjena najveća doza pokazale su slabost, sedaciju, respiratorni poteškoće, poremećaje kretanja, neosjetljivost na vanjske stimulanse, slabost stražnjih udova, tremor i nevoljne kontrakcije dorzalnih mišića tijekom 24 sada od jedne doze. U svim grupama, količina 24h urina povećala se paralelno s količinom primijenjenog komorčeva ulja.

Vodeni i metanolni ekstrakt komorača nije pokazao mutagensku aktivnost u Ames tetstu koristeći *Salmonella typhimurium* sojeve TA 98 and TA 100, s ili bez metaboličke aktivacije (Morimoto i sur., 1982; Yamamoto i sur., 1982), dok je komoračevo ulje (2,5 mg/hranjivi medij) pokazalo mutagenost (Marcus i Lichtenstein, 1982). Ekstrakti također nisu pokazali mutagenost u *Bacillus subtilis* DNA-repair testu a komoračevo ulje nije pokazalo aktivnost u testu kromosomske aberacije koristeći stanice fibroblasta kineskog hrčka (Ishidate i sur., 1984).

U jednoj studiji (Ostad i sur., 2004) kultivirane stanice izolirane iz 13 dana starog embrija štakora izložene su eteričnom ulja komorača u koncentracijama između 0,0186 i 9,3 mg/mL kroz 5 dana na 37 °C. Uočen je toksičan učinak eteričnog ulja na fetalne stanice, ali bez dokaza o teratogenosti.

4.3. Carvi fructus – plod kima

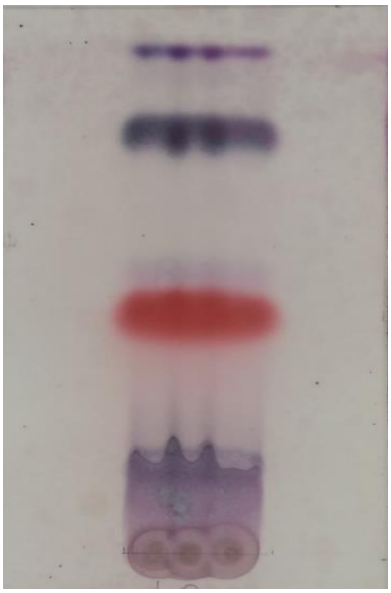
4.3.1. Prikaz rezultata

Identifikacijom Carvi fructus tankoslojnom kromatografijom dobiveni su sljedeći rezultati: na kromatogramu (Slika 11) zona koja odgovara karvonu je crveno-smeđe boje (R_F = 0,44). Iznad zone karvona vidljiva je ljubičasta zona koja predstavlja trigliceride (R_F = 0,78). Slaba ljubičasta zona u blizini fronta potječe od terpena (R_F = 0,97).

Određivanje sadržaja eteričnog ulja u drogi Carvi fructus provedeno je prema propisu Europske farmakopeje. Masa droge uzete u analizu iznosila je 10,000 g. Volumen nakon destilacije iznosio je 0,72 mL, što umanjeno za iznos ksilena stavljenog u rezervoar prije početka destilacije (0,50 mL), daje volumen eteričnog ulja u iznosu od 0,22 mL. Dakle, određeni sadržaj iznosi 22 mL/kg čime ispitivana droga ne zadovoljava zahtjev za sadržaj eteričnog ulja od minimalno 30 mL/kg (EDQM, 2018).

Izolacijom eteričnog ulja iz biljnog materijala (odvaga samljevenog ploda kima = 20,0 g) dobiveno je 0,36 mL eteričnog ulja.

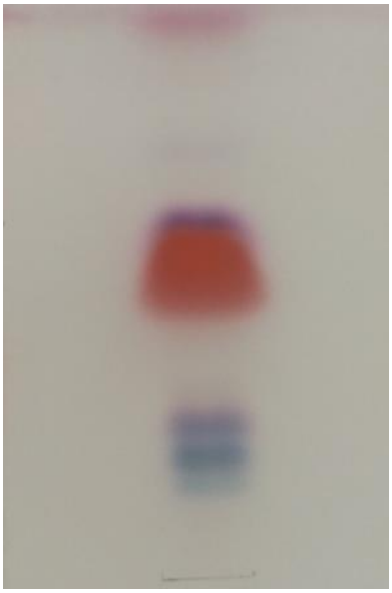
Analizom Carvi aetheroleum tankoslojnom kromatografijom dobiveni su sljedeći rezultati: na kromatogramu (Slika 12) dobivena centralna crvena zona odgovara karvona (R_F = 0,50). U donjem dijelu kromatograma nalazi se ljubičasto plava zona iznad koje je ljubičasta zona koja predstavlja karveol (R_F = 0,25).



Cf

Slika 11. Kromatogram ispitivanog ekstrakta Carvi fructus

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: etil - acetat, toluen (5:95 *V/V*)
Detekcija: anisaldehid, 100-105 °C
Ispitivani ekstrakt: **Cf -** Carvi fructus



Cae

Slika 12. Kromatogram ispitivane otopine Carvi aetheroleum

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: etila-acetat, toluen 5:95 (*V/V*)
Detekcija: anisaldehid, 100 - 105 °C
Ispitivana otopina: **Cae -** Carvi aetheroleum

4.3.2. Pregled istraživanja

In vitro istraživanja

Eterično ulje kimova ploda pokazalo je antimikrobnu aktivnost naspram *S. aureus* (MIC 700 ppm), *E. coli* (odgođena inhibicija), *Salmonella typhi* (MIC 900 ppm), *S. dysentery* (MIC 900 ppm) i *Vibrio cholera* (inhibicija s dvostrukim razrijeđenjem 800 ppm) (Syed i sur., 1987). Fricke i suradnici zaključili su da antimikrobna aktivnost kimova eterična ulja i lipofilnih ekstrakata naspram *S. aureus* ovisi o sadržaju lipofilnih komponenata (Fricke i sur., 1998). Vodeni ekstrakt kimova ploda (2:1) pokazao je snažnu antifungalnu aktivnost naspram *Saccharomyces pastorianus, C. albicans, Rhizopus nigricans, Asperigillus fumigatus* i *niger, Penicillium digitatum, Botrytis cinerea, Fusarium oxysporum* i *Trychophyton mentagrophytes* (Guérin i Réveillère, 1985).

Nekoliko *in vitro* studija je provedeno s alkoholnim ekstraktom kimova ploda na različitim gastrointestinalnim modelima. Istraživanja na stanicama ileuma zamorca pokazala se da etanolni ekstrakt kimova ploda ima spazmolitičku aktivnost (Heinle i sur., 2006). Eksperimenti na želucu zamorca s ekstraktom kimova ploda u koncentracijama 24-188 μg/mL doveli su do povećanog motiliteta želuca (Schemann i sur., 2006). Istraživanjem na glatkom mišićju iz različitih dijelova crijeva miša došlo se do zaključka da ekstrakt kimova ploda nema učinak na osnovna elektrofiziološka svojstva mišića (Sibaev i sur., 2006). Ekstrakt kimova ploda nije pokazao afinitet vezanja za intestialne 5-HT i muskarinske M_3 receptore (Simmen i sur., 2006), a nakon indukcije kontrakcije intestinalnih stanica zamorca acetilkolinom, ekstrakt je inhibirao kontrakciju (Al-Essa i sur., 2010).

In vivo istraživanja

Vodeni i alkoholni ekstrakt kimova ploda ispitan je u nekoliko *in vivo* modela kao što je model kolitisa i oštećene želučane sluznice. Ekstrakti su reducirali lezije kad su primijenjeni oralno ili intraperitonealno u dozama 100-500 mg/kg (Khayyal i sur., 2006; Keshavarz i sur., 2013). U *in vivo* modelima kolitisa i oštećene želučane sluznice kimovo ulje je u dozama 100-400 μL/kg, odnosno 100-300 mg/kg reduciralo lezije nakon oralno ili peritonealne primijene (Keshavarz i sur., 2013, Baananou i sur., 2013).

Učinak vodenog ekstrakta kimova ploda na glukozu i plazmatske lipide je također ispitivan na *in vivo* modelima. Doza u iznosu 20 mg/kg ekstrakta koja je davana *per os* tijekom 2 tjedna štakorima s dijabetesom snizila je koncentraciju glukoze i triglicerida u krvi (Eddouks i sur.,

2004, Lemhadri i sur., 2006). Nakon primjene vodenog ekstrakta u dozi od 60 mg/kg *per os* tijekom 8 tjedana u štakora u kojih je hiperlipidemija potaknuta prehranom, opažene su promjene u plazmatskim razinama lipida (Saghir i sur., 2012). Štakori s dijabetesom induciranim aloksanom primali su 10 mg eteričnog ulja kimova ploda po kg tjelesne mase tijekom 6 tjedana. Navedena doza dovela je do značajnog smanjenja razine glukoze u krvi (za 55%) i serumskog kolesterola (za 74%) u usporedbi sa skupinom neliječenih štakora s dijabetesom (ESCOP, 2003).

Estrogenski učinak je uočen u studijama vodenog i etanolnog ekstrakta kimova ploda u ženki štakora. Oralna doza od 150 do 300 mg/ kg tjelesne mase je primjenjivana 30 dana. Dobiveni rezultati pokazuju promjene u vaginalnom brisu, povećanu masu jajnika, povećanu masu maternice, smanjenu razinu gonadotropina i povećanu razinu estrogena. Estrogenski učinak je uočen u dozama ≥ 200 mg/kg za oba ekstrakta (Thakur i sur., 2009).

Vodeni ekstrakt pri dozi od 100 mg/kg *per os* tijekom 8 dana doveo je do povećanje izlučenog urina kod štakora (Lahlou i sur., 2007), dok je protektivni učinak na bubrege opažen pri dozi od 60 mg/kg kroz 60 dana (Saghir i sur., 2012).

D-karvon pokazao se kao depresiv središnjeg živčanog sustava u dozi 50-200 mg/kg koja je miševima aplicirana intraperitonealno. Zabilježen je smanjeni odgovor na dodir, sedacija, te antinociceptivni učinak (De Sousa i sur., 2007).

Kliničke studije

Učinak na motilitet želuca i žučnog mjehura te na orocekalno prolazno vrijeme proučavan je u 12 zdravih dobrovoljaca u slijepoj, placebom kontroliranoj studiji. Sudionici su apstinirali od hrane 12 sati prije primjene 50 mg eteričnog ulja kima *per os*. Rezultati su pokazali potpunu inhibiciju pražnjenja žučnog mjehura kako i primjenom ulja, tako i primjenom N-butilskopolamina. Orocekalno prolazno vrijeme nije ovisilo o primjeni kimova ulja (Goerg i sur., 2003).

U dvostruko slijepoj placebom kontroliranoj studiji na 8 zdravih dobrovoljaca ispitan je učinak kimova ulja (50 mg *per os*) na gastroduodenalnu pokretljivost. Rezultati su pokazali da je kimovo ulje reduciralo kontrakcijske amplitude u duodenumu i smanjilo kontrakcijske amplitude i trajanje kontrakcija u tijelu želuca (Micklefield i sur., 2003).

Toksikološka istraživanja

ESCOP-ova monografija navodi akutni oralni LD_{50} kimova ulja u štakora iz dvije različite studije u iznosu 3,5 mL/kg, odnosno 6,7 g/kg (ekvivalent 7,4 mL/kg). (ESCOP, 2003)

The European Food Safety Authority (EFSA) objavio je izvješće o sigurnosti primjene D-karvona. U izvješću su prikazani rezultati studije na štakorima. EFSA je zaključila da je masa jetre štakora koji su preživjeli (oni izloženi dozama 93, 187 i 375 mg/kg) značajno povećana u odnosu na kontrolnu skupinu. Razlike su uočene u oba spola, ovisne su o dozi i nije uočena pojava doze bez učinka. Većina životinja iz dvaju grupa s najvišom dozom (750 i 1500 mg/kg) je uginula tijekom ispitivanja; oni iz skupine koja je primala najvišu dozu je uginula unutar 3 dana od početka istraživanja. Klinički znakovi uključivali su hipoaktivnost, piloerekciju, dehidrataciju, ekscesivnu salivaciju, promjene u anogenitalnoj regiji, smanjen refleks ispravljanja i hvatanja, smanjen tonus udova, hipotermiju i ataksiju. Uzimajući u obzir rezultate istraživanja i faktor sigurnosti, EFSA odbor je objavio ADI (*eng*. Acceptable Daily Intake; prihvatljivi dnevni unos) u iznosu 0,6 mg/kg tjelesne mase/dan (EFSA, 2014).

Doza od 75 mg vodenog, metanolnog i heksanskog ekstrakta kimova ploda nije pokazala mutagenost u Amesovom testu sa *S.tyohimurium* sojevima TA98 i TA100 (Higashimoto i sur., 1993).

Studija provedena na miševima nije dokazala kancerogenost D-karvona primijenjenog peroralno. D-karvon primjenjen intraperitonealno miševima u dozi 6 i 1,2 g/kg 3 puta tjedno kroz 8 tjedana nije uzrokovao značajno povećanje tumora pluća (ESCOP, 2003).

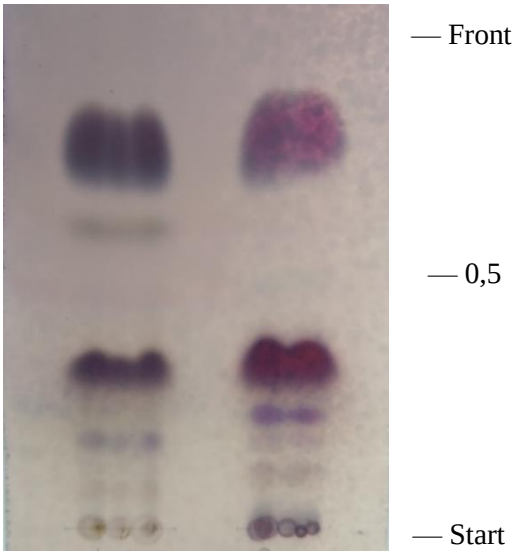
ESCOP navodi i istraživanje lokalne preosjetljivosti. Kada je na područje bez krzna naneseno eterično ulje kimova ploda, nije došlo do iritirajućeg učinka. Međutim, primijenjeno na intaktnu, kao i na oštećenu kožu, djelovalo je irtirajuće (ESCOP, 2003).

4.4. Coriandri fructus – plod korijandra

4.4.1. Prikaz rezultata

Promatranjem kromatograma ispitivanog ekstrakta Coriandri fructus (Slika 13) uočena je izražena ljubičasta zona koja položajem odgovara zoni linalola (R_F = 0,33) u poredbenoj otopini. Plavo-ljubičasta zona u gornjoj trećini kromatograma ispitivane i poredbene otopine potječe od triglicerida (R_F = 0,78). Između starta i zone linalola uočljivo je nekoliko smeđih i ljubičastih zona u koje spada i zona geraniola. Nekoliko blijedih sivo-ljubičastih zona nalazi se između zone koja odgovara linalolu i zone koje predstavlja trigliceride.

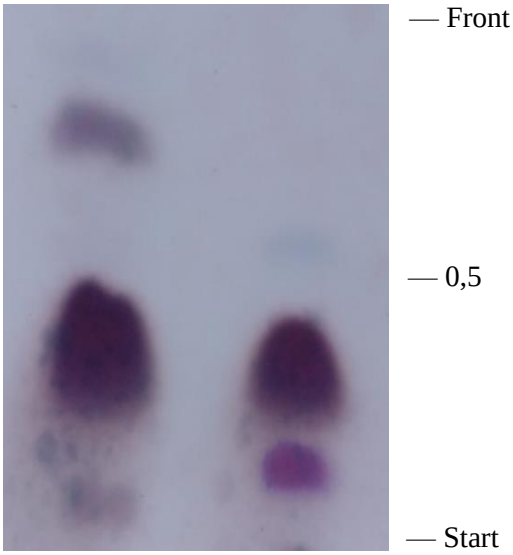
Određivanjem sadržaja eteričnog ulja u drogi Coriandri fructus dobiveni su sljedeći rezultati: masa droge uzete u analizu iznosila je 29,995 g. Volumen nakon destilacije iznosio je 1,1 mL, što umanjeno za iznos ksilena stavljenog u aparaturu prije početka destilacije u (0,50 mL), daje volumen eteričnog ulja u iznosu od 0,60 mL. Dakle, određeni sadržaj iznosi 20 mL/kg čime ispitan droga zadovoljava zahtjev Europske farmakopeje za sadržaj eteričnog ulja od minimalno 3 mL/kg (EDQM, 2018).



Slika 13. Kromatogram ispitivanog ekstrakta Coriandri fructus i poredbene otopine

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: etil-acetat, toluen (5:95, *V/V*)
Detekcija: anisaldehid, 100-105 °C
Ispitivani ekstrakt: **Cof -** Coriandri fructus
Poredbene supstancije: **P** - linalol (R_F = 0,33) i maslinovo ulje

Izolacijom eteričnog ulja iz biljnog materijala (odvaga samljevenog ploda korijandra = 60,0 g) dobiveno je 1,05 mL eteričnog ulja koje se kasnije koristilo u identifikaciji eteričnog ulja.
Identifikacijom Coriandri aetheroleum tankoslojnom kromatografijom dobiveni su sljedeći rezultati: intenzivna ljubičasta zona u sredini kromatograma (Slika 14) odgovara linalolu (R_F = 0,35).



Slika 14. Kromatogram ispitivane otopine Coriandri aetheroleum i poredbene otopine

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254} TLC ploča
Pokretna faza: etil-acetat, toluen 5:95 (*V*/*V*)
Detekcija: anisaldehid, 100-105 °C
Ispitivana otopina: **Coae -** Coriandri aetheroleum
Poredbene supstancije: **P** - linalol (R_F = 0,35)

4.4.2 Pregled istraživanja

In vitro istraživanja

Antifungalna aktivnost eteričnog ulja korijandra ispitana je metodom difuzije, dok su mikrodilucijskom metodom utvrđeni MIC i minimalna fungicidna koncentracija (MFC) na različitim sojevima *Microsporum canis* i *Candida* spp. Eterično ulje inhibiralo je rast na području 28 ± 5.42 mm i 9.25 ± 0.5 mm za *M. canis*, odnosno *Candida* spp. MIC i MFC za *Microsporum canis* kretao se u rasponu od 78 do 620 i od 150 do 1250 μg/mL, dok je MIC i MFC za *Candida* spp. bio rasponu od 310 do 620, odnosno od 620 do 1,250 μg/mL (Soares i sur., 2012).

Učinak etanolnog ekstrakta korijandrovog ploda ispitan je na crijevnim trakavicama (*Hymenolepis nana*) usporedno s niklozamidom. Nikozamid pri koncentraciji 1000 mg/mL paralizirao je i usmrtio trakavice unutar 5 min, dok je ekstrakt korijandrova ploda pri istoj koncentraciji djelovao unutar 30 min (Hosseinzadeh i sur., 2016).

Istraživana je primjena korijandrova eteričnog ulja i alifatskih aldehida sadržanih u eteričnom ulju na vrstu *Leishmania donovani*. Pokazano je da eterično ulje *C. sativum* inhibira rast *L. donovani* s IC_{50} 26.58 ± 6.11 μg/mL. Alifatski aldehidi izolirani iz eteričnog ulja korijandra također su pokazali inhibicijsko djelovanje na rast *L. donovani* (Donega i sur., 2014).

Eterično ulje i ekstrakti (metanolni i etanolni) korijandra inhibiraju rast *E. coli*, a ekstrakti ispitivani disk difuzijskom metodom su pokazali veću antibakterijsku aktivnost od rifaksimina. Ovi rezultati sugeriraju mogući mehanizam (antibakterijska akitvnost) kojim eterično ulje korijandra pokazuje učinkovitost u liječenju sindroma iritabilnog crijeva (Thompson i sur., 2013).

Ispitan je učinak eteričnog ulja korijadra u liječenju vaginalnih infekcija. Antimikrobna aktivnost je određivana disk difuzijskom metodom i metodom mikrodilucije naspram sojeva bakterija: *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. aureus* i *Enterococcus* sp., te 2 soja gljivice *C. albicans*. Potvrđena je dobra antimikrobmna aktivnost korijandrova eterična ulja (MIC 0,4 - 45,4 μL/mL) naspram gotovo svih ispitanih bakterija, osim multirezsitetnih *Enterococcus* sp. i *Proteus* sp. (Bogavac i sur., 2015).

Istraživanja biološkog učinka eteričnog ulja na ljudskim stanicama su malobrojna. Jedno istraživanje rađeno je na humanim dermalnim fibroblastima stimuliranim proupalinim faktorima. Eterično ulje korijandra pokazalo je antiinflamatorno djelovanje te pozitivan učinak na zacjeljivanja rana (Han i sur., 2017). Heksanski i metanolni ekstrakt kako sirovih, tako i pečenih plodova korijandra pokazalo je antioksidativnu i protuupalnu aktivnost i inhibirao rast humanih tumorskih stanica karcinoma želuca (AGS), prostate (LNCaP i DU-145), kolona (HCT-116), dojke (MCF-7) i pluća (NCI-H460) za 4-34% (Zhang i sur., 2015).

***In vivo* istraživanja**

Učinak metanolnog ekstrakta ploda korijandra na aterosklerozu ispitan je na štakorima koji su bili podvrgnutu dijeti s viokim utjelom kolesterola. Navedena prehrana je rezultirala povišenim lipidnim parametrima, povećanom oksidacijom LDL-a te formiranjem plakova. Suplemntacija

s 200 mg/kg ekstrakta ploda korijandra u periodu od 8 tjedana umanjila je negativne posljedice prehrane s visokim udjelom kolesterola (Patel i sur., 2013).

Jedno je istraživanje provedeno kako bi se analizirao potencijalni anksiolitički, antidepresivni i antioksidacijski potencijal inhaliranog hlapljivog ulja izolirano iz ploda *Coriandrum sativum* var. *microcarpum* na β-amiloidnom (1-42) modelu Alzheimerove bolesti. Anksiolitičko i antidepresivno djelovanje proučavano je pomoću testa križnog labirinta (eng. elevated plus-maze) i testa prisilnog plivanja (*eng*. forced swimming test). Štakori u skupini tretiranih β-amiloidom (1-42) pokazali su sljedeće: smanjenje lokomotornih aktivnosti i vremena te broja ulazaka u otvoreni krak u testu križnog labirinta, kao i lošije rezultate u testu prisilnog plivanja. Izlaganje korijandrovu ulju značajno je poboljšalo ove parametre, sugerirajući anksiolitičko i antidepresivno djelovanje. Štoviše, korijandrovo hlapljivo ulje smanjilo je aktivnost katalaze i povećalo razine glutationa u hipokampusu (Cioanca i sur., 2014).

U ranije spomenutom istraživanju djelotvornosti ekstrakta ploda korijandra u usporedbi s niklozamidom u terapiji infekcije *Hymenolepis nana* (Hosseinzadeh i sur., 2016), ispitan je i učinak na miševma. Niklozamid je u dozi od 50 mg/kg tjelesne mase nakon 11 dana doveo do potpunog nestanka jajašaca *Hymenolepis nana* dok je alkoholni ekstrakt korijandrova ploda u dozi od 500 i 750 mg/kg taj učinak postigao nakon 15 dana.

Plodovi korijandra se tradicionalno koriste u liječenju dijabetesa, stoga je provedeno istraživanje kojim se ispitivalo kako plod korijandra utječe na razinu glukoze i inzulina u krvi te hoće li primjena plodova smanjiti oksidativni stres u bubrezima štakora oboljelih od dijabetesa. Uvođenje usitnjenog ploda u prehranu (10 g/100 g hrane) dovelo je sniženja razine glukoze u krvi i povećanja razine inzulina. Zanimljivo je da dodatak korijandrova ploda u prehranu nije samo inhibirao procese peroksidacije, već je i reaktivirao antioksidativne enzime. Plodovi su također pokazali sposobnost hvatanja superoksidnih i hidroksilnih radikala. Također, kod dijabetički štakora uočeno je degeneriranje β-Langerhansovih stanica, a kod onih koji su dobivali korijandrovo sjeme, taj je proces bio reduciran (Deepa i Anuradha, 2011).

Kliničke studije

Antimikrobni učinak eteričnog ulja korijandra te njegova ponošljivost na koži ispitani su na kliničkim izolatima i na 40 dobrovoljaca. Antimikrobna aktivnost eteričnog ulja ispitana je standardiziranim mikrodilucijskim testom te je dokazana je dobra antibakterijska aktivnost naspram većine sojeva uključujući *Streptococcus pyogenes* i naspram meticilin rezistetnog

Staphylococcus aureus (MRSA) sa srednjom minimalnom inhibitornom koncentracijom 0,04, odnosno 0,25% V/V. Osjetljivost kože na kremu i losion s 0.5% i 1,0% eteričnog ulja korijandra je ispitivano na 40 zdravih dobrovoljaca koristeći okluzivni epikutani test pri čemu nije zabilježena iritacija kože. Zbog njegove aktivnosti naspram *S. aureus* i MRSA, eterično ulje korijandra moglo bi biti korisno kao antiseptik kako bi se prevenirale infekcije kože uzrokovane Gram-pozitivnim infekcijama (Casetti i sur., 2012).

Randomizirana, placebom kontrolirana, dvostruko slijepa studija provedena je kako bi se ispitao učinak korijandrova eterična ulja na eritem izazvan UVB-zračenjem. Studija je provedena na 40 dobrovoljaca a ispitivana područja na leđima su iritirana s 1,5 puta većim zračenjem od minimalne doze UVB zračena koja uzrokuje eritem. Posljedično, ispitivana područja su tretirana pod okluzijom u trajanju 48 sati s lipolosionom koji je sadržavao 0,5%, odnosno 1,0% eteričnog ulja korijandra. Hidrokortizon (1,0%) i betametazon valerat (0,1%) u podlozi služili su kao pozitvna kontrola. Podloga je služila kao placebo. U usporedbi s placebom, eterično ulje korijandra značajnio je smanjilo eritem uzrokovan UVB zračenjem, iako nije bilo učinkovito kao hidrokortizon. Obje ispitivane koncentracije eteričnog ulja korijandra nisu dovele do iritacije kože (Reuter i sur., 2008)

Proučvana je učinkovitost i sigurnost primjene masti s 6% korijandrova ulja u liječenju atletskog stopala na 40 osoba (srednja dob 52,5 godina, 60% muškarci). Ispitivani pripravak i placebo kontrola su primijenjivani dva puta na dan na zahvaćena područja tijekom 28 dana. Poboljšanje simptoma u skupini koja je primjenjivala 6% korijandrovo ulje je uočeno tijekom cijelog perioda (Beikert i sur., 2013).

Toksikološka istraživanja

Korijandrovo eterično ulje, kao i sam plod, može izazvati alergijske reakcije, no one su ipak rijetke. Smatra se da su za alergije odgovorni monoterpeni (linaol i limonen) (Kuštrak, 2005.)

5. ZAKLJUČAK

Kvalitativnom analizom komercijalno dostupnih biljnih droga provedenom metodom tankoslojne kromatografije potvrđen je njihov identitet, te nisu zapažene sastavnice koje ne odgovaraju sastavu biljnih droga. Određivanjem sadržaja eteričnog ulja metodom destilacije pomoću vodene pare ustanovljeno je da samo plod korijandra ima odgovarajući sadržaj eteričnog ulja, odnosno odgovara zahtjevu Europske farmakopeje za minimalni sadržaj eteričnog ulja. S obzirom da su ove biljne droge i pripravci koji ih sadrže u RH registrirani kao dodaci prehrani, oni ne podliježu provjeri kakvoće kao što je to slučaj kod biljnih lijekova. Eterična ulja smjesa su hlapljivih sastavnica, te je stoga može doći do gubitka sadržaja eteričnog ulja tijekom skladištenja, a moguće je da već izvorni biljni materijal nije bio farmakopejske kakvoće.

Biljne droge, kao i eterična ulja anisa, kima, komorača i korijandra dugi se niz godina koriste u prehrani ljudi diljem svijeta, a svoju farmaceutsku primjenu poglavito nalaze u suzbijanju dispeptičkih tegoba, meteorizma te respiratorinih infekcija, no novija istraživanja ukazuju na njihovu potencijalnu primjenu kod kožnih i vaginalnih infekcija, crijevnih infekcija, dijareje, hiperglikemije, kolitisa, anksioznosti i dismenoreje. Valja naglasiti da je najveći broj istraživanja napravljen na *in vitro* i *in vivo* modelima te kako nedostaje kliničkih studija, a potreban je i veći broj *in vivo* studija koje bi ustanovile točan mehanizam djelovanja ovih biljnih droga i njihovih sastavnica.

6. LITERATURA

Aburjai T, Darwish RM, AL-Khalil S, Mahafzah A, Al-Abbadi A. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of Pseudomonas aeruginosa. *J Ethnopharmacol*, 2001, 76, 39-44.

Al-Essa MK, Shafagoj YA, Mohammed FI and Afifi FU. Relaxant effect of ethanol extract of Carum carvi on dispersed intestinal smooth muscle cells of the guinea pig. *Pharm Biol*, 2010, 48, 76-80.

Alexandrovich I, Rakovitskaya O, Kolmo E, Sidorova, T. Shushunov S. The effect of fennel (Foeniculum vulgare) seed oil emulsion in infantile colic: a randomized, placebo-controlled study. *Altern Ther Health Med*, 2003, 9, 58-61.

Al-Harbi MM, Quershi S, Raza M, Ahmed MM, Giangreco AB, Shah AH. Influence of anethole treatment on the tomour induced by Ehrlich ascites carcinoma cells in paw of Swiss albino mice. *Eur J Cancer Prev*, 1995, 4, 307-318.

Anisi Fructus, B.P. Anise Fruit., https://www.henriettes-herb.com, pristupljeno 15. 6. 2018.

Baananou S, Bagdonaite E, Marongiu B, Piras A, Porcedda S, Falconieri D et al. Extraction of the volatile oil from Carum carvi of Tunisia and Lithuania by supercritical carbon dioxide: chemical composition and antiulcerogenic activity. *Nat Prod Res*, 2013, 27, 2132-2136.

Beikert FC, Anastasiadou Z, Fritzen B, Frank U, Augustin M. Topical treatment of tinea pedis using 6% coriander oil in unguentum leniens: a randomized, controlled, comparative pilot study. *Dermatology*, 2013, 226, 47-51.

Bogavac M, Karaman M, Janjušević Lj, Sudji J, Radovanović B, Novaković Z, Simeunović J, Božin B. Alternative treatment of vaginal infections – in vitro antimicrobial and toxic effects of Coriandrum sativum L. and Thymus vulgaris L. essential oils. *J Appl Microbiol*, 2015, 119, 697-710.

Boskabady MH, Ramazani-Assari M. Relaxant effect of Pimpinella anisum on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharmacol*, 2001, 74, 83-88.

Bristol DW. NTP 3-month toxicity studies of estragole (CAS No. 140-67-0) administered by gavage to 497 F344/N rats and B6C3F1 mice. Toxic Rep Ser, 2011, 82, 1-111.

Buechi S, Vogelin R, von Eiff MM, Ramos M, Melzer J. Open trial to assess aspects of safety and efficacy of a combined herbal cough syrup with ivy and thyme. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd*, 2005, 12, 328-332.

Casetti F, Bartelke S, Biehler K, Augustin M, Schempp CM, Frank U. Antimicrobial activity against bacteria with dermatological relevance and skin tolerance of the essential oil from Coriandrum sativum L. fruits. *Phytother Res*, 2012, 420-444.

Chainy GBN, Manna SK, Chaturvedi, Aggarwal BB. Anethole bloks both early and late cellular responses transduced by tumor necrosis factor: effect on NF-κB, AP-1, JNK, MAPKK and apoptosis. *Oncogene*, 2000, 19, 2943-2950.

Cioanca O, Hritcu L, Mihasan M, Trifan A, Hancianu M. Inhalation of coriander volatile oil increased anxiolytic-antidepressant-like behaviors and decreased oxidative status in beta-amyloid (1-42) rat model of Alzheimer's disease. *Physiol Behav*, 2014, 131, 68-74.

Deepa B, Anuradha CV. Antioxidant potential of Coriandrum sativum L. seed extract. Indian *J Exp Biol*, 2011, 1, 30-38.

De Sousa DP, de Farias Nobrega FF and de Almeida RN. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. *Chirality*, 2007, 19, 264-268.

Dhar SK. Anti-fertility activity and hormonal profile of trans-anethole in rats. *J Physiol Pharamcol*, 1995, 39, 63-67.

Donega MA, Mello SC, Moraes RM, Jain SK, Tekwani BL, Cantrell CL. Pharmacological activities of cilantro's aliphatic aldehydes against Leishmania donovani. *Planta Med*, 2014, 80, 1706-1711.

Drinkwater NR, Miller EC, Miller JA, Pitot HC. Hepatocarcinogenicity of estragole (1-allyl-4-methoxybenzene) and 1'-hydroxyestragole in the mouse and mutagenicity of 1'-acetoxyestragole in bacteria. *J Natl Cancer Inst*, 1976, 57, 1323-1331.

Eddouks M, Lemhadri A and Michel JB. Caraway and caper: potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 2004, 94, 143-148.

Ehrendorfer M. Botanika – sistematika, evolucija i geobotanika. Zagreb, Školska knjiga, 1978, str. 341-342.

El Bardai S, Lyoussi B, Wibo M, Morel N. Pharmacological evidence of hypotensive activity of Marrubium vulgare and Foeniculum vulgare in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*, 2001, 23, 329-343.

EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). European Pharmacopoeia, 8. izd., Strasbourg: Council of Europe, 2013, str. 1220.

EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). European Pharmacopoeia, 9. izd., Strasbourg: Council of Europe, 2018, str. 1248-1250, 1305-1306, 1329-1330, 1353.

ESCOP Monoographs 2. Carvi fructus – caraway fruit. European Scientific Cooperative on Phytotherapy, editor. Thieme, Stuttgart 2003, str. 64-69.

European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on the safety assessment of carvone considering all sources of exposure. *EFSA Journal*, 2014, 12, 3806.

Fricke G, Hoyer H, Wermeter R, Paulus H. Einfluß lipophiler Stoffe auf de mikrobiologische Hemmwirkung von Aromaextrakten am Biesoile von Staphylococcus aureus. *Arch Lebensmittelhyg*, 1998, 49, 107-111.

Ghelardini C, Galeotii N, Mazzanti G. Local anaesthetic activity of monoterpenes and phenylpropanes of essnetial oils. *Planta Med*, 2001, 67, 564-566.

Goerg KJ i Spilker T. Effect of peppermint oil and caraway oil on gastrointestinal motility in healthy volunteers: a pharmacodynamic study using simultaneous determination of gastric and gall-bladder emptying and orocaecal transit time. *Aliment Pharmacol Ther*, 2003, 17, 445-451.

Guérin JC, Réveillère HP. Antifungal activity of plant extracts used therapeutically. II. Study of 40 extracts on 9 fungal strains. *Ann Pharm Fr*, 1985, 43, 77-81.

Gülçin I, Oktay M, Kireçci E, Irfan Küfrevioğlu Ö. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts. *Food Chem*, 2003, 83, 371-382.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Applied Microbial*, 1999, 86, 985-990.

Han X, Beaumont C, Stevens N. Chemical composition analysis and in vitro biological activities of ten essential oils in human skin cells. *Biochim Open*, 2017, 5, 1-7.

Heinle H, Hagelauer D, Pascht U, Kelber O and Weiser D. Intestinal spasmolytic effects of STW 5 (Iberogast) and its components. *Phytomedicine*, 2006, 13, 75-79.

Higashimoto M, Purintrapiban J, Kataoka K, Kinouchi T, Vinitketkumnuen U, Akimoto S i sur. Mutagenicity and antimutagenicity of extracts of three spices and a medicinal plant in Thailand. *Mutat Res*, 1993, 303, 135-142.

Hosseinzadeh S, Ghalesefidi MJ, Azami M, Mohaghegh MA, Hejazi SH, Ghomashlooyan M. In vitro and in vivo anthelmintic activity of seed extract of Coriandrum sativum compared to Niclosamid against Hymenolepis nana infection. *J Parasit Dis*, 2016, 4, 1307-1310.

Ishidate M, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuoka A. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol*, 1984.

Jahromi BN, Tartifizadeh A, Knabnadideh S. Comparison of fennel and mefenamic acid for the treatment of primary dysmenorrhea. *Int J Gynaecol Obstet*, 2003, 80, 153-157.

Keshavarz A, Minaiyan M, Ghannadi A and Mahzouni P. Effects of Carum carvi L. (Caraway) extract and essential oil on TNBS-induced colitis in rats. *Res Pharm Sci*, 2013, 8, 1-8.

Khayyal MT, Seif-El-Nasr M, El-Ghazaly MA, Okpanyi SN, Kelber O and Weiser D. Mechanisms involved in the gastro-protective effect of STW 5 (Iberogast) and its components against ulcers and rebound acidity. *Phytomedicine*, 2006, 13, 56-66.

Kuštrak D. Farmakognozija, Fitofarmacija. Zagreb, Golden marketing – Tehnička knjiga, 2005, str. 226, 254, 257-258, 261, 264.

Lahlou S, Tahraoui A, Israili Z and Lyoussi B. Diuretic activity of the aqueous extracts of Carum carvi and Tanacetum vulgare in normal rats. *J Ethnopharmacol*, 2007, 110, 458-463.

Lemhadri A, Hajji L, Michel JB and Eddouks M. Cholesterol and triglycerides lowering activities ofcaraway fruits in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 2006, 321-326.

Lin FSD. Trans-anethole. In: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series 28. Geneva, 1991, 135-152.

Malini T, Vanithakumari G, Megala N, Anusya S, Devi K, Elango V. Effect of Foeniculum vulgare Mill. seed extract on the genital organs of male and female rats. *J Physiol Pharmacol*, 1985, 29, 21-26.

Marcus C, Lichtenstein EP. Interactions of naturally occuring food plant components with insecticides and pentobarbital in rats and mice. *J Agric Food Chem*, 1982, 30, 563-568.

Mascolo N, Autore G, Capasso F, Menghini A, Fasulo MP. Biological screening of Italian medicinal plants for anti-inflammatory activity. *Phytother Res*, 1987, 1, 28-31.

Micklefield G, Jung O, Greving I and May B. Effects of intraduodenal application of peppermint oil (WS(R) 1340) and caraway oil (WS(R) 1520) on gastroduodenal motility in healthy volunteers. *Phytother Res*, 2003, 17, 135-140.

Morimoto I, Watanabe F, Osawa T, Okitsu T, Kada T. Mutagenicity screening of crude drugs with Bacillus subtilis rec-assay and Salmonella/microsome reversion assay. *Mutat Res*, 1982, 97, 81-102.

Müller-Limmroth W, Fröhlich H-H. Wirkungsnachweis einiger phytotherapeutischer Expektorantien auf den mukoziliaren Transport. *Fortschr Med*, 1980, 98, 95-101.

Oil of anise, https://toxnet.nlm.nih.gov/index.html, pristupljeno 6. 3. 2018.

Opdyke DLL Monographs on fragrance raw materials: fennel oil. *Food Cosmet Toxicol*, 1974, 12, 879-880.

Ostad SN, Khakinegad B, Sabzevari O. Evaluation of teratogenicity of fennel essential oil (FEO) on the rat embryo limb buds culture. *Toxicol In Vitro*, 2004, 18, 623-627.

Ostad SN, Shariffzadeh M, Soodi M. Evaluation of toxicity of Foeniculum vulgare variety dulce and its LD50. *Barij Essence Pamphlet*, 2000, 1, 24-26.

Ostad SN, Soodi M, Shariffzadeh M, Khorshidi N, Marzban H. The effect of fennel essential oil on uterine contraction as a model for dysmenorrhea; pharmacology and toxicology study. *J Ethnopharmacol*, 2001, 76, 299-304.

Ozbek H, Ugras S, Dulger H, Bayram I, Tunur I, Ozturk G, Ozturk A. Hepatoprotective effect of Foeniculum vulgare essential oil. *Fitoterapia*, 2003, 74, 317-319.

Paini A, Punt A, Scholz G, Gremaud E, Spenkelink B, Alink G, Schilter B, van Bladeren PJ, Rietjens IM. 547 In vivo validation of DNA adduct formation by estragole in rats predicted by physiologically based 548 biodynamic modelling. *Mutagenesis*, 2012, 27, 653-663.

Patel D, Desai S, Gajaria T, Devkar R, Ramachandran AV. Coriandrum sativum L. seed extract mitigates lipotoxicity in RAW 264.7 cells and prevents atherogenic changes in rats. *EXCLI J*, 2013, 12, 313-334.

Public statement on the use of herbal medicinal products containing estragole, http://www.ema.europa.eu, pristupljeno 19.8.2018.

Rahfeld B. Mikroskopischer Farbatlas pflanzlicher Drogen. Heidelberg, Springer, 2009, str.168,176,182,184.

Reuter J, Huyke C, Casetti F, Theek C, Frank U, Augustin M, Schempp C. Anti-inflammatory potential of a lipolotion containing coriander oil in the ultraviolet erythema test. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2008, 6, 847-851.

Ruberto G, Barata MT, Deans SG, Dorman HJD. Antioxidant and antimicrobal activity of Foeniculum vulgare and Chritmum maritimum essential oils. *Planta Med*, 2000, 66, 687-693.

Saghir MR, Sadiq S, Nayak S and Tahir MU. Hypolipidemic effect of aqueous extract of Carum carvi (black Zeera) seeds in diet induced hyperlipidemic rats. *Pak J Pharm Sci*, 2012, 25, 333-337.

Savino F, Cresi F, Castagno E, Silvestro L, Oggero R. A randomized double-blind placebo-controlled trial of a standardized extract of Matricariae recutita, Foeniculum vulgare and Melissa officinalis (ColiMil) in the treatment of breastfed colicky infants. *Phytother Res*, 2005, 19, 335-340.

Schemann M, Michel K, Zeller F, Hohenester B and Ruhl A. Region-specific effects of STW 5 (Iberogast) and its components in gastric fundus, corpus and antrum. *Phytomedicine*, 2006, 13, 90-99.

Shah AH, Qureshi S, Ageel AM. Toxicity studies in mice of ethanol extracts of Foeniculum vulgare fruit and Ruta chalepensis aerial parts. *J Ethnopharmacol*, 1991, 34, 167-72.

Shashikanth KN, Hosono A. In vitro mutagenicity of tropical spices to streptomycindependent strains of Salmonella typhimurium TA 98. *Agric Biol Chem*, 1986, 50, 2947-2948.

Sibaev A, Yuece B, Kelber O, Weiser D, Schirra J, Goke B et al. STW 5 (Iberogast) and its individual herbal components modulate intestinal electrophysiology of mice. *Phytomedicine*, 2006, 13, 80-89.

Simmen U, Kelber O, Okpanyi SN, Jaeggi R, Bueter B and Weiser D. Binding of STW 5 (Iberogast) and its components to intestinal 5-HT, muscarinic M3, and opioid receptors. *Phytomedicine*, 2006, 13, 51-55.

Soares BV, Morais SM, dos Santos Fontenelle RO, Queiroz VA, Vila-Nova NS, Pereira CM, Brito ES, Neto MA, Brito EH, Cavalcante CS, Castelo-Branco DS, Rocha MF. Antifungal activity, toxicity and chemical composition of the essential oil of Coriandrum sativum L. fruits. *Molecules*, 2012, 17, 8439-8448.

Syed M, Khalid MR, Caudhary FM, Bhatty MK. Antimicrobial acticity of essential oilds of the Umbelliferae family. Part V. Carum carvi, Petroselinum crispum and Dorema ammoniacum oils. *Pakistan J Sci Ind Res*, 1987, 30, 106-110.

Teissedre PL, Waterhouse AL. Inhibition of oxidation of human Low-Density Lipoproteins by phenolic substances in different essential oil varieties. *J Agric Food Chem*, 2000, 48, 3801-3805.

Thakur S, Bawara B, Dubey A, Nandini D, Chauhan NS and Saraf DK. Effect of Carum carvi and Curcuma longa on hormonal and reproductive parameters of female rats. Phytomedicine, 2009, 1, 31-38.

Thompson A, Meah D, Ahmed N, Conniff-Jenkins R, Chileshe E, Phillips CO, Claypole TC, Forman DW, Row PE. Comparison of the antibacterial activity of essential oils and extracts of medicinal and culinary herbs to investigate potential new treatments for irritable bowel syndrome. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13, 338.

Vasudevan K, Vembar S, Veeraraghavan K, Haranth PSRK. Influence of intragastric perfusion of aqueous spice extracts on acid secretion in anesthetized albino rats. *Indian J Gastroenterol*, 2000, 19, 53-56.

Von Skramlik E. Über die Giftigkeit und Verträglichkeit von ätherischen Ölen. *Pharmazie,* 1959, 14, 435-445.

Vladimir-Knežević S. *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch – sastav eteričnog ulja i biološki učinci, (Doktorska disertacija), Zagreb:Farmaceutsko-biokemijski fakultet; 1998. str. 6-16.

Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis – A Thin layer Chromatography atlas. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2009, str. 168, 176.

Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Stuttgart, Medharm, 2004, str. 42-43, 116, 149, 212-213.

Weizman Z, Alkrinawi S, Goldfarb D, Biltran C. Efficacy of herbal tea preparation in infantile colic. *J. Pediatric*, 1993, 22, 650-652.

Wiseman RW, Fennell TR, Miller JA, Miller EC. Further characterization of the DNA adducts formed by electrophilic esters of the hepatocarcinogen 1'-hydroxysafrole and 1'-hydroxyestragole in vitro and in mouse liver in vivo, including new adducts at C-8 and N-7 of guanine residues. *Cancer Res* , 1985, 45, 3096-3105.

Yamamoto H, Mizutani T, Nomura H. Studies on the mutagenicity of crude drug extracts. I. *Yakugaku Zasshi*, 1982,102, 596-601.

Zhang CR, Dissanayake AA, Kevseroğlu K, Nair MG. Evaluation of coriander spice as a functional food by using in vitro bioassays. *Food Chem,* 2015, 167, 24-29.

Živković R. Prirodno liječenje probavnih organa ljekovitim biljem i dijetom. Zagreb, Školska knjiga, 1997, str. 280-281.

7. SAŽETAK/ SUMMARY

U okviru ovog diplomskog rada provedena je kvalitativna analiza biljnih droga Anisi fructus, Foeniculi fructus, Carvi fructus i Coriandri fructus te iz njih izoliranih eteričnih ulja. Kvalitativna analiza provedena je metodom tankoslojne kromatografije kojom je potvrđen identitet biljnih droga i eteričnih ulja. Metodom destilacije pomoću vodene pare određen je sadržaj eteričnih ulja u navedenim drogama pri čemu je samo droga Coriandri fructus odgovarala zahtjevu Europske farmakopeje.

Dan je pregled pretkliničkih i kliničkih istraživanja odabranih biljnih droga i iz njih izoliranih eteričnih ulja te su navedene i njihove toksikološke značajke. Dobiveni podaci daju uvid u opravdanost primjene, sigurnosni profil te u nove mogućnosti primjene navedenih droga.

This thesis summarizes the results of the qualitative analysis of the following herbal drugs, Anisi fructus, Foeniculi dulcis fructus, Carvi fructus and Coriandri fructus, as well as their essential oils which were isolated by hydrodistillation. The qualitative analysis of the above-mentioned herbal drugs was carried out by thin-layer chromatography, thus confirming the identity of the herbals drugs and their essential oils. According to the demands of the European Pharmacopoeia, the hydrodistillation method demonstrated insufficient essential oil content in all fruits with the exception of Coriandri fructus.

An overview of the preclinical and clinical studies on selected herbal drugs and their essential oils, as well as their toxicological properties, is also given in this thesis. The collected data give insight into the justified application and safety profile of the above-mentioned herbal drugs, as well as new possibilities of their application.

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmakognoziju
Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ODABRANE BILJNE DROGE PORODICE APIACEAE

Lara Mihić

SAŽETAK

U okviru ovog diplomskog rada provedena je kvalitativna analiza biljnih droga Anisi fructus, Foeniculi fructus, Carvi fructus i Coriandri fructus te iz njih izoliranih eteričnih ulja. Kvalitativna analiza provedena je metodom tankoslojne kromatografije kojom je potvrđen identitet biljnih droga i eteričnih ulja. Metodom destilacije pomoću vodene pare određen je sadržaj eteričnih ulja u navedenim drogama pri čemu je samo droga Coriandri fructus odgovarala zahtjevu Europske farmakopeje.
Dan je pregled pretkliničkih i kliničkih istraživanja odabranih biljnih droga te iz njih izoliranih eteričnih ulja te su navedene i njihove toksikološke značajke. Dobiveni podaci daju uvid u opravdanost primjene, sigurnosni profil te u nove mogućnosti primjene navedenih droga.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 51 stranicu, 14 slika i 84 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Porodica Apiaceae, tankoslojna kromatografija, destilacija, eterična ulja

Mentor: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Marija Kindl, *viša asistentica-poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Višnja Drinovac Vlah, *viša asistentica-poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: kolovoz 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacognosy
Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

SELECTED HERBAL DRUGS OF FAMILY APICAEAE

Lara Mihić

SUMMARY

This thesis summarizes the results of the qualitative analysis of the following herbal drugs, Anisi fructus, Foeniculi dulcis fructus, Carvi fructus and Coriandri fructus, as well as their essential oils which were isolated by hydrodistillation. The qualitative analysis of the above-mentioned herbal drugs was carried out by thin-layer chromatography, thus confirming the identity of the herbals drugs and their essential oils. According to the demands of the European Pharmacopoeia, the hydrodistillation method demonstrated insufficient essential oil content in all fruits with the exception of Coriandri fructus.

An overview of the preclinical and clinical studies on selected herbal drugs and their essential oils, as well as their toxicological properties, is also given in this thesis. The collected data give insight into the justified application and safety profile of the above-mentioned herbal drugs, as well as new possibilities of their application.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 51 pages, 14 pictures and 84 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Apiaceae family, thin layer chromatography, distillation, essential oils

Mentor: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** Assistant Professor,University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Bival Štefan**, **Ph.D.** *Assistant Professor*,University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Marija Kindl, **Ph.D.** *Assistant-postdoctorand,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Višnja Drinovac Vlah, **Ph.D.** *Assistant-postdoctorand,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: august 2018.