

Sezonska varijabilnost sadržaja flavonoida vrste *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) s područja Lovrana

Čuić, Marija

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:163:171315>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Marija Čuić

**Sezonska varijabilnost sadržaja flavonoida
vrste *Laurus nobilis* L. (Lauraceae)
s područja Lovrana**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju *Analitika lijekova* Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen je na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova, u suradnji s Farmaceutskim botaničkim vrtom "Fran Kušan" Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Renate Jurišić Grubešić.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici, prof. dr. sc. Renati Jurišić Grubešić, na svojoj pomoći, stručnosti i strpljenju pruženoj pri izradi ovog diplomskog rada.

Posebno se zahvaljujem svojim roditeljima i braći na velikoj podršci tijekom cijelog studija kao i cijeloj široj obitelji, osobito baki, te svim prijateljima.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Botanički podatci	3
1.1.1. Porodica Lauraceae Juss. 1789. (lovori, lovorovke, lovorike).....	3
1.1.2. Rod <i>Laurus</i> L. (lovori)	5
1.1.3. Vrsta <i>Laurus nobilis</i> L. (Lauraceae) – lovor, pravi lovor, lovorika.....	6
1.1.3.1. <i>Podrijetlo i prirodna staništa lovora</i>	6
1.1.3.2. <i>Povijesne zanimljivosti o lovoru</i>	6
1.1.3.3. <i>Botanički podatci i način uzgoja lovora</i>	7
1.1.3.4. <i>Kemijski sastav lovora</i>	8
1.1.3.5. <i>Farmakološko djelovanje i upotreba lista i ploda lovora</i>	9
1.1.3.6. <i>Farmakološko djelovanje i upotreba eteričnog ulja lista lovora</i>	10
1.2. Pregled istraživanja vrste <i>Laurus nobilis</i> L.	10
1.3. Istraživane bioaktivne tvari vrste <i>Laurus nobilis</i> L.	15
1.3.1. Flavonoidi.....	15
1.3.1.1. <i>Strukturne karakteristike i klasifikacija flavonoida</i>	16
1.3.1.2. <i>Biosinteza flavonoida</i>	18
1.3.1.3. <i>Flavonoidi iz perspektive UV spektrofotometrije</i>	19
1.3.1.4. <i>Antioksidacijski potencijal flavonoida</i>	20
1.3.1.5. <i>Smještaj i biološke uloge flavonoida u biljkama</i>	20
1.3.1.6. <i>Flavonoli (3-hidroksiflavoni)</i>	21
1.3.1.7. <i>Biološki učinci i terapijski potencijal flavonoida</i>	22
1.3.1.8. <i>Djelovanje flavonoida na središnji živčani sustav</i>	25
1.3.1.9. <i>Flavonoidi u hrani</i>	27
2. OBRAZLOŽENJE TEME	29
3. MATERIJALI I METODE	30
3.1. Biljni materijal	30
3.2. Aparatura i kemikalije	30
3.3. Metode i postupci istraživanja	31
3.3.1. Kvantitativna analiza flavonoida.....	31
4. REZULTATI I RASPRAVA	35
4.1. Rezultati kvantitativne analize flavonoida lovora	35
4.2. Prikaz sezonske varijabilnosti sadržaja flavonoida lovora	38
5. ZAKLJUČCI	43
6. LITERATURA	44
7. SAŽETAK/SUMMARY	47
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD ..	49

1. UVOD

Liječenje biljem ima tisućljetnu tradiciju. Ljekovito bilje čine one biljne vrste koje u svom sastavu imaju farmakološki djelatne sastojke (npr. alkaloide, glikozide, trjeslovine, eterična ulja, smole, sluzi i dr.) pa su prikladne za primjenu kod različitih zdravstvenih poremećaja ili bolesti u obliku ljekovitih droga (Grdinić i Kremer, 2009). Pripravci od ljekovitog bilja najstariji su oblik liječenja različitih bolesti, a još i danas dvije trećine čovječanstva ljekovito bilje koristi kao glavno sredstvo liječenja. Brojni suvremeni lijekovi, neposredno ili u djelomično promijenjenom obliku, potječu od biljaka. U svijetu se koristi približno 20000 ljekovitih biljaka (Toplak Galle, 2016).

Prvi povijesni podatci o ljekovitim biljkama nađeni su u pisanim spomenicima starih naroda koji su živjeli u Egiptu, Mezopotamiji, Palestini, Grčkoj, Italiji, Indiji, Kini. Značajan napredak u liječenju ljekovitim biljem, na osnovi proučavanja i iskustva, učinila je arapska medicina (Martić, 2003). Najpoznatiji arapski stručnjak Avicenna prvi je opisao pripremu ružinog ulja destilacijom, načinom na koji su otkrivena biljna eterična ulja (Houdret, 2002). Razna putovanja morem i kopnom omogućila su otkrića dalekih zemalja i ljekovitog bilja u Americi, jugoistočnoj Aziji i dalje na Istoku. U svijetu je veoma razvijena industrijska proizvodnja lijekova od raznih sirovina. No, još i danas su u mnogim zemljama ljekovite biljke najjeftinija sirovina za izradu lijekova (Martić, 2003).

U tradicionalnoj medicini, na osnovi promatrane i vjerojatne učinkovitosti, razvilo se sporno mišljenje da je ljekovito bilje „lijek za sve“ pa je tako nazvano panacejom. Zato su indikacije za uporabu pojedinih biljaka u narodnoj medicini još i danas iznimno opsežne i nisu uvijek u skladu sa suvremenim spoznajama o njihovoj učinkovitosti i primjeni. Pri izboru lijekova za liječenje pojedinih simptoma bolesti, u prošlosti se, osobito na temelju signaturnog nauka (Theophrastus Bombastus von Hohenheim, poznatiji kao Paracelsus, 1493.-1541.: *Signatura Plantarum*), razvilo mišljenje da je priroda odabrala biljke i pojedine tvari za liječenje određenih bolesti. Primjerice, list jetrenke (koji se sastoji od tri režnja) podsjeća na oblik jetre pa se stoga koristio pri liječenju hepatičkih oboljenja. Listovi plućnjaka sa svojim pjegavim listovima tako podsjećaju na građu plućnog tkiva, a o njegovoj uporabi još i danas svjedoče latinski i narodni naziv. Očanica s cvjetovima nalik na oči, u prošlosti se između ostalog koristila i za liječenje očnih oboljenja, svakako s pravom, jer su suvremena istraživanja potvrdila njezino ljekovito djelovanje na oči. Signaturni znakovi nesumnjivo su bili važni za prenošenje medicinskih spoznaja novim generacijama, ali su nerijetko bili i pogrešni.

Suvremena fitoterapija pokušava kritički ocijeniti preneseno znanje i uskladiti ga sa znanstvenim i kliničkim istraživanjima. Dugogodišnja uporaba određenih biljaka u medicinske svrhe još nije dokaz njihove učinkovitosti, niti se tako mogu u potpunosti spoznati mogući neželjeni učinci (Toplak Galle, 2016).

U današnje vrijeme, samoliječenje i samopomoć, koji većinom uključuju primjenu biljnih tvari i proizvoda, uvelike dobivaju na značenju i imaju važnu gospodarsku ulogu, koja se, zbog velikih troškova zdravstvenog osiguranja, s vremenom i povećava. Suvremena medicina sve češće prihvaća fitoterapiju, tj. uporabu biljnih terapeutika temeljenu na znanstvenim dokazima, ponajprije pri liječenju kroničnih bolesti. Biljni pripravci, zbog složene kombinacije različitih spojeva, imaju velik potencijal bioaktivnih učinaka, a smatraju se sigurnijim za primjenu od konvencionalnih lijekova (što nije uvijek slučaj te je obvezan oprez kod primjene!). Nadalje, kod teško oboljelih osoba, najčešće se uočava potreba i želja za cjelovitom terapijom, koja uz primjenu konvencionalnih lijekova, uključuje također sredstva za samoliječenje i aktiviranje vlastita regulacijskog/imunološkog sustava, kako bi spriječili napredovanje bolesti i da za to, u određenoj mjeri, i sami budu zaslužni. Sve su to uzroci pojačanog zanimanja za uporabu ljekovitog bilja, kao i ostalih metoda prirodnog liječenja ili prevencije bolesti.

U pojedinim europskim zemljama, zakonom se propisuje sastav, označavanje, oblik, doziranje i uporaba pojedinih biljnih droga i gotovih proizvoda, prema mjerilima kao što su kvaliteta, učinkovitost i neškodljivost, a na temelju suvremenih znanstvenih spoznaja. Svi ti podatci potrebni su za registraciju biljnih lijekova. Znanstveno-savjetodavno tijelo unutar Europske unije koje se bavi navedenim područjem je ESCOP (*European Scientific Cooperative for Phytotherapy*) (Toplak Galle, 2016).

U okviru ovoga diplomskoga rada provedena je kvantitativna analiza sadržaja ukupnih flavonoida ekstrahiranih iz listova vrste *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) s područja Lovrana, sabranih u razdoblju od svibnja 2015. do travnja 2016., a u svrhu praćenja sezonske varijabilnosti sadržaja flavonoida tijekom 12 mjeseci te posljedično praćenja fitoterapijskog potencijala lovranske populacije lovora.

1.1. Botanički podatci

1.1.1. Porodica Lauraceae Juss. 1789. (lovori, lovorovke, lovorike)

Porodica Lauraceae pripada carstvu Plantae, odjeljku Spermatophyta (sjemenjače), pododjeljku Magnoliophytina ili Angiospermae (kritosjemenjače), razredu Magnoliatae ili Dicotyledoneae (dvosupnice), redu Laurales (Mägdefrau i Ehrendorfer, 1997).

Porodica obuhvaća 55 rodova s oko 2550 vrsta (Grdinić i Kremer, 2009). Uglavnom ju čine drvenaste biljke koje rastu u tropskim i suptropskim krajevima (osobito u jugoistočnoj Aziji i tropskoj Americi), a manjim dijelom ih nalazimo u umjerenom pojasu. U nekim tropskim, šumskim područjima, porodica Lauraceae spada među pet porodica koje imaju najviše prisutnih biljnih vrsta te čine takozvane lovorove šume. Kožnati, uski i ovalni listovi, kao i voštani sloj na površini lista, predstavljaju prilagodbu biljaka ove porodice na veliku količinu kiše i vlage u područjima u kojima rastu. Prema brojnosti, najveća je porodica reda Laurales te sadrži oko 85% svih vrsta reda (Nikolić, 2013).

Tablica 1. Glavne značajke porodice Lauraceae (Nikolić, 2013).

Habitus	drveće, grmlje	Andrecej	3-26
Mliječni sok	izostaje	Prašnici	Slobodni
Rukavac listova	Izostaje	Pelud	Anaperturni
Palistići	Izostaju	Plodnih listova	1/3
Pučići	Paracitne	Ginecej	Monomerni
Nodiji	Unilakularni	Sjemeni zameci	Anatropni
Ksilem	s traheidama i bez traheida	Tip embrionske vreće	Polygonum
Plastidi sitastih cijevi	P-tip ili S-tip	Flavonoli	Prisutni
Cvjetovi	dvospolni ili jedospolni, ciklički	Rasprostranjenost	pantropska, suptropska, do umjerenih područja
Ocvjeće	slobodno	Citologija	n=12

Važniji rodovi spomenute porodice su: Aniba (npr. ruža drvo - *Aniba rosaeodora*), Cinnamomum (npr. kamforovac *Cinnamomum camphora*, pravi cimetovac - *Cinnamomum verum*), Laurus (npr. lovor - *Laurus nobilis*), Litsea (npr. licea - *Litsea citrata*), Ravensara (npr. ravensara - *Ravensara aromatica*), Sassafras (npr. sasafra - *Sassafras album*) (Marković, 2005).

Rodovi porodice <i>Lauraceae</i>	<i>Actinodaphne, Adenodaphne, Aiouea, Alseodaphne, Anaueria, Aniba, Apollonias, Aspidostemon</i>
	<i>Beilschmiedia, Brassiodendron</i>
	<i>Caryodaphnopsis, Cassytha, Chlorocardium, Cinnadenia, Cinnamomum, Clinostemon, Cryptocarya</i>
	<i>Dehaasia, Dicypellium, Dodecadenia</i>
	<i>Endiandra, Endlicheria, Eusideroxylon</i>
	<i>Gamanthera</i>
	<i>Hexapora, Hypodaphnis</i>
	<i>Iteadaphne</i>
	<i>Kubitzkia</i>
	<i>Laurus, Licaria, Lindera, Litsea</i>
	<i>Mezilaurus</i>
	<i>Nectandra, Neocinnamomum, Neolitsea, Notaphoebe</i>
	<i>Ocotea</i>
	<i>Paraia, Persea, Phoebe, Phyllostemonodaphne, Pleurothyrium, Potameia, Potoxylon, Povedadaphne</i>
	<i>Ravensara, Rhodostemonodaphne</i>
<i>Sassafras, Syndiclis</i>	
<i>Triadodaphne</i>	
<i>Umbellularia, Urbanodendron</i>	
<i>Williamodendron</i>	

Slika 1. Rodovi porodice Lauraceae (Nikolić, 2013).

Fitokemijski sastav porodice Lauraceae objedinjuje benzilizokinoline, aporfirine, eterična ulja (terpenoidi, benzoati, alifenoli i dr.). Eterična ulja obično su prisutna i u relativno visokim koncentracijama. Nisu cijanogene biljke. Alkaloidi i proantocijanidini (cijanidin) su obično prisutni, dok iridiodi nisu utvrđeni. Od flavonola su prisutni obično kemferol i kvercetin. Arbutin i saponini izostaju. Zabilježena je prisutnost inulina te dokazana akumulacija aluminijska. Budući da porodicu lovora pretežito čine aromatične biljne vrste, njihovo eterično ulje može biti lokalizirano u raznim dijelovima biljke: list (lovor, ravensara), kora i grančice (cimet), drvo (ruža drvo) i plodovi (licea) (Marković, 2005).

Biljke porodice Lauraceae od velikog su ekonomskog značaja zbog eteričnih ulja te svojih nutritivnih i kemijskih karakteristika. Sasafrasovo ulje dobiva se od sasafrasa, *Sassafras albidum* (Nutt.). Ono se primjenjuje u terapiji infekcija, za ublažavanje menstrualnih tegoba, u terapiji hipertenzije, kao hipnotik, imunostimulans, insekticid te u prevenciji karcinoma. No, nužan je oprez, budući da ulje može sadržavati seskviterpen safrol koji ima dokazano kancerogeno djelovanje. Monoterpen kamfor primjenjuje se u obliku ulja iz drveta i listova vrste *Cinnamomum camphora* L. Djeluje kao antiseptik i analgetik u kremama i losionima protiv bolova. Potom, plod avokada (*Persea americana* Mill.) koji se naveliko koristi u prehrambene svrhe zbog visokog udjela proteina i masti, a niskog udjela šećera. Ukupna hranjiva vrijednost avokada je visoka. Osigurava gotovo dvostruku energiju ekvivalentne težine mesa i obilje vitamina, poput A, B, C, D i E.

List lovora (*Laurus nobilis* L.) služi kao začinska biljka u kulinarstvu kod pripreme mesnih i ribljih jela te kao ljekovita biljka u narodnoj medicini i kozmetologiji; cijela biljka ima i ukrasnu vrijednost. Kao začinska biljka znatno je zastupljen i cimet (*Cinnamomum spp.*), a mnoge druge vrste porodice Lauraceae primjenu su pronašle u drvnoj industriji ili kao insekticidi (www.britannica.com).

1.1.2. Rod *Laurus* L. (lovori)

Biljke iz roda lovora su drvenaste, vazdazelene biljke koje rastu kao drveće ili grmovi. Listovi su jednostavni, izmjenično poredani, aromatični zbog prisutnih žlijezda s eteričnim uljem. (Grdinić i Kremer, 2009).

Rod obuhvaća tri vazdazelene vrste, od kojih je *Laurus azorica* (Seub.) Franco rasprostranjena na Azorima, Kanarskom otočju, Madeiri te u Maroku, *Laurus nobilis* L. u Francuskoj, na Pirinejskom, Apeninskom i Balkanskom poluotoku, u Turskoj te na Kavkazu, te *Laurus chinensis* Blume (www.theplantlist.org).

U Republici Hrvatskoj zastupljena je samo jedna vrsta roda *Laurus*, lovor (*Laurus nobilis* L.), a rasprostranjena je uglavnom na obali Jadranskog mora (Slika 2).



Slika 2. Prikaz rasprostranjenosti vrste *Laurus nobilis* L. u Republici Hrvatskoj, Nikolić T. ur. (2015): Flora Croatica baza podataka.

1.1.3. Vrsta *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) - lovor, pravi lovor, lovorika



Slika 3. Lovor (www.botanical.com).

1.1.3.1. *Podrijetlo i prirodna staništa lovora*

Domovina lovora je Mala Azija, otkud se proširio po mnogim zemljama oko Sredozemnog mora. U Hrvatskoj je rasprostranjen u Istri, oko Opatije, na Lošinju, Rabu, Pagu, Braču, Hvaru, Visu, Pelješcu te uz gotovo cijelu južnodalmatinsku obalu. Najljepše lovorove šume nalaze se u okolici Lovrana koji je po toj biljci dobio ime. Raste pojedinačno, tako da tvori malene šume, ili u skupinama s ostalim vazdazelenim biljem, posebice u listopadnim hrastovim šumama. Staništa su mu makije i kamenjari, 300-400 metara nadmorske visine. Njegov životni vijek može biti i čitavo stoljeće (Dudaš i Venier, 2009; Grlić, 2005).

1.1.3.2. *Povijesne zanimljivosti o lovoru*

Latinsko ime dolazi od riječi *laurus* (slavljen) i *nobilis* (plemenit ili obnovljen) (Houdret, 2002).

U starom vijeku predstavljao je svetu biljku boga Apolona. Poznati su reljefi starih kovanica s likom Apolona koji na glavi nosi lovorov vijenac. Grci su lovorovim vijencem nagrađivali pobjednike na Olimpijskim igrama davne 776. god. pr. Kr., dok su liječnici u antičkoj Grčkoj iznad svojih ulaznih vrata imali lovor u plodu kao oznaku svojega znanja. Iz ovog je običaja nastao termin *baccalaureat* (lat. *bacca* – boba), koji se i danas koristi kao oznaka akademskog stupnja obrazovanja (bakalareus, sveučilišni prvostupnik). Stari Rimljani – vojskovođe,

pjesnici, pisci i dr. – kao priznanje za svoja postignuća nosili su lovorov vijenac koji je bio simbol časti i slave. Lovorovim listovima trljala su se koplja i mačevi nakon velikih pobjeda. Termin *laureat*, koji se koristi za obilježavanje postignuća u nekoj djelatnosti, također potječe od latinskog imena za rod lovor – *Laurus*. Kao iznimno popularna biljka s dugom tradicijom uporabe, lovor je našao mjesto na zastavama Dominikanske Republike i Perua, na nacionalnom amblemu Grčke, japanskoj kovanici od 10 jena, brojnim grbovima i sl. (Nikolić, 2013; Lesinger, 2006).

1.1.3.3. Botanički podatci i način uzgoja lovora



Slika 4. Vrsta *Laurus nobilis* L. (www.botanical.com).

Vrstu *Laurus nobilis* L. karakteriziraju krupniji grm ili stablo visine do 15 metara, s prsnim promjerom debla do 60 centimetara. U mladosti je kora debela glatka i siva, a kasnije hrapava i crnkasta. Listovi su zavojito raspoređeni, jednostavni, bez palistića, eliptični do duguljasti, šiljasta ili ušiljena vrha, cijela ili često valovita ruba, dugi 7-12 centimetra, široki 2,5-4,5 centimetara, kožasti, s gornje strane tamnozeleni i sjajni, s donje zeleni, goli, vrlo aromatični. Zelenkastobijeli cvjetovi široki su oko 1 centimetar, jednospolni (biljke dvodomne), s 4 listića perigona koji su pri dnu srasli, skupljeni u postrane paštite cvatove. Muški cvjetovi imaju 8-12 prašnika raspoređenih po četiri u dva ili tri kruga, a prašnice se otvaraju s dva zaklopca prema unutrašnjosti cvijeta. Pri osnovici svih ili većine prašnika nalaze se po dvije žlijezde koje izlučuju nektar (medonosna vrsta). U ženskim cvjetovima je jedan tučak i 2-4 zakržljala prašnika. U proljeće se iz čvrstih, okruglih pupova otvaraju grozdovi malih, žućkastih cvjetova, nakon čega slijede grimiznocrvene bobice. Plod je jednosjemena, kuglasta,

crnozelenkasta ili tamnoplava bobica promjera 1-1,5 centimetar koja dozrijeva u kasnu jesen. Mesnati dio ploda sadrži eterično ulje (Houdret, 2002).

U nas se mnogo uzgaja u nasadima primorskog područja kao ukrasna i začinska biljka. Najbolje raste na svježim, humusno-karbonatnim tlima, ali uspjeva i na suhim tlima. Prilično je osjetljiva na niske temperature. Razmnožava se ljeti poluzrelim reznicama (Houdret J, 2002). Listovi se obično beru u kasnu jesen, nakon dozrijevanja plodova, suše u hladu u tankom sloju, na prozračnom i toplom mjestu oko mjesec dana (Grđinić i Kremer, 2009; Grlić, 2005). Zbog dugotrajnosti sušenja, povoljnije je sušenje u sušari uz umjerenu toplinu. Budući da listovi sadrže eterično ulje, temperatura na kojoj se suši ne smije biti viša od 40 °C jer bi povećanjem topline došlo do gubitka eteričnog ulja, a time bi se umanjila kakvoća lovorova lista, odnosno aroma. Osim listova, sabiru se također plodovi, *Lauri fructus*, iz kojih se tiještenjem dobiva smjesa masnog i eteričnog ulja (Kuštrak, 2005).

Okus lista je jako aromatičan, ponešto ljut, opor i gorak, a miris jak i ugodan (Grlić, 2005).

Uporaba ove biljne vrste uglavnom se temelji na eteričnom ulju koje se kumulira u palisadnom parenhimu i mezofilu listova u posebnim okruglim stanicama - uljenicama te doseže 1-3% mase svježeg tkiva. S obzirom na sezonsku varijabilnost u produkciji eteričnog ulja, njegova najveća sinteza započinje ranim ljetom i doseže maksimum sredinom ljeta (Nikolić, 2013).

Kultivar lovorova – *Laurus nobilis* 'Aurea' – krasi zlatnožuto lišće (Houdret, 2002).

1.1.3.4. Kemijski sastav lovorova

Eterično ulje ove mediteranske biljke dobiva se destilacijom listova vodenom parom, a nakon destilacije mora odstajati oko godinu dana da bi bilo prikladno za upotrebu.

Ulje je bogato oksidima (do 45% 1,8-cineola koji predstavlja osnovni sastojak eteričnog ulja lovorova) i monoterpenolima (do 15% linalola, do 5% α -terpineola, α -terpineol acetata, eugenola, eugenol acetata, metileugenola), a sadrži i α -pinen, sabinen, felandren i druge estere i terpenoide te malu količinu vrlo aktivnih seskviterpenskikh laktona (do 2% kostunolida i dehidrokostuslaktona, artemorina, verlotorina, santamarina i rejnosina) koji mogu izazvati alergijski kontaktni dermatitis (D'Auria i Racioppi, 2015; Nikolić, 2013; Kuštrak, 2005; Marković, 2005).

Osim eteričnog ulja, u plodovima ima i masnog ulja (30%), škroba i šećera. U ulju ima glicerida palmitinske, laurinske, oleinske i linolne masne kiseline te miricidnog alkohola.

Najviše ulja ima u zrelom plodu, i to oko 1% eteričnog i oko 30% biljnog masnog ulja (Živković, 1997).

Tablica 2. Kemijski sastav i sadržaj lovorova eteričnog ulja (Kuštrak, 2005).

KEMIJSKI SASTAV I SADRŽAJ LOVOROVA ETERIČNOG ULJA – LAURI FOLII AETHEROLEUM			
Glavne sastavnice (%)	nalazišta		
	Opatija	Rijeka (Pulac)	otok Krk (Kras)
α-pinen	3,6	3,8	4,7
sabinen	8,7	10,2	10,7
1,8-cineol	32,8	30,9	33,6
linalol	7,3	8,8	4,7
terpinen-4-ol	3,5	2,7	4,6
β-kariofilen	1,6	2,2	0,7
α-terpineol	3,5	4,6	3,7
α-terpinilacetat	10,2	8,6	9,1
metil-eugenol	4,8	5,6	8,8
eugenol	3,4	3,9	2,8
Postotak eteričnog ulja u listovima	0,87	1,36	1,53

1.1.3.5. Farmakološko djelovanje i upotreba lista i ploda lovora

Pučka medicina preporučuje ga zbog stimulativnog djelovanja na organizam te u mnoge druge terapijske svrhe, poput gripoznih stanja, kašlja i prehlade, bolesti želuca, posebice kod slabog rada probavnih žlijezda i grčeva, zatim kod neuravnotežene krvne slike i povišenih masnoća, u terapiji infekcija prostate i općenito infekcija urogenitalnog trakta, bolesti živčanog sustava, različitih neuroza, depresije, stresa, nesanicice te razdražljivosti, u svrhu sprječavanja nadutosti i mučnina, proljeva i grčeva u probavnom traktu, kod tahikardije, glavobolje i migrene (Lesinger, 2006).

Također, list i plod lovora rabili su se pri gubitku apetita (anorexia) (Kuštrak, 2005).

Od listova se kuha jaki čaj koji se ulije u kadu kao kupka prije kupanja, te na taj način pomaže kod reumatskih bolova. Lagan čaj skuha se protiv grčeva u probavnim organima i mučnine u želucu, dok se iscrpina od narezanih listova u alkoholu upotrebljava kod nategnutih tetiva, uganuća, reume, itd. (Ašič, 1999).

Lovor je umjereno aktivan protiv bakterija te vrlo aktivan protiv gljivica, posebice vrsta roda *Candida*. Jak je spazmolitik, analgetik, ekspektorans.

Indiciran je za: - mišićne bolove i grčeve (dermalno),

- reumatoidni artritis, poliartritis (dermalno),

- virusne infekcije dišnog sustava (inhalacijski),
- masnu kožu i akne, gljivične infekcije kože (dermalno),
- afte (lokalno).

Dugotrajno nanošenje na kožu je kontraindicirano zbog mogućeg izazivanja alergijskih reakcija (Marković, 2005).

Lovorov list široko se primjenjuje u kulinarstvu kao mirodija i začín za jela od divljači, ribe i peradi te za juhe, umake i marinade. Samljeveni listovi lovora sastavni su dio nekih začinskih smjesa (Grlić, 2005). Njegov gorki okus djeluje kao aperitiv pa otvara tek. U Dalmaciji se suhi listovi lovora koriste kao konzervans i aromatični začín prilikom pakiranja suhog voća, posebice smokava (Živković, 1997). Lovorovo lišće također se rabi za proizvodnju alkoholnih pića i voćnih sokova, a u nekim zemljama meso se suši u dimu od lovorovih grančica (Kuštrak, 2005; Grlić, 2005).

1.1.3.6. Farmakološko djelovanje i upotreba eteričnog ulja lista lovora

Eterično ulje lovora je zelenožute boje, intenzivnog karakterističnog mirisa i aromatičnog okusa. Djeluje antiseptički. Primjenjuje se samo eksterno za masažu, protiv kožnih osipa, protiv boli u mišićima i zglobovima (reume), za smirivanje zubobolje, u aromaterapiji za inhaliranje, a još više u veterinarskoj praksi (Lesinger, 2006, Živković, 1997).

Lovor je prisutan također u industriji parfema i to u obliku ulja koje se dobiva iz listova i plodova (Ašič, 1999).

1.2. Pregled istraživanja vrste *Laurus nobilis* L.

Iako lovor većinom služi u kulinarstvu kao začín, provedena su brojna istraživanja ove biljne vrste s ciljem otkrivanja njezina fitoterapijskog potencijala. Zadovoljavajući rezultati provedenih studija poticaj su za daljnja opsežnija istraživanja.

U travnju 2018. godine objavljena je studija kojom se željelo ispitati antimikrobnu aktivnost lovora protiv bakterijske vrste *Paenibacillus larvae* te antioksidativni kapacitet dvaju ekstrakata vrste *Laurus nobilis* L. dobivenih dvjema različitim metodama. Praćena varijabla bila je minimalna inhibitorna koncentracija određivana metodom razrjeđivanja agara. Studijom je pokazano da vodeno-alkoholni ekstrakt lovora svojim antibakterijskim

učinkom uništava *Paenibacillus larvae* znatno bolje u usporedbi s eteričnim uljem, što je objašnjeno prisutnošću fenolnih spojeva poput flavonoida. Antioksidativna učinkovitost ekstrakata procijenjena je DPPH metodom, odnosno sposobnošću uklanjanja slobodnih 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil-radikala (DPPH), kojom se pokazalo da je vodeno-alkoholni ekstrakt trostruko učinkovitiji kao redukcijski agens u usporedbi s eteričnim uljem. Navedena bakerijska vrsta izaziva bolest pčela, odnosno tzv. američku gnjiloću. Također se spore spomenute bakterijske vrste mogu naći i u medu te tako ugroziti zdravlje ljudi koji konzumiraju kontaminirani med. Obećavajući rezultati ove studije predstavljaju zadovoljavajuću alternativu u kontroli američke gnjiloće te okosnicu za daljnja detaljnija istraživanja (Fernandez i sur., 2018).

U rujnu 2017. publiciran je rad u kojem je ispitana učinkovitost listova lovora primijenjenih peroralno u obliku keksa, u masenom udjelu od 3% i 6%, na postprandijalnu glikemiju, apetit, osjećaj u gastrointestinalnom traktu te okus samog keksa. Kontrola su bili keksi bez listova lovora. Glukoza u krvi te subjektivni osjećaj apetita i gastrointestinalne dobrobiti ispitivane su prije obroka te postprandijalno nakon 2 sata. Uočena je značajno reducirana glukoza u krvi primjenom keksa koji je sadržavao 6% lovorova lista u odnosu na onaj bez lovora. Kod keksa s 3% lovorova lista nije zabilježena značajnija razlika u glikemijskom odgovoru u usporedbi s kontrolom. Također su svi keksi definirani kao prihvatljivi te ispitanici nisu zabilježili nikakvu nelagodu u gastrointestinalnom traktu. Ovakvi rezultati upućuju na potencijalnu mogućnost redukcije glikemijskog odgovora konzumacijom keksa koji sadrži 6% listova lovora (Abdullah i sur., 2017).

U siječnju 2017. objavljena je studija koja je ispitivala antifungalni potencijal eteričnog ulja lovorova lista u terapiji kandidijaze. Ispitivani parametri bili su minimalna inhibitorna koncentracija (MIC), minimalna fungicidna koncentracija (MFC) te interakcija s biosintezom staničnog zida i membranskom permeabilnošću vrste *Candida spp.* Uz to su promatrani i učinci na adheziju, formiranje i redukciju biofilma vrste *Candida albicans* kroz 48 sati. Fitokemijski profil eteričnog ulja definiran je spregnutom kromatografskom tehnikom GC/MS. Kao glavna komponenta u uzorku eteričnog ulja lovorova lista detektiran je izoeugenol (53,49%). Rezultati su ukazali na raspon vrijednosti MIC i MFC između 250 µg/mL i 500 µg/mL. Također su vrijednosti MIC rasle u prisutnosti sorbitola (osmotskog agensa) te ergosterola, što ukazuje na povoljan učinak eteričnog ulja na biosintezu staničnog zida i membransku permeabilnost. Dobiveni rezultati uspoređivani su i s anifungalnim

lijekom nistatinom. Aplikacijom kroz 1 minutu, svakih 8 sati, unutar 24 sata i 48 sati, eterično ulje reduciralo je biofilm vrste *Candida albicans* bez vidljive razlike u usporedbi s nistatinom. Za izvrstan antifungalni učinak eteričnog ulja lovorova lista vjerojatno su zaslužni monoterpeni i seskviterpeni prisutni u njegovom sastavu.

Prema znanstvenim studijama, prirodni proizvodi smatraju se snažnim inhibitorima mikrobne aktivnosti kada su njihove MIC vrijednosti jednake ili manje od 500 µg/mL (Duarte i sur., 2007). Stoga se eterično ulje vrste *Laurus nobilis* L. s pravom može smatrati dostojnom alternativom konvencionalnim antifungalnim lijekovima, budući da je ulje slobodno za upotrebu te sigurno i zanemarive toksičnosti prema FDA (Peixoto i sur., 2017).

Skupina talijanskih znanstvenika je 2014. godine istraživala neuroprotektivni potencijal antioksidativnog, polifenolima obogaćenog, ekstrakta lovorovog lista. Kako je bilo pretpostavljeno da je oksidativni stres važan faktor u razvoju Alzheimerove bolesti, konkretno u stvaranju amiloidnih β-proteina i apoptoze neurona, počelo se razmatrati biljne droge s antioksidativnim svojstvima kao alternativni i valjani pristup liječenju neurodegenerativnih bolesti. Bila bi to inovativna terapija kojom bi se inhibiralo stvaranje amiloidnih β-proteina i oksidacija pomoću antiamiloidogenih i antioksidativnih biljnih droga (Pacifico i sur., 2014).

Cilj istraživanja provedenog 2013. godine bio je znanstvena procjena spojeva vrste *L. nobilis* L. na imunoglobulinom-E posredovanu preosjetljivosti tipa I *in vitro*, kod bolesti poput atopijskog dermatitisa i astme, zbog saznanja da se narodna medicina služi upravo lovorovim listom za tretman navedenih poremećaja. Promatrani parametri bili su: stabilizirajući učinak sedam sastavnica izoliranih iz lovorova lista na mastocite mjeren kroz aktivnost β-heksozaminidaze, učinak na proizvodnju interleukina 4 (IL-4) i interleukina 5 (IL-5) u ovisnosti o proliferaciji ranih pro-B stanica. Rezultati su upućivali na to da magnolialid može biti kandidat za liječenje igE-posredovanih reakcija preosjetljivosti, inhibirajući degranulaciju mastocita, proizvodnju IL-4 i proliferaciju (Lee i sur., 2013).

Godine 2013. provedena je studija kojom se željela ispitati antioksidativna učinkovitost eteričnog ulja vrste *L. nobilis* L. upotrebom pet različitih *in vitro* metoda: inhibicija hidroksilnih, superoksidnih i DPPH radikala, inhibicija vodikovog peroksida i inhibicija lipidne peroksidacije kod oboljelih od dijabetesa, budući da je utvrđena poveznica između povišene koncentracije reaktivnih kisikovih specija i obolijevanja od šećerne bolesti. U studiji je GC/GC-MS analizom utvrđena prisutnost 29 sastavnica koje čine 99,18% sastava ulja. Tri glavne sastavnice bile su: 1,8-cineol (68,82%), 1-(S)-α-pinen (6,94%), i R-(+)-limonen

(3,04%). Antioksidativna svojstva ulja i njegove tri glavne komponente evaluirane su kroz inhibiciju α -glukozidaze ili uklanjanjem takvih reaktivnih spojeva. Također je korišten test za inhibiciju α -glukozidaze za procjenu *in vitro* antidijabetičke aktivnosti ulja. Dokazano je da eterično ulje lovora pokazuje najveću inhibicijsku aktivnost protiv hidroksilnih radikala te je ustanovljeno da eterično ulje lovora inhibira α -glukozidazu preko 90% (Basak i Candan, 2013).

U veljači 2013. godine objavljena je studija kojom je ispitan je učinak različitih eksperimentalnih uvjeta na ultrazvučnu ekstrakciju fenolnih spojeva. Promatrali su se optimalni uvjeti za ekstrakciju te antioksidativna svojstva ekstrahiranih fenolnih spojeva. Najbolji uvjeti definirani su kao: 1 g biljnog uzorka s 12 mL 35% etanola te 40 min ultrazvučne ekstrakcije.

Rezultati su pokazali da se velike količine fenolnih spojeva mogu ekstrahirati iz vrste *L. nobilis* tehnologijom ultrazvučne ekstrakcije (Muniz-Marquez i sur., 2013).

U narodnoj medicini Jordana lovor se koristio kao antidijaroik te je u svrhu znanstvene procjene te biljne vrste za spomenutu primjenu provedeno istraživanje antidijaroičke aktivnosti vodenog ekstrakta lovorova lista kod štakora. Dokazana je prisutnost flavonoida, alkaloida i tanina u navedenom vodenom ekstraktu te potvrđeno inhibitorno djelovanje ekstrakta na dijareju izazvanu uljem ricinusa. Lovor djeluje na način da inhibira crijevnu tranziciju ugljena i uzrokuje značajnu, o dozi ovisnu, relaksaciju glatkih mišića crijeva štakora. Tim je radom potvrđena opravdana uporaba lovora kod različitih gastrointestinalnih tegoba, posebice dijareje (Qnais i sur., 2012).

U posljednje je vrijeme primjećen povećani interes u pronalasku prirodnih biljnih antioksidansa za upotrebu u pripremi namirnica i medicinskog materijala koji bi zamijenili sintetičke antioksidanse za koje su zabilježene brojne nuspojave, među kojima i kancerogenost. Cilj znanstvene studije objavljene u lipnju 2010. godine bio je izolirati i strukturno objasniti antioksidativne komponente iz lista lovora. 70%-tni vodeno-alkoholni ekstrakt lovorova lista pokazao je sposobnost hvatanja slobodnih 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikala. Različitim kromatografskim metodama (TLC i kolonska kromatografija) izolirana su tri aktivna spoja iz lovorova lista. Spektroskopskim i kemijskim metodama utvrđena je prisutnost flavonoidnih antioksidativnih spojeva: kemferola, kemferol-3-ramnopiranozida i kemferol-3,7-diramnopiranozida (Emam i sur., 2010).

U istraživanju provedenom 2008. godine potvrđeno je antibakterijsko djelovanje dvaju flavonoida (različitih kemferol-ramnozida), izoliranih iz ekstrakta lovorova lista i to protiv meticilin rezistentnih sojeva *Staphylococcus aureus* (MRSA) i vankomicin rezistentnih enterokoka (VRE). Također su djelovali baktericidno ili gotovo baktericidno u terapiji infekcija izazvanih vrstama *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Serratia marcescens* (Otsuka i sur., 2008).

Istraživanjem sastojaka eteričnog ulja vrsta *L. nobilis* i *L. novocanariensis* utvrđeno je da eterično ulje lovora posjeduje akaricidno djelovanje protiv vrste *Psoraptus cuniculi*. Kao glavni sastojci eteričnog ulja utvrđeni su 1,8 cineol (39,2%), α -terpinilacetat (11,3%), sabinen (10,6%) i linalol (7,4%). Koncentracijom eteričnog ulja u otopini od 10% postignut je 73%-tni mortalitet vrste *P. cuniculi*. Smanjenje koncentracije na 5% u otopini imalo je za posljedicu signifikantno smanjeni učinak za 51%, dok otopine s malim koncentracijama (2,5%, 1,25% i 0,625%) eteričnog ulja nisu pokazale akaricidni učinak (Macchioni i sur., 2006).

U rujnu 2003. objavljena je studija o antioksidativnoj aktivnosti lišća, kore i metanolnog ekstrakta ploda lovora (sirovi i odmašćeni) na razine lipidne peroksidacije u liposomima induciranim s Fe^{2+} /askorbatnim sustavom i izmjerena spektrofotometrijski pomoću TBA testa. Najznačajnija inhibicija lipidne peroksidacije dobivena je s metanolnim ekstraktima kore lovora (70,6% inhibicije s 1,0 mg sirovog ekstrakta). TLC analiza pokazala je da su ekstrakti lišća, kore i ploda lovora sadržavali flavonoide, fenolne kiseline i alkaloidne. Također je bitno dodati da su svi istraživani ekstrakti posjedovali antioksidativnu aktivnost (Simić i sur., 2003).

Studija publicirana 1997. ispitala je moguću antiulceroznu aktivnost lovorova ploda u terapiji ekperimentalnog etanolom induciranih ulkusa kod štakora. Rezultati studije ukazivali su na antiulceroznu aktivnost za koncentracije 20-40% vodenih ekstrakata kao i za uljnu frakciju (Afifi i sur., 1997).

1.3. Istraživane bioaktivne tvari vrste *Laurus nobilis* L.

1.3.1. Flavonoidi

Prirodni fenolni spojevi su skupina koja obuhvaća širok raspon biljnih metabolita kojima je zajednička karakteristika aromatski prsten u strukturi s jednim ili više hidroksilnih supstituenata. Najčešće su topljivi u vodi budući da dolaze većim dijelom u glikoziliranom obliku te su obično smješteni u vakuoli stanice. Ovi spojevi pokazuju intenzivnu apsorpcijsku vrpce u UV području spektra zahvaljujući svojoj aromatskoj strukturi.

Žuta boja prvih izoliranih flavonoida dala je naziv cijeloj skupini (lat. flavus – žut), iako u nju ubrajamo i crvenomodro obojene antocijane (Toplak Galle, 2016). Flavonoidi su zaslužni za jarko obojene laticе, listove i plodove biljaka.

Flavonoidi predstavljaju vrlo raznoliku skupinu polifenolnih sekundarnih metabolita s oko 10000 otkrivenih specija, što je čini trećom najvećom skupinom prirodnih spojeva, nakon terpenoida, s oko 30000, te alkaloida s oko 12000 različitih vrsta. Osim u nadzemnim biljnim dijelovima, nalaze se i raznom voću, povrću, sjemenkama, biljnim čajevima i vinima.

Kao sekundarni metaboliti nemaju izravnog utjecaja na rast i razvoj biljaka, međutim imaju različite biološke funkcije kao obrambeni i signalni spojevi u reprodukciji, patogenezi i simbiozi (Toplak Galle, 2005).

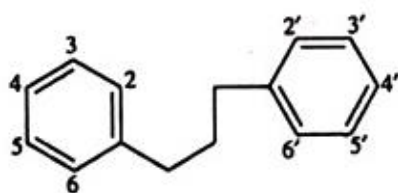
Naime, biljke su evolucijom stekle svojstvo produkcije flavonoida kako bi se zaštitile od gljivičnih parazita, biljojeda, patogena te UV zračenja. Također, mnoge studije pokazuju da flavonoidi sadrže i biološku i farmakološku aktivnost poput antioksidativne, citotoksične, antikancerogene, antivirusne, antibakterijske, antiparazitske, protuupalne, antialergijske, antitrombotske, kardioprotektivne, hepatoprotektivne te neuroprotektivne (Justino, 2017).

Flavonoidi nalaze primjenu i u sistemskoj botanici zbog relativne lakoće njihove izolacije, dobrog očuvanja u herbarijskom materijalu, male količine potrebnog tkiva za analizu te zato što su stabilni tijekom vremena, genetski kontrolirani i visoko specifični. U sistemskoj botanici primjenjuju se za utvrđivanje srodstvenih odnosa između blisko srodnih vrsta (Nikolić, 2013).

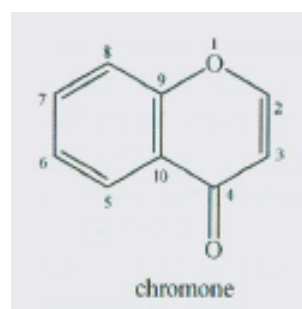
1.3.1.1. Strukturne karakteristike i klasifikacija flavonoida

Svim je flavonoidima zajednička temeljna struktura od 15 ugljikovih atoma (C-15) podijeljenih u karakteristični skelet u formi C₆-C₃-C₆, odnosno dva aromatska prstena (A i B) povezana trima ugljikovim atomima (Slika 5) (Justino, 2017; www.biologydiscussion.com).

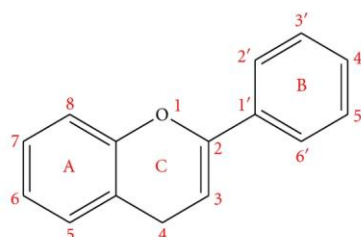
Navedeni su spojevi derivati benzopirana, 4H-kromena, kojemu benzenski i piranski prsten daju bicikličku strukturu (Slika 6). Kod većine je flavonoida središnji fragment povezan s kisikom u šesteročlani heterociklički prsten (Slika 7).



Slika 5. Struktura osnovnog kostura flavonoida.



Slika 6. Benzopiran (4H-kromen).



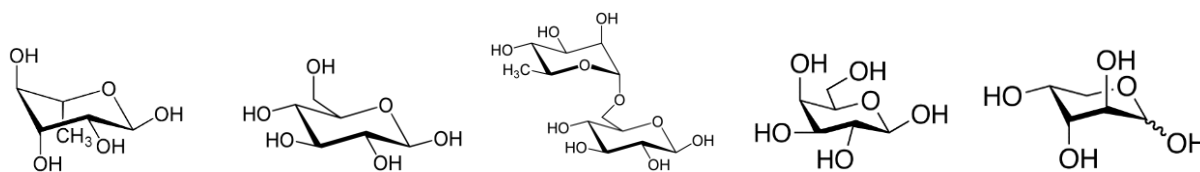
Slika 7. Heterociklička struktura flavonoida.

Bioraspoloživost, metabolizam i biološka aktivnost flavonoida ovise o konfiguraciji, ukupnom broju hidroksilnih skupina i supstituciji funkcionalnih skupina unutar strukture. Mogu biti hidrofilni i lipofilni (metoksilirani) pa se sukladno tome nalaze u različitim staničnim odjeljcima. Strukturna raznolikost flavonoida rezultat je brojnih modifikacija osnovne skeletne strukture koje uvjetuju reakcije hidrogenacije, hidroksilacije, O-metilacije hidroksilnih skupina, dimerizacije, sulfatacije i glikozilacije hidroksilnih grupa (O-glikozidi) ili fenolne jezgre (C-glikozidi).

Flavonoidi se najvećim dijelom pojavljuju konjugirani ugljikohidratima kao glikozidi ili bez ugljikohidratne komponente, kao aglikoni koji su derivati 2-fenil-dihidrobenzopirana (flavana). Glikozilacija se najčešće događa na pozicijama 3 i 7 (3- i 7-heterozidi, odnosno

3- i 7-glikozidi), a hidroksilacija na pozicijama: 3, 5, 7, 3', 4' i 5' (Slika 7). Neki od hidroksilnih supstituenata mogu biti konjugirani s metilnom, acetilnom ili sulfatnom skupinom.

Najčešći ugljikohidrati koji sudjeluju u konjugaciji s flavonoidima su: L-ramnoza, D-glukoza, ramnozil-glukoza (rutinoza), galaktoza ili arabinoza (Slike 8-12).

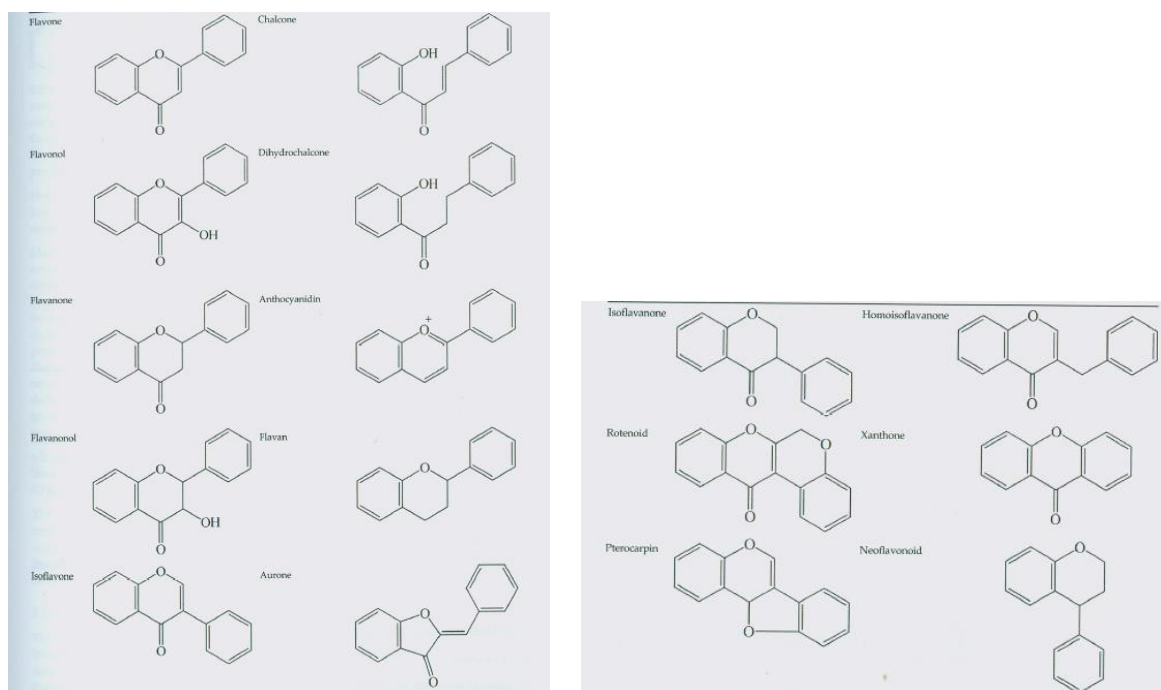


Slika 8. L-ramnoza. Slika 9. D-glukoza. Slika 10. Rutinoza. Slika 11. Galaktoza. Slika 12. Arabinoza.

U biljkama su najčešće prisutni kao O- ili C-glikozidi, pri čemu je O vezanje učestalije.

O-glikozidi imaju šećerne supstituente vezane na hidroksilnu grupu aglikona, obično smještenu na položaju 3 ili 7, dok C-glikozidi imaju šećere vezane za ugljik aglikona, obično 6-C ili 8-C. S obzirom na navedenu strukturnu varijabilnost, postoji iznimno velik broj flavonoida.

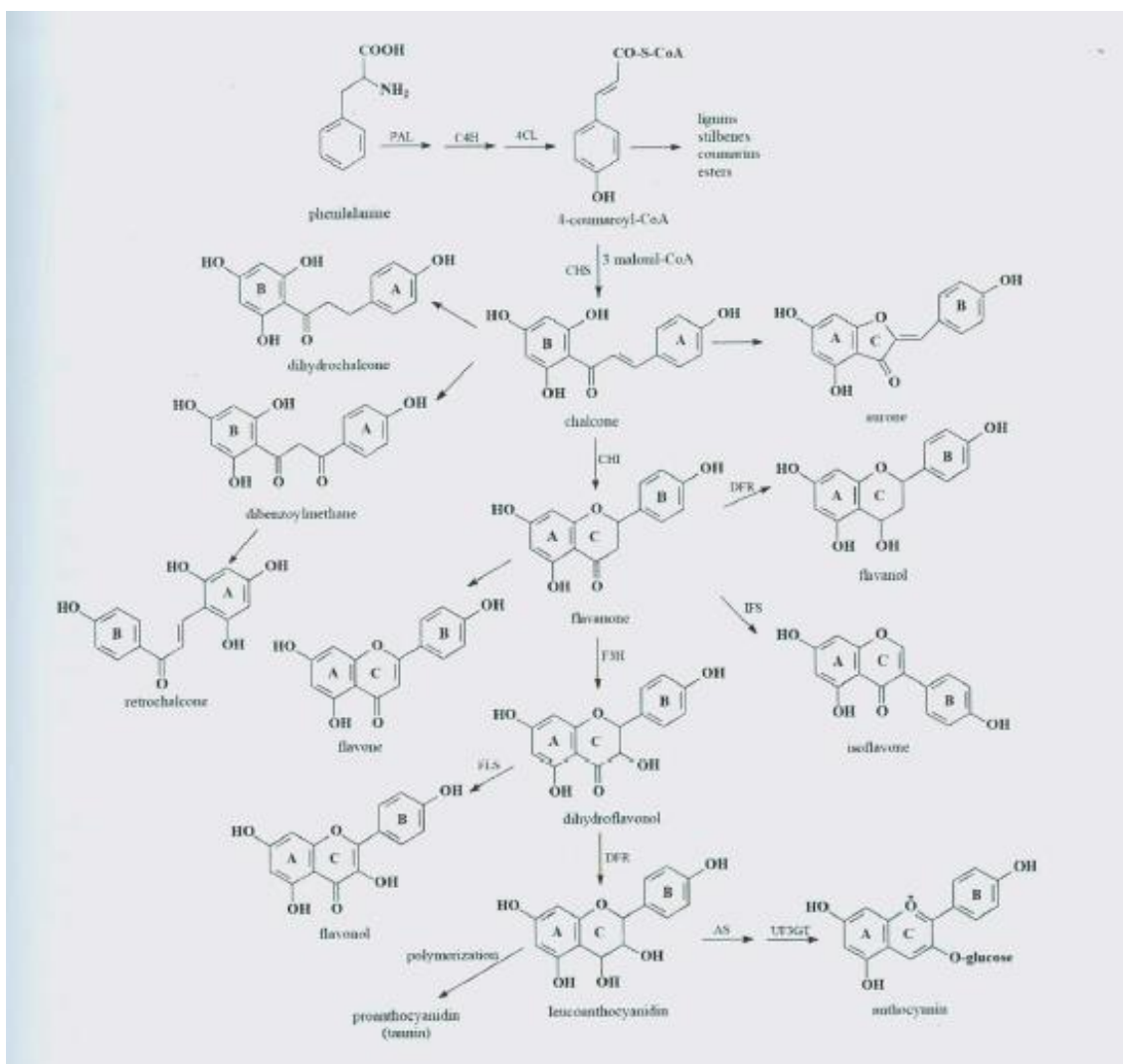
Postoje različite podjele flavonoida, i to s obzirom na međusobni način vezanja prstenova, mjesto gdje se veže prsten B, oksidacijski stupanj položaja C₃ na prstenu C i stupanj polimerizacije (Slika 13).



Slika 13. Skupine flavonoida (Justino, 2017).

1.3.1.2. Biosinteza flavonoida

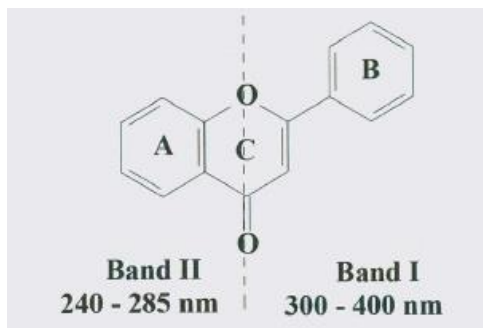
Flavonoidi su mješovitog biogenog podrijetla. Nastaju kombinacijom puta šikiminske kiseline, koja je bitna za sintezu aromatskih aminokiselina, i acilpolimalonatnog puta. Benzenski prsten B nastaje preko šikiminske kiseline, dok je prsten A acetatnog podrijetla, formiran zatvaranjem poliketidnog lanca. Početni spoj je fenilalanin koji se deaminira do cimetne kiseline, a ona zatim prevodi u p-kumarnu kiselinu. Dodatkom acetil-CoA na kiselinu, nastaje p-kumaroil-CoA koji se kondenzira s tri molekule malonil-CoA te uz kalkon-sintazu (CHS) nastaje kalkon (2', 4', 6', 4-tetrahidroksikalkon). Kalkon nadalje izomerizira pomoću kalkon flavanon izomeraze (CHI) do flavanona. Od flavanona biosintetski put ide u nekoliko smjerova od kojih svaki rezultira jedinstvenom vrstom flavonoida (Slika 14) (Justino, 2017).



Slika 14. Dijagram mogućih puteva u biosintezi flavonoida (Justino, 2017).

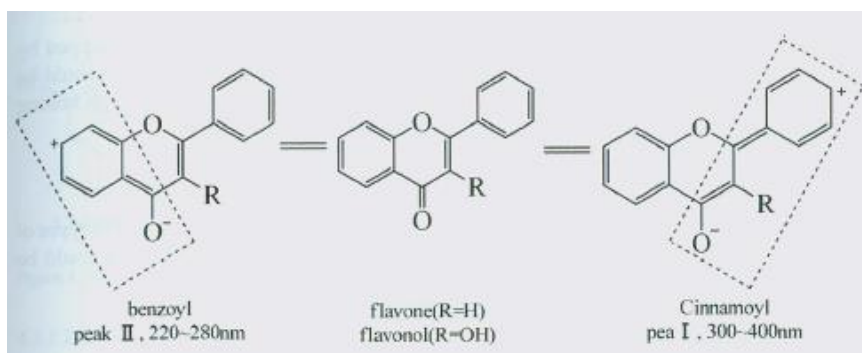
1.3.1.3. Flavonoidi iz perspektive UV spektrofotometrije

Studije na flavonoidima utvrdile su da većina flavonoidnih struktura pokazuje dvije glavne apsorpcijske vrpce (Slika 15).



Slika 15. Strukturne komponente flavonoida zaslužne za apsorpciju.

Vrpca II (240-285 nm) posljedica je prijenosa elektrona s benzenske jezgre u prstenu A te vrpca I (300-400 nm) uzrokovana je prijenosom elektrona s cinamatne skupine u prstenu B (Slika 16).

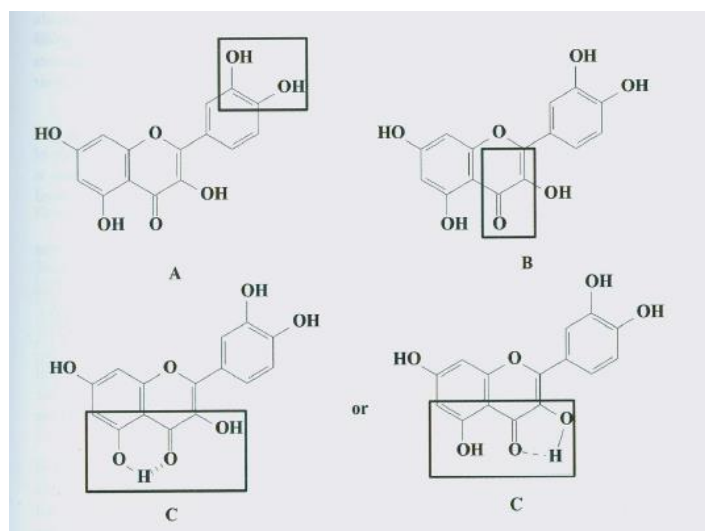


Slika 16. Strukturne komponente flavonoida koje apsorbiraju UV zračenje.

Supstituenti na flavonoidnom skeletu također mogu dovesti do apsorpcijskog pomaka te promjene oblika apsorpcijske vrpce I i II. Apsorpcijski maksimum vrpce I raste proporcionalno s brojem hidroksilnih skupina supstituiranih na prstenu B. Analogno, apsorpcijski maksimum vrpce II raste s brojem hidroksilnih skupina supstituiranih na prstenu A. Glikozilirane hidroksilne skupine dodatno dovode do apsorpcijskog pomaka, dok acetilirane hidroksilne skupine gotovo poništavaju učinak same hidroksilne skupine na apsorpcijski pomak (Justino, 2017).

1.3.1.4. Antioksidacijski potencijal flavonoida

Flavonoidi u svojoj strukturi sadrže dvostruko konjugirane veze i supstituente (primjerice hidroksilni supstituent) koji mogu donirati elektron vlastitom rezonancijom i tako stabilizirati slobodne radikale. Glavne strukturne komponente flavonoida koje omogućuju antioksidativnu aktivnost su: 3', 4'-dihidroksi (kateholna) struktura u prstenu B (Slika 17, A), nezasićena C₂-C₃ veza konjugirana s 4-keto skupinom (Slika 17, B) te hidroksilni supstituenti na položajima 3 i 5 koji formiraju intramolekularnu vodikovu vezu s keto skupinom (Slika 17, C).



Slika 17. Ključne strukturne komponente za antioksidativnu aktivnost flavonoida.

Flavonoidi posjeduju različite antioksidacijske mehanizme, poput hvatanja slobodnih radikala i njihova neutraliziranja, inaktivacije peroksida i drugih reaktivnih kisikovih spojeva, kompleksiranja metala, zaustavljanja lipidne peroksidacije metabolita. Ova iznimna sposobnost flavonoida, povezana s njihovom strukturom, brani od oksidativnog stresa, posljedično i od kardiovaskularnih oboljenja, prevenira karcinogenezu te usporava proces staničnog starenja koje je odgovorno za različita degenerativna oboljenja (Justino, 2017).

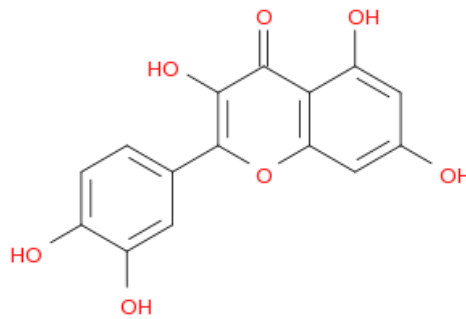
1.3.1.5. Smještaj i biološke uloge flavonoida u biljkama

Flavoni, flavonoli i antocijanidini nalaze se kao aglikoni ili kao glikozidi vezani na ugljikohidratnu komponentu u staničnom soku. Antocijani nisu prisutni samo u modrim i crvenim cvjetovima i plodovima, nego i u listovima i stabljikama. Flavanoni su rašireni u različitim vrstama agruma i četinjača, dok izoflavona ima u mahunarkama i perunikovkama. Flavonoidi su najrašireniji sekundarni produkti biljnog metabolizma.

Njihove biološke funkcije u biljkama su različite: daju jarku boju cvjetovima i plodovima, privlače insekte za oprašivanje, štite od štetnih insekata, virusa i gljivica, sprječavaju djelovanje različitih enzima te time utječu na oksidacijske i redukcijske procese u stanici i dr. (Toplak Galle, 2016).

1.3.1.6. Flavonoli (3-hidroksiflavoni)

Najrasprostranjeniji flavonoid je rutin, kojeg čine flavonoidni aglikon kvercetin te ugljikohidratna komponenta molekule - disaharid rutinoza, građena od glukoze i ramnoze, vezana u položaju C-3 (Vladimir-Knežević, 2010).



Slika 18. Struktura kvercetina.

Kvercetin je najučestaliji dijetni flavonol, smatra se pretečom i predstavnikom svih flavonoida i to najviše zbog toga što njegova struktura čini osnovni skelet većine ostalih flavonoida. Brojne eksperimentalne studije pokazale su da je kvercetin među najaktivnijim flavonoidima i da mnoge biljke duguju svoju biološku aktivnost upravo njemu. Široko je rasprostranjen u biljnom svijetu i zastupljen u većini namirnica biljnog podrijetla. Najviše je zastupljen u jagodama, jabukama, bobičastom voću, kakaou, crvenom vinu, luku, zelenom i crnom čaju, orašastim plodovima, raznim sjemenkama, kao i u ginku te gospinoj travi. Veliku količinu kvercetina sadrži i čaj od heljde kojeg ljudi koriste u prirodnom nekonvencionalnom liječenju, peroralno u terapiji kardiovaskularnih oboljenja i s ciljem preveniranja karcinoma. No, znanstvene studije koje bi potkrijepile ove indikacije su malobrojne i još uvijek nedostatne. S farmakološkog aspekta, kvercetin je vazodilatator, antihipertenziv te antiaterogeni agens, čime reducira vaskularni *remodeling* povezan s povišenim krvnim tlakom. Nekoliko je studija pokazalo da kvercetin i njegov glukuronirani metabolit (kvercetin 3-O-P-d-glukuronid) inhibiraju proliferaciju, hipertrofiju i migraciju kultiviranih vaskularnih stanica glatkih mišića *in vitro* kada se stimuliraju serumom ili faktorima rasta.

Također je uočeno da kvercetin pokazuje agonističke učinke na PPAR- γ receptore. Budući da ligandi PPAR- γ induciraju preferencijalnu apoptozu kod intimalnog tipa vaskularnog tkiva, pretpostavljeno je da kvercetin može inducirati apoptozu aktivacijom ovih receptora. Osim dobro poznatog antioksidativnog učinka kvercetina, pod određenim se uvjetima on može također ponašati kao prooksidans, stvarajući reaktivne kisikove vrste (ROS) (Perez-Vizcaiono i sur., 2006).

Farmakokinetičke studije humane apsorpcije kvercetina nakon oralne doze pokazale su apsorpciju od 24% za aglikon, a 52% za kvercetinske glikozide (Hollman i sur., 1995). Apsorbirani kvercetin se prenosi u jetru vezan na albumin, gdje djelomično podliježe metilaciji, hidroksilaciji ili konjugaciji. Preporučene doze kvercetina kao aglikona u kliničkoj praksi iznose 400-500 mg tri puta dnevno (Manach i sur., 1996).

1.3.1.7. Biološki učinci i terapijski potencijal flavonoida

Analogno visokoj specifičnosti strukture, otkriven je i širok spektar djelovanja ovih potentnih spojeva. Dodatni poticaj za opsežne studije o djelovanju flavonoida dogodio se otkrićem tzv. „francuskog paradoksa“ koji je ukazao na niže stope kardiovaskularnog mortaliteta ljudi s Mediterana, povezanu s konzumacijom crvenog vina i polinezasićenih masnih kiselina (Nijveldt i sur., 2001).

Dosad je utvrđen njihov antikarcinogeni, antivirusni, protuupalni, imunostimulacijski, antialergijski učinak te učinak na smanjenje rizika od kardiovaskularnih oboljenja. Mnogi od ovih učinaka, uključujući i antikarcinogeni, prisutni su zahvaljujući njihovoj antioksidativnoj sposobnosti o kojoj je već bilo riječi (Poglavlje 1.3.1.4.).

Najprije je otkriven njihov vaskularni utjecaj, kada se flavonoide naranče i rutin, kao vitamin P (permeabilnost), ubrajalo u vitamine. Na kapilare djeluju tako što im smanjuju propusnost i povećavaju otpornost na lomljenje.

Protuupalno djelovanje posljedica je inhibicije mnogih enzima, poput onih koji sintetiziraju proupalne faktore (leukotriene, citokine) te faktore koji pojačavaju aktivnost upalnih stanica (poput tirozin kinaze, aktivatora upalnih stanica i poput 5-lipooksigenaze koja sintetizira upalne medijatore - leukotriene) (Marković, 2005).

Mnoge *in vitro* i *in vivo* studije flavonoida izoliranih iz biljaka ukazale su na značajnu antikancerogenu aktivnost ovih spojeva. Testom citotoksičnosti utvrđeno je da se antiproliferacijski i citotoksični učinak manifestira najvećim dijelom u tumorskoj staničnoj

liniji, budući da flavonoidi ne pokazuju citotoksični učinak u humanim stanicama. Isto tako, otkriveni su i drugi mehanizmi preveniranja karcinoma, poput blokade staničnog ciklusa i usmjeravanja u apoptozu, inhibicije proteina toplinskog šoka, inhibicije tirozin-kinaza, regulacije djelovanja p53 proteina, modulacije kapaciteta vezanja na estrogenske receptore te inhibicije ekspresije i djelovanja Ras proteina (Justino, 2017).

Studija provedena u rujnu 2002. godine ukazala je na poveznicu konzumacije točno određenih flavonoida i smanjenja vjerojatnosti obolijevanja. Konkretno, osobe koje su uzimale veće doze kvercetina, imale su manju vjerojatnost za oboljevanje od srčane ishemije, karcinoma pluća te šećerne bolesti tipa 2. Kardiovaskularno oboljevanje pokazalo se manje vjerojatnim kod ljudi koji su uzimali više kemferola, naringenina i hesperidina. Muškarci koji su konzumirali veće doze miricetina teže su obolijevali od karcinoma prostate. Incidencija za astmu bila je manja s većim dozama kvercetina, naringenina i hesperidina (Knekt i sur., 2002).

Studija provedena na uzorku ljudi oboljelih od karcinoma u gastrointestinalnom traktu pokazala je manju povezanost između ljudi koji su uzimali flavanone i stope obolijevanja od karcinoma ezofagusa u usporedbi s ljudima koji nisu uzimali flavanone. Primijećen je i povećan rizik karcinoma želuca kod pušača, međutim, isto tako je uočeno da konzumacija epigalokatehina igra važnu ulogu u usporavanju progresije bolesti (Justino, 2017).

Podlogu za antikarcinogenu aktivnost flavonoida predstavlja njihov snažan antioksidativni potencijal. Flavonoidi imaju sposobnost odstraniti slobodne radikale koji su odgovorni za oštećenje stanica i DNA te posljedično za ubrzanje procesa starenja i razvoja mnogih bolesti. Kao antioksidansi, flavonoidi djeluju na više načina: utjecajem na status reaktivnih kisikovih spojeva putem enzima ili uplitanjem u signalne putove, hvatači su reaktivnih dušikovih spojeva, kompleksiraju i izmjenjuju metalne ione. Mogu djelovati sinergistički s drugim fiziološkim antioksidansima, kao što su vitamin C ili vitamin E. Zbog sposobnosti zaštite stanica od štete uzrokovane reaktivnim kisikovim spojevima, smatra ih se kemoprotektivima. Od svih flavonoida, flavoni i katehini imaju najveću sposobnost obrane tijela od reaktivnih kisikovih spojeva (Nijveldt i sur., 2001). Važno je napomenuti da, unatoč korisnim antioksidativnim sposobnostima, istovremeno mogu djelovati kao prooksidansi, osobito kada se primjenjuju u visokim dozama.

Osim na kardiovaskularni, flavonoidi pozitivno djeluju i na imunološki sustav (Nikolić, 2013).

Neki flavonoidi šire srčane koronarne žile i poboljšavaju rad srca (glog, arnika), ublažavaju grčeve i time djeluju spazmolitički (kamilica), štite jetru i utječu na nastanak žuči (osljebad, smilje), pospješuju znojenje (lipa, končara, bazga), povećavaju količinu urina (breza, zečji trn, zlatnica, ljubica). Značajan je i njihov antialergijski učinak te djelovanje protiv upala i skupljanja tekućine u tkivima, tj. edema, jer sprječavaju nastanak tkivnih hormona prostaglandina (rutin) (Toplak Galle, 2016).

Flavonoid kvercetin (i u manjoj mjeri metil-katehin) ima posebno važnu ulogu u prevenciji i tretmanu čira želuca. Djeluje tako da promovira sekreciju želučanih sokova, a *in vitro* studije pokazuju da inhibira i rast bakterije *Helicobacter pylori* (www.nutricionizam.com).

Flavonoidi pokazuju i antivirusni učinak zahvaljujući metilnoj skupini na prstenu A. Mogu utjecati na različite stadije replikacijskog ciklusa virusa ili inhibirati infekcijska svojstva virusa, što je dokazano za kvercetin. Studijama potvrđen učinak prisutan je u terapiji herpes simplex virusa, adenovirusa, respiratornog sincicijskog virusa i virusa parainfluence (Nijveld i sur., 2001). Različite kombinacije flavona i flavonola pokazale su sinergizam. Tako kemferol i luteolin pokazuju sinergistički učinak protiv herpes simplex virusa (Kumar i Pandey, 2013). U posljednjih dvadeset godina istražuje se antivirusni učinak flavonoida na HIV. No, ta su istraživanja uglavnom provedena u *in vitro* uvjetima i zbog toga nema dokaza o pozitivnom djelovanju flavonoida kod ljudi oboljelih od HIV-a.

Mnogi flavonoidi, poput apigenina, galangina, flavonskih i flavonolskih glikozida, izoflavona, flavanona i kalkona, pokazuju snažnu antibakterijsku aktivnost inhibicijom ionskih kanala i metaloenzima te inaktivacijom mikrobnih adhezina, enzima i transportnih proteina stanične membrane stvaranjem kompleksa s proteinima bakterija. Pretpostavlja se da antibakterijski flavonoidi djeluju različitim mehanizmima u sinergiji (Kumar i Pandey, 2013).

Sve nabrojane terapijske dobrobiti flavonoida predstavljaju neprocjenjivu pomoć u otkrivanju novih meta pri dizajnu lijekova.

1.3.1.8. Djelovanje flavonoida na središnji živčani sustav

Djelovanje na GABA-receptore

Prirodno prisutni flavonoidi i oni sintetskog podrijetla poznati su po višestrukome učinku na aktivaciju ionotropnih receptora za γ -aminomaslačnu kiselinu (GABA), glavni inhibitorni neurotransmiter u mozgu. Mogu djelovati kao pozitivni ili negativni alosterički modulatori, pojačavajući ili reducirajući učinak GABA-e te mogu dovesti do izravne aktivacije receptora. Mogu također modificirati djelovanje drugih uključenih čimbenika. Ovakav učinak flavonoida na funkcije GABA-e može dovesti do anksiolitičkog, antikonvulzivnog, analgetskog i sedativnog ishoda.

Početak istraživanja flavonoida kao liganada benzodiazepinskog veznog mjesta na GABA-receptorima zbio se u vrijeme kada su benzodiazepini bili najpropisivaniji lijekovi te su mnogi flavonoidi istraživani u *in vitro* i *in vivo* studijama kao relevantna alternativa istima.

Flavonoidi su se iskazali kao modulatori GABA_A receptora već u niskim koncentracijama i kod flumazenil-osjetljivih i flumazenil-neosjetljivih pojedinaца (Hanrahan i sur., 2015). Otkriveno je da flavonoidi mogu utjecati na GABA-receptore preko benzodiazepinskog veznog mjesta, ali i neovisno o njemu te da neki pokazuju bifazični odgovor; u niskim koncentracijama pojačavaju učinak GABA-e, dok ga u visokim koncentracijama inhibiraju (Hanrahan i sur., 2011).

Argentinski znanstvenici su 1999. godine utvrdili potencijal flavonoida u pogledu anksiolitičkog učinka. Uočili su to konkretno na krizinu (5, 7-dihidroksiflavon), apigeninu (5, 7, 4'-trihidroksiflavon) te polusintetskim derivatima poput 6, 3'-dinitroflavona, kod kojeg je peritonealnom aplikacijom *in vivo* zabilježen 30 puta snažniji anksiolitički učinak u usporedbi s diazepamom (Paladini i sur., 1999).

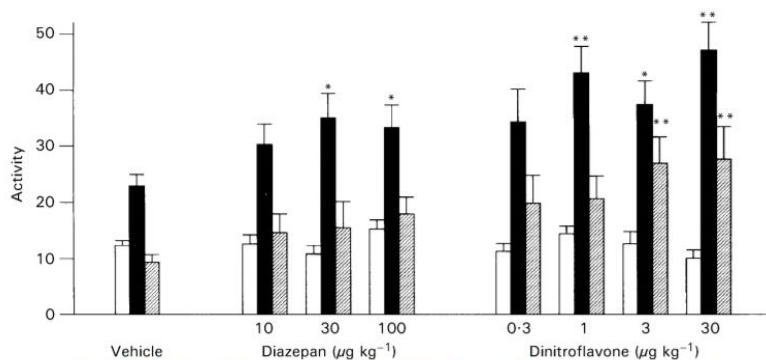


Figure 4. Anxiolytic activity of 6,3'-dinitroflavone, compared with that of diazepam. The figure shows the performance of mice during a 5-min period in the elevated plus-maze test, 15 min after intraperitoneal injection of vehicle, dinitroflavone or diazepam. Results are expressed as in Figure 3. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with vehicle (Dunnet's multiple comparison test). Number of animals in each group ranged between 9 and 16 (adapted from Marder et al 1995).

Slika 19. Usporedba anksiolitičkog učinka diazepama i 6, 3'-dinitroflavona peritonealnom primjenom.

Važno je spomenuti i studiju koja je otkrila mogućnost djelovanja flavonoida na $GABA_A$ receptore na mjestima gdje su neosjetljivi na vezanje neutralizirajućeg modulatora benzodiazepina – flumazenila te na mjestima koji su opisani kao mjesta niskog afiniteta za vezanje benzodiazepina. Autori navode kako bi se navedena vezna mjesta mogla nazvati flavonoidnima (Justino, 2017).

Učinak flavonoida na funkcije neurona

Flavonoidi, osim djelovanja na GABA-receptore, posjeduju niz učinaka na središnji i periferni živčani sustav, uključujući i potencijal za zaštitu neurona od ozljeda izazvanih neurotoksinima, sposobnost suzbijanja neuroinflamacije i potencijal pospješivanja kognitivnih funkcija. Ovo mnoštvo učinaka podupiru dva procesa. Prvi je taj što stupaju u interakciju s važnim kaskadama neuronske signalizacije, što dovodi do inhibicije apoptoze izazvane neurotoksičnim vrstama i promicanja neuronalnog preživljavanja i diferencijacije. Konkretno, to su selektivne akcije na niz signalnih kaskada protein kinaze i lipidnih kinaza, a posebice putevi PI3K / Akt i MAP kinaze koji reguliraju transkripcijske čimbenike za preživljavanje i ekspresiju gena. Drugi proces je indukcija perifernog i cerebralnog protoka krvi na način koji može dovesti do indukcije angiogeneze i novog rasta živčanih stanica u hipokampusu. Stoga cjeloživotna konzumacija hrane bogate flavonoidima, kao što su bobičasto voće i kakao, ima potencijal ograničavanja neurodegeneracije povezane s različitim neurološkim poremećajima i sprječavanja normalnih ili abnormalnih pogoršanja kognitivnih učinaka (Spencer, 2009).

Zbog ovakvih saznanja i intenzivnog interesa za razvoj lijekova s ciljem poboljšanja funkcije središnjeg živčanog sustava, flavonoidi mogu predstavljati važne molekule prekursora u potrazi za razvojem nove generacije terapeutika.

1.3.1.9. Flavonoidi u hrani

Flavonoidi kao biljni metaboliti sigurni su za konzumaciju bez neočekivanih nuspojava.

Mnoge nutritivno bogate namirnice sadrže različite tipove flavonoida. Žitarice i biljke sadrže flavone. U voću i povrću nalaze se flavonoli sa svojim glikozidima. Citrusni sokovi, mahunarke i čajevi u svojem sastavu imaju flavanone, izoflavone i katehine (Justino, 2017).

Novost u posljednje vrijeme je sistem liječenja koji povezuje medicinsku terapiju sa znanostu o prehrani. Tako se, primjerice, flavonoidi preporučuju kao lovci na slobodne radikale, kod primarnog i sekundarnog sprječavanja kroničnih upalnih oboljenja, ovapnjenja krvnih žila i tumora (Toplak Galle, 2016).

Prosječan unos ukupnih flavonoida u svijetu je oko 400 miligrama dnevno. Kao najučestalije konzumirane namirnice bogate flavonoidima pokazale su se čaj i voće. Jabuka prosječne mase od 120 grama tkiva te 80 grama kore sadrži čak 184 miligrama kvercetina i 180 miligrama epikatehina. Svježe cijedeni sok od naranče u količini od 500 mililitara sadrži 292 miligrama hesperidina. Jagode, borovnice i brusnice sadrže visoke doze antocijanina: jagode - 33,63 mg/100 g, borovnice 13,52 mg/100 g (Justino, 2017).

Najčešći flavonol u prehrani je kvercetin, a u najvećoj koncentraciji prisutan je u crvenom luku, i to u količini od 22 mg/100 g. Kvercetin dolazi u raznim glikozidnim oblicima koji se razlikuju ovisno o izvoru koji ga sadrži (Justino, 2017).

U citrusnom voću pojavljuju se gotovo samo flavanoni, gdje su najviše zastupljeni u čvrstom tkivu, a manje koncentracije nađene su i u soku. Hesperidin (hesperetin-7-rutinozid) i narirutin (naringenin-7-rutinozid) su glavni flavonoidi naranče i mandarine, dok je primjerice u grejpu najzastupljeniji naringin (naringenin-7-neohesperozid). Niske koncentracije naringenina mogu se pronaći u rajčicama te proizvodima od rajčice (Justino, 2017).

Katehini se pojavljuju kao aglikoni ili su esterificirani s galnom kiselinom. Katehin i epikatehin značajno su zastupljeni u jabukama, kruškama, breskvama i grožđu, a najviše koncentracije katehina nađene su u crnom čaju i crvenom vinu (Justino, 2017).

Od flavona, kroz hranu unosimo najviše apigenina i luteolina, a njihovi glavni izvori su crveni papar i celer.

Antocijanidini i njihovi glikozidi odgovorni su za crvenu, plavu ili ljubičastu boju jestivoga voća i povrća kao što su šljive, jabuke, patlidžan i bobičasto voće. Najznačajniji su pelargonidin, cijanidin, delphinidin i malvidin (Toplak Galle, 2016).

Mahunarke su bogate izoflavonoidima genisteinom i daidzeinom, koji su u najvišim koncentracijama nađeni u soji i produktima soje, a ima ih i u drugim mahunarkama (Erlund, 2004).

Hranu koja sadrži flavonoide danas se naziva „funkcionalnom hranom“. Termin „nutraceutici“, koji dolazi od riječi „nutrition“ i „farmaceutici“, čuva se za onu funkcionalnu hranu koja može osigurati dobrobit za zdravlje ili se koristiti u prevenciji ili terapiji bolesti (Hodek, 2012).

Neki su se flavonoidi katkad koristili za bojenje vune, pamuka i prirodne svile te u slikarstvu, a danas služe kao antioksidativna sredstva za konzerviranje masti i sokova. Iz gorkih flavanonskih glikozida narančine kore proizvodi se vrlo slatko umjetno sladilo (Toplak Galle, 2016).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Cilj ovoga diplomskoga rada jest kvantitativna analiza flavonoida iz pulveriziranih uzoraka vrste *Laurus nobilis* L. (lovor) s područja Lovrana, prikupljenih tijekom 12 mjeseci (od svibnja 2015. do travnja 2016. godine).

Za određivanje flavonoida kvercetinskog aglikona primijenjena je spektrofotometrijska metoda prema Christu i Mülleru (1960), iz koje proizlazi službena metoda Europske farmakopeje, a temelji se na stvaranju kompleksa flavonoidnih aglikona s Al^{3+} i mjerenju apsorbancije nastalog kompleksa na 425 nm.

Svrha kvantitativne analize u okviru ovoga diplomskoga rada jest doprinos znanstvenim istraživanjima vrste *Laurus nobilis* L., a rezultati provedene studije predstavljaju osnovu za daljnja istraživanja biološke aktivnosti i fitoterapijskog potencijala pripravaka ove vrste s obzirom na njezinu sezonsku varijabilnost tijekom godine.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Biljni materijal

Za potrebe ovog istraživanja korišten je biljni materijal vrste *Laurus nobilis* L., Lauraceae. Materijal je prikupljen na području Lovrana, i to tijekom dvanaest mjeseci, u razdoblju od svibnja 2015. do travnja 2016. godine.

Identifikacija biljnog materijala provedena je u Farmaceutskom botaničkom vrtu "Fran Kušan" Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, prema dostupnim literaturnim podacima (Domac, 1984).

Analizirani su pulverizirani listovi biljne vrste *Laurus nobilis* L. (Lauraceae).

3.2. Aparatura i kemikalije

Aparatura i pribor:

- UV-Vis spektrofotometar Agilent 8453E (Hewlett Packard, Njemačka); kiveta 1 cm
- ultraljubičasta lampa (UPV Upland U.S.A., UVGL-58)
- pipete, propipete, menzure, lijevci, čaše, kapalice, epruvete, vata
- lijevci za odjeljivanje i stalci
- odmjerne tikvice, Erlenmayerove tikvice, tikvice s okruglim dnom
- povratna hladila
- vodena kupelj
- plamenik

Kemikalije:

- aceton (CLARO-PROM d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- aluminijev klorid heksahidrat (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- etil acetat (Carlo Erba Reagenti SpA, Arese, Italija)
- heksametilentetramin (Zorla, Šabac, Srbija)
- klorovodična kiselina, konc. (Carlo Erba Reagenti SpA, Rodano, Italija)
- metanol (Carlo Erba Reagenti SpA, Rodano, Italija)
- natrijev citrat (Gradska ljekarna Zagreb, Hrvatska)
- octena kiselina, led. (Panreac Quimica S.A.U., Barcelona, Španjolska)

3.3. Metode i postupci istraživanja

3.3.1. Kvantitativna analiza flavonoida

Količina ukupnih flavonoida u listovima vrste *Laurus nobilis* L. određena je spektrofotometrijskom metodom prema Christu i Mülleru (1960).

Postupak:

Odvagano je po 0,2 g pulverizirane biljne droge (Slika 20) i potom provedena ekstrakcija tog biljnog materijala s 20 mL acetona, 2 mL 25%-tne klorovodične kiseline i 1 mL 0,5%-tne otopine heksametilentetramina, zagrijavanjem do vrenja na vodenoj kupelji uz povratno hladilo 30 minuta (Slika 21).



Slika 20. Odvaga pulverizirane biljne droge.



Slika 21. Ekstrakcija biljnog materijala.

Hidrolizat je propušten kroz vatu (Slika 22), a ostaci droge na vati ponovo su ekstrahirani s 20 mL acetona, grijanjem do vrenja na vodenoj kupelji 10 minuta.



Slika 22. Propuštanje ekstrakta kroz vatu.

Tako dobiveni ekstrakt također je propušten kroz vatu, a prethodno opisana ekstrakcija acetonom ponovljena je još dva puta (Slika 23).



Slika 23. Priprema za reekstraciju ostataka droge na vati acetonom.

Sjedinjeni profiltrirani ekstrakti razrijeđeni su acetonom do 100,0 mL. Potom je 20,0 mL tog ekstrakta pomiješano s 20 mL vode te ekstrahirano najprije s 15 mL, a zatim tri puta s po 10 mL etil acetata (Slika 24).



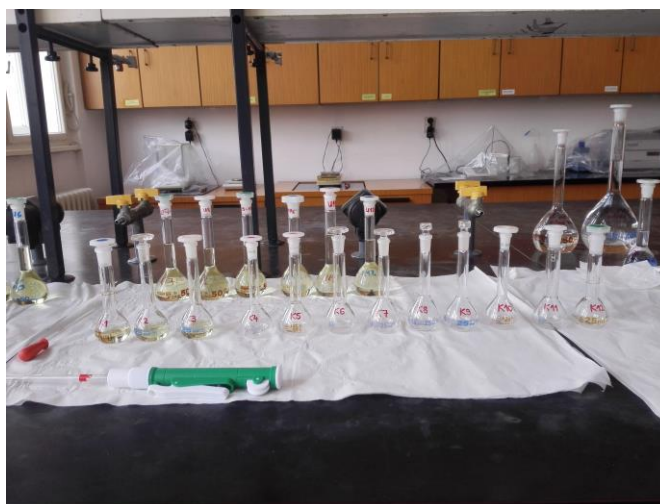
Slika 24. Ekstrakcija acetonskog ekstrakta etil acetatom u lijevku za odjeljivanje.

Sjedinjene etil acetatne faze isprane su dva puta s po 40 mL vode, propuštene kroz vatu i razrijeđene etil acetatom do 50,0 mL. Po 10,0 mL te otopine preneseno je u dvije odmjerne tikvice od 25,0 mL. U svaku je tikvicu dodano 0,5 mL 0,5%-tne vodene otopine natrijeva citrata. U jednu tikvicu dodano je još 2,0 mL otopine aluminijskoga klorida (2 g aluminijskoga klorida heksahidrata otopi se u 100,0 mL 5%-tne metanolne otopine octene kiseline). To je ispitivana otopina (Slika 25). Potom su obje tikvice dopunjene do 25,0 mL 5%-tnom metanolnom otopinom octene kiseline.



Slika 25. Odmjerne tikvice s ispitivanim uzorcima.

Nakon 45 minuta, izmjerene su apsorbancije otopina s aluminijevim kloridom, u sloju debljine 1 cm, na 425 nm. Slijepi pokus predstavlja prethodno pripremljena otopina bez aluminijeva klorida (Slika 26).



Slika 26. Odmjerne tikvice sa slijepom probom.

Maseni udio flavonoida izračunat je kao kvercetin, prema izrazu:

$$\% = A \times 0,772 / b$$

(A = apsorbancija; b = masa droge izražena u g).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati kvantitativne analize flavonoida lovora

Određivanje sadržaja flavonoida u listovima lovora provedeno je spektrofotometrijskom metodom prema Christu i Mülleru (poglavlje 3.3.1.) koja se temelji na stvaranju kompleksa flavonoidnih aglikona s Al^{3+} . Tvorbi kompleksa prethodi kisela hidroliza flavonoidnih glikozida kako bi se omogućilo oslobađanje aglikona.

Izmjerene su apsorbancije nastalih kompleksa na valnim duljinama od 421 nm (apsorpcijski maksimum) i 425 nm (prema metodi). Slijepi pokus predstavljale su otopine pripremljene na isti način kao ispitivane otopine, ali bez dodatka aluminijskoga klorida. Maseni udio flavonoida izražen je kao kvercetin (poglavlje 3.3.1.).

Pripravljene su ekstrakte za svaki mjesec tijekom kojega je pojedini uzorak lovora prikupljen, iz kojih su potom pripremljeni uzorci za spektrofotometrijsko određivanje flavonoida. Za svaki je uzorak po tri puta izmjerena apsorbancija na obje valne duljine.

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja flavonoida u listovima lovora na valnim duljinama od 421 nm i 425 nm prikazani su u Tablicama 3 i 4.

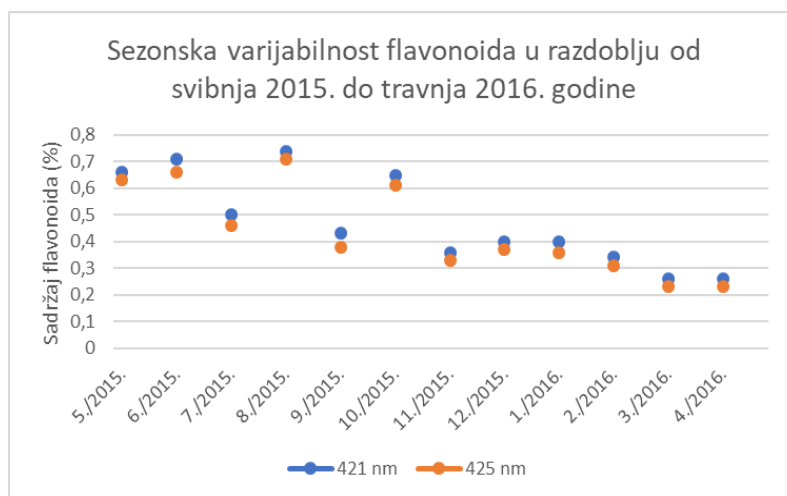
Tablica 3. Sadržaj flavonoida u ekstraktu vrste *Laurus nobilis* L. ($\lambda = 421$ nm).

Mjesec/godina	A _{421 nm}	$\bar{A} \pm SD$	Masa uzorka (g)	% flavonoida
5./2015.	0,173	0,1737±0,0012	0,2042	0,66
	0,175			
	0,173			
6./2015.	0,186	0,1860±0,0003	0,2016	0,71
	0,186			
	0,186			
7./2015.	0,127	0,1287±0,0021	0,2005	0,50
	0,128			
	0,131			
8./2015.	0,191	0,1927±0,0015	0,2007	0,74
	0,194			
	0,193			
9./2015.	0,111	0,1117±0,0006	0,2006	0,43
	0,112			
	0,112			
10./2015.	0,167	0,1677±0,0012	0,2003	0,65
	0,167			
	0,169			
11./2015.	0,093	0,0937±0,0006	0,2001	0,36
	0,094			
	0,094			
12./2015.	0,106	0,1050±0,0010	0,2002	0,40
	0,104			
	0,105			
1./2016.	0,102	0,1033±0,0015	0,2001	0,40
	0,105			
	0,103			
2./2016.	0,089	0,0883±0,0012	0,2001	0,34
	0,089			
	0,087			
3./2016.	0,066	0,0663±0,0006	0,2003	0,26
	0,066			
	0,067			
4./2016.	0,069	0,0677±0,0015	0,2002	0,26
	0,066			
	0,068			

Tablica 4. Sadržaj flavonoida u ekstraktu vrste *Laurus nobilis* L. ($\lambda = 425$ nm).

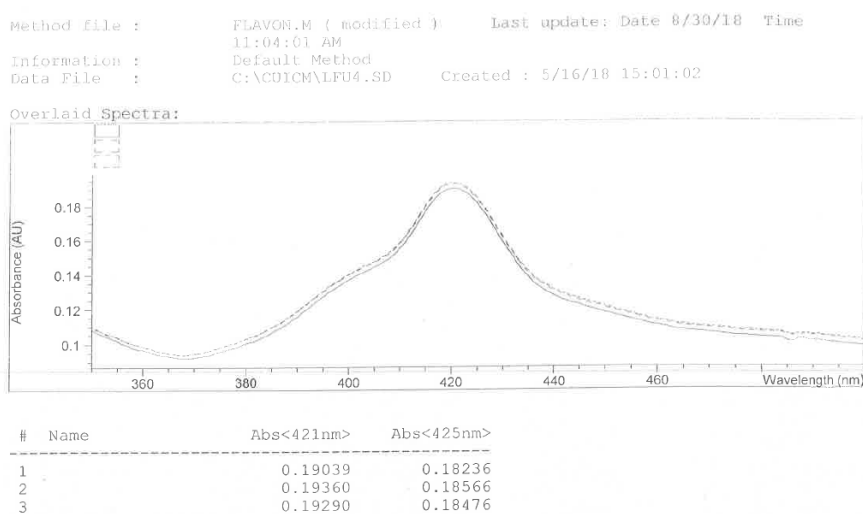
Mjesec/godina	A _{425 nm}	$\bar{A} \pm SD$	Masa uzorka (g)	% flavonoida
5./2015.	0,165	0,1657±0,0012	0,2042	0,63
	0,167			
	0,165			
6./2015.	0,174	0,1733±0,0006	0,2016	0,66
	0,173			
	0,173			
7./2015.	0,117	0,1187±0,0021	0,2005	0,46
	0,118			
	0,121			
8./2015.	0,182	0,1843±0,0021	0,2007	0,71
	0,186			
	0,185			
9./2015.	0,099	0,0997±0,0006	0,2006	0,38
	0,100			
	0,100			
10./2015.	0,158	0,1587±0,0012	0,2003	0,61
	0,158			
	0,160			
11./2015.	0,085	0,0857±0,0006	0,2001	0,33
	0,086			
	0,086			
12./2015.	0,096	0,0950±0,0010	0,2002	0,37
	0,094			
	0,095			
1./2016.	0,092	0,0933±0,0015	0,2001	0,36
	0,095			
	0,093			
2./2016.	0,081	0,0810±0,000	0,2001	0,31
	0,081			
	0,081			
3./2016.	0,060	0,0603±0,0006	0,2003	0,23
	0,060			
	0,061			
4./2016.	0,063	0,0610±0,0020	0,2002	0,23
	0,059			
	0,061			

4.2. Prikaz sezonske varijabilnosti sadržaja flavonoida lovora

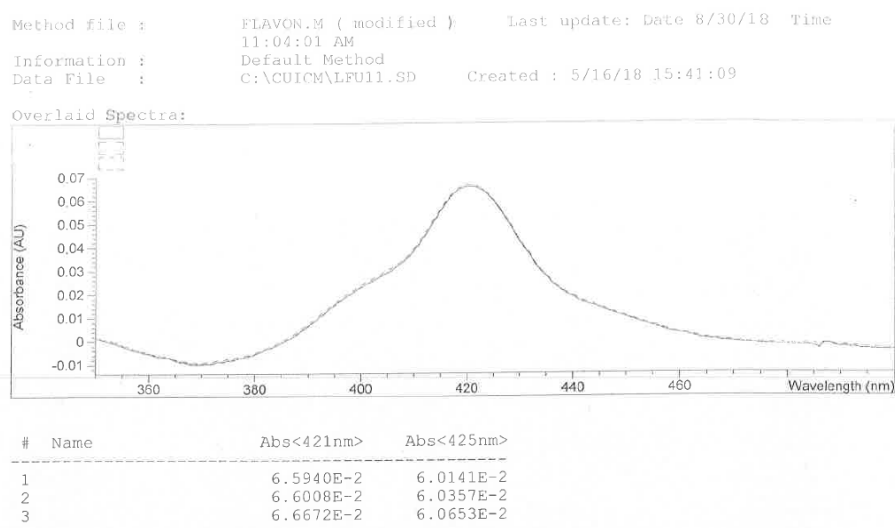


Grafički prikaz 1. Sadržaj flavonoida u razdoblju od svibnja 2015. do travnja 2016.

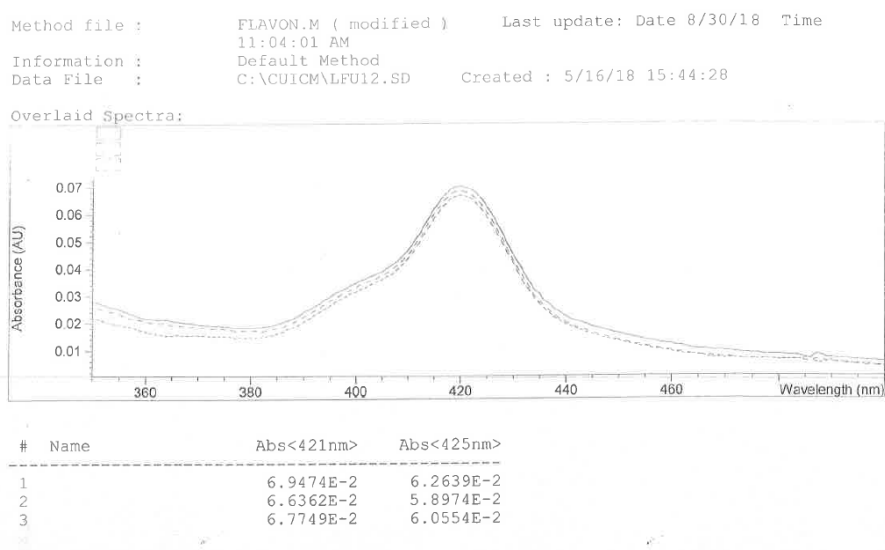
Najveći sadržaj flavonoida zabilježen je u listovima lovora prikupljenim u kolovozu 2015. godine (Slika 27) i iznosio je 0,74% na 421 nm te 0,71% na 425 nm. Najmanja vrijednost flavonoidnog sadržaja izmjerena je u uzorcima iz ožujka i travnja 2016. godine (Slike 28 i 29) i iznosila je 0,26% (421 nm), odnosno 0,23% (425 nm). Iz grafičkog je prikaza vidljivo kako u zimskim mjesecima nastupa očiti pad sadržaja flavonoida što odgovara hladnijim vremenskim uvjetima tijekom tog razdoblja.



Slika 27. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – kolovoz 2015.



Slika 28. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – ožujak 2016.

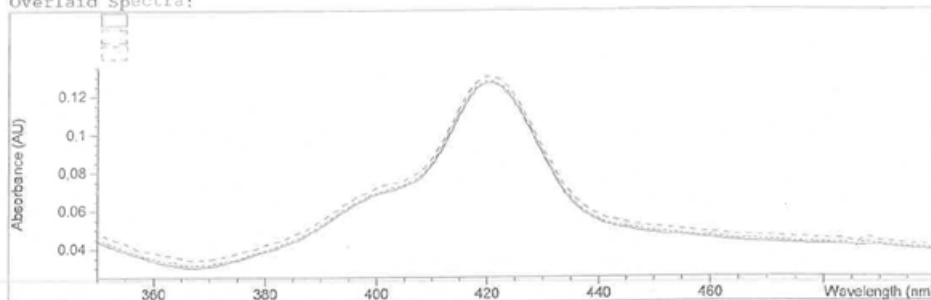


Slika 29. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – travanj 2016.

Neuobičajen pad apsorbancije primijećen je u uzorku lovorova lista sabranom u srpnju 2015., što nije tipično za navedeno ljetno razdoblje (Slika 30). Udio flavonoida u listovima lovora za srpanj 2015. iznosio je 0,50% (421 nm), odnosno 0,46% (425 nm). Uvidom u karte dostupne na stranicama Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ) o vremenskim prilikama u Lovranu u tom periodu (Slike 31 i 32), pronađeni su podatci o natprosječno toplom vremenu, a osim toga zabilježena je i oskudna količina padalina (ekstremni uvjeti), što bi moglo objasniti neočekivano nizak sadržaj flavonoida u listovima lovora u tom razdoblju.

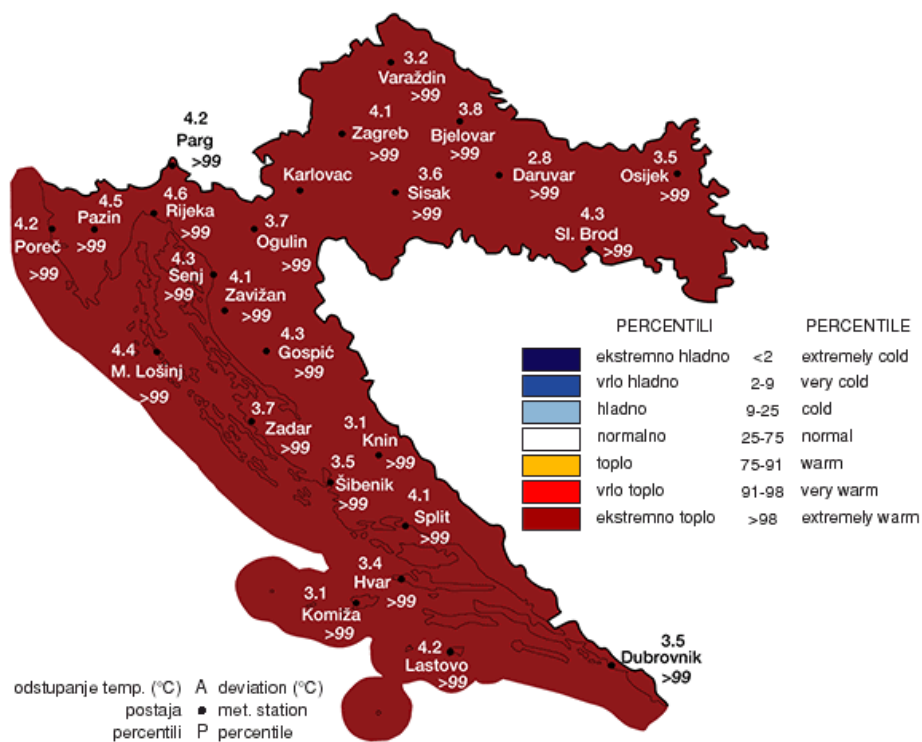
Method file : FLAVON.M (modified) Last update: Date 8/30/18 Time 11:04:01 AM
 Information : Default Method
 Data File : C:\UICM\LFU3.SD Created : 5/16/18 14:55:48

Overlaid Spectra:

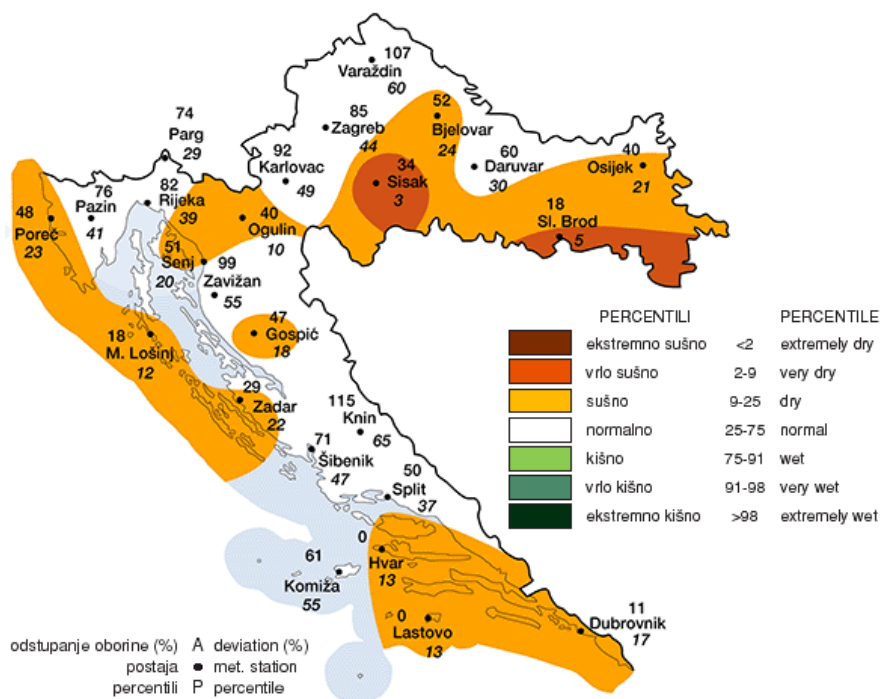


#	Name	Abs<421nm>	Abs<425nm>
1		0.12732	0.11732
2		0.12802	0.11847
3		0.13038	0.12081

Slika 30. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – srpanj 2015.

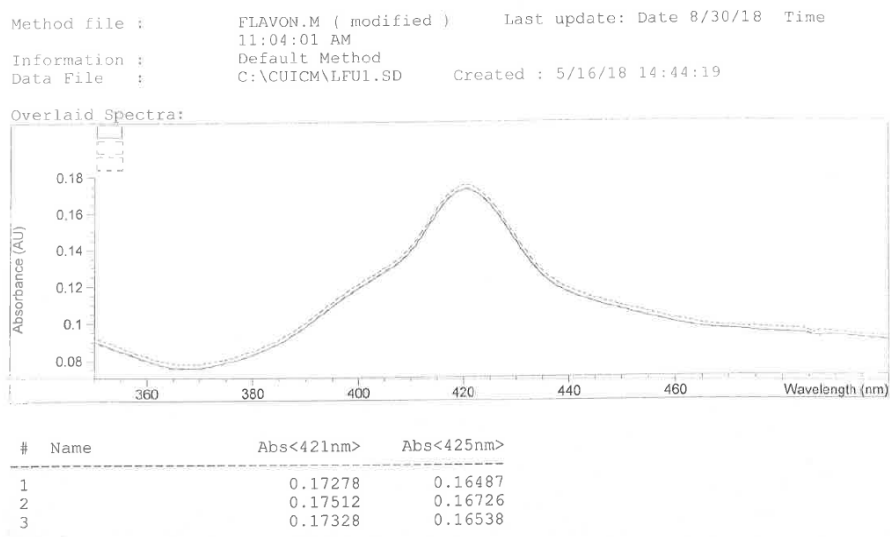


Slika 31. Odstupanje srednje mjesečne temperature zraka (°C) od višegodišnjeg prosjeka u Hrvatskoj za srpanj 2015. (DHMZ).



Slika 32. Mjesečne količine oborina, u postotcima višegodišnjeg prosjeka u Hrvatskoj za srpanj 2015. (DHMZ).

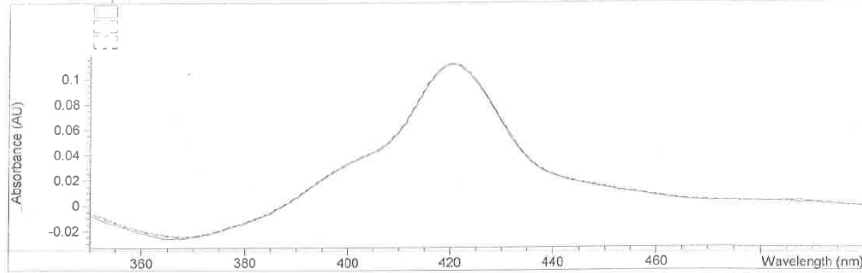
Slike 33-35 prikazuju karakteristične primjere određivanja sadržaja flavonoida lovora (redom: svibanj, rujanj i studeni 2015.).



Slika 33. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – svibanj 2015.

Method file : FLAVON.M (modified) Last update: Date 8/30/18 Time 11:04:01 AM
 Information : Default Method
 Data File : C:\CUICM\LFU5.SD Created : 5/16/18 15:08:14

Overlaid Spectra:

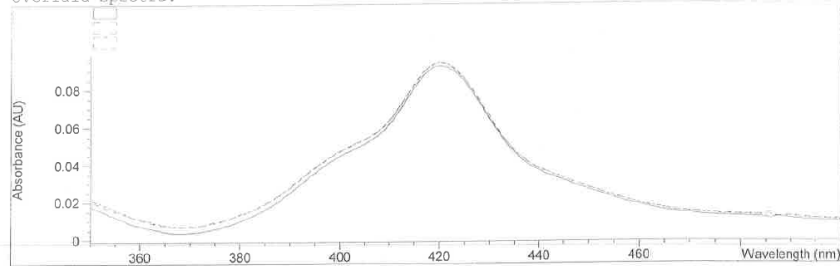


#	Name	Abs<421nm>	Abs<425nm>
1		0.11117	9.8763E-2
2		0.11185	0.10019
3		0.11162	0.10011

Slika 34. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – rujan 2015.

Method file : FLAVON.M (modified) Last update: Date 8/30/18 Time 11:04:01 AM
 Information : Default Method
 Data File : C:\CUICM\LFU7.SD Created : 5/16/18 15:16:50

Overlaid Spectra:



#	Name	Abs<421nm>	Abs<425nm>
1		9.2536E-2	8.4805E-2
2		9.4363E-2	8.6385E-2
3		9.4018E-2	8.5996E-2

Slika 35. Spektar dobiven mjerenjem apsorbancije ekstrakta lista lovora – studeni 2015.

5. ZAKLJUČCI

U okviru ovoga diplomskoga rada provedena je djelomična fitokemijska karakterizacija vrste *Laurus nobilis* L. (lovor). U svrhu praćenja sezonske varijabilnosti sadržaja flavonoida u uzorcima listova lovora, provedena je kvantitativna analiza navedenih tvari u uzorcima s područja Lovrana sabiranih mjesečno, kroz razdoblje od svibnja 2015. do travnja 2016. godine.

Maseni udio flavonoida određen je spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na stvaranju kompleksa flavonoidnih aglikona s Al^{3+} i mjerenjem apsorbancije na dvije valne duljine: 421 nm (maksimum apsorpcije) i 425 nm (izvorna metoda). Najveći sadržaj flavonoida zabilježen je u listovima lovora sabranih u kolovozu 2015. godine, kada je sadržaj iznosio 0,74% (421 nm), odnosno 0,71% (mjeren na valnoj duljini od 425 nm).

Neuobičajeno nizak sadržaj flavonoida primijećen je u mjesecu srpnju 2015., s obzirom na činjenicu da je to period godine u kojemu se očekuje visok sadržaj polifenolnih tvari. No, uvidom u karte vremenskih prilika u tom razdoblju (dostupne na stranicama Državnog hidrometeorološkog zavoda), zamijećene su iznadprosječno visoke temperature te oskudne padaline u Lovranu i okolici. Ti bi podatci mogli dijelom dati objašnjenje za neočekivano nizak sadržaj flavonoida izmjeren za srpanj 2015. godine.

Rezultati istraživanja provedenih u okviru ovoga diplomskoga rada donose nove spoznaje o sezonskoj varijabilnosti sadržaja flavonoida u listovima lovora s područja Lovrana te općenito pridonose istraživanjima polifenolnih bioaktivnih tvari u uzorcima lovora s područja Republike Hrvatske, upotpunjujući tako i saznanja o fitoterapijskom potencijalu vrste *Laurus nobilis* L.

6. LITERATURA

- Afifi FU, Khalil E, Tamimi SO, Disi A. Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats. *J Ethnopharmacol*, 1997, 58(1), 9-14.
- Ašić S. Ljekovito bilje. Rijeka, Dušević i Kršovnik d.o.o., 1999, str. 75.
- Basak SS, Candan F. Effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and its main components on alfa-glucosidase and reactive oxygen species scavenging activity. *Iran J Pharm Res*, 2013, 12(2), 367-379.
- D'Auria M., Racioppi R. The Effect of Drying of the Composition of Volatile Organic Compounds in *Rosmarinus officinalis*, *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* and *Thymus serpyllum*. *Journal of essential oil-bearing plants JEOP*, 2015, 18(5):1209-1223.
- Domac R. Mala flora Hrvatske i susjednih područja. Zagreb, Školska knjiga Zagreb, 1984, str. 264.
- Dudaš S, Venier L. Varijabilnost sadržaja eteričnog ulja u listovima lovora *Laurus nobilis* L. *Glasnik zaštite bilja*, 2009, 32(6), 46-54.
- Emam AM, Mohamed MA, Diab YM, Megally NY. Isolation and structure elucidation of antioxidant compounds from leaves of *Laurus nobilis* and *Emex spinosus*. *Drug Discov Ther*, 2010, 4(3), 202-207.
- Erlund I. Review of flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res*, 2004, 24, 851-874.
- Fernández NJ, Damiani N, Podaza EA, Martucci JF, Fasce D, Quiroz F, Meretta PE, Quintana S, Eguras JM, Gende LB. *Laurus nobilis* L. Extracts against *Paenibacillus larvae*: Antimicrobial activity, antioxidant capacity, hygienic behavior and colony strength. *Saudi J Biol Sci*, 2018, u tisku, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.04.008>
- Flavonoidi: <http://www.biologydiscussion.com/plants/secondary-metabolites/flavonoid-classification-and-biosynthesis/25254>, pristupljeno 31.08.2018.
- Flavonoidi: www.nutricionizam.com
- Flavonoli (3-hidroksiflavoni): <https://www.webmd.com/vitamins/ai/ingredientmono-294/quercetin>, pristupljeno 3.09.2018.
- Grđinić V. i Kremer D. Ljekovito bilje i ljekovite droge: farmakoterapijski, botanički i farmaceutski podaci, Zagreb, Hrvatska ljekarnička komora, 2009, 19, 178.
- Grlić Lj. Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. Ex libris, Rijeka, 2005, 06/dvosupnice/lovorke/lovor.
- Hanrahan JR, Chebib M, Johnston GAR. Interactions of flavonoids with ionotropic GABA receptors. *Adv Pharmacol*, 2015, 72, 449-99.
- Hanrahan JR, Chebib M, Johnston GR. Flavonoid modulation of GABA_A receptors. *Br J Pharmacol*, 2011, 163, 234-45.
- Hodek P. Metabolism of drugs and other xenobiotics. Weinheim, Wiley-VCH Verlag, 2012, str. 543-575.

- Hollman PC, de Vries JH, van Leeuwen SD, Mengelers MJ, Katan MB. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr*, 1995, 62(6), 1276-1282.
- Houdret J. Ljekovito bilje uzgoj i uporaba: cjelovit i praktičan vodič za uspješan uzgoj bilja i sveobuhvatan popis bilja. Rijeka, Dušević i Kršovnik d.o.o., 2002, str 14, 169.
- Justino Gonçalo C. Flavonoids from biosynthesis to human health. Rijeka, INTECH, 2017, 3-8, 18-20, 24-25, 287-288., 290-291, 308, 335-346, 357, 385.
- Khan I, Shah S, Ahmad J, Abdullah A, Johnson SK. Effect of Incorporating Bay Leaves in Cookies on Postprandial Glycemia, Appetite, Palatability, and Gastrointestinal Well-Being. *J Am Coll Nutr*, 2017, 36(7), 514-519.
- Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76, 560-568.
- Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Sci World J*, 2013, 1-16.
- Kuštrak D. Farmakognozija fitofarmacija. Zagreb, Golden marketing - Tehnička knjiga, 2005, str. 296.
- Lauraceae, <https://www.britannica.com/plant/Laurales#ref594437>, pristupljeno 17.08.2018.
- Lauraceae, <https://www.organicfacts.net/health-benefits/oils/sassafras-oil.html>, pristupljeno 21.08.2018.
- Lauraceae, <http://www.theplantlist.org/browse/A/Lauraceae/>, pristupljeno 17.08.2018.
- Laurus, <http://www.theplantlist.org/browse/A/Lauraceae/Laurus>, pristupljeno 18.08.2018.
- Lee T, Lee S, Kim K. H, Oh K. B, Shin J, Mar W. Effects of magnolialide isolated from the leaves of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) on immunoglobulin E-mediated type I hypersensitivity *in vitro*. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(2), 550-556.
- Lesinger I. Liječenje začinskim biljem (L-Ž), Rijeka, Adamić, 2006., str. 211-216.
- Macchioni F, Perrucci S, Cioni P, Morelli I, Castilho P, Cecchi F. Composition and acaricidal activity of *Laurus novocanariensis* and *Laurus nobilis* essential oil against *Psoraptres cuniculi*. *J Essent Oil Res*, 2006, 18(1), 111-114.
- Mägdefrau K. Ehrendorfer F. Botanika sistematika, evolucija i geobotanika. Zagreb, Školska knjiga, 1997, 313-314.
- Manach C, Regerat F, Texier O, Agullo G, Demigne C, Remesy C. Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutr Res*, 1996, 16(3), 517-544.
- Marković S. Fitoaromaterapija: monografije esencijalnih ulja i ljekovitih biljaka, temelji fitoaromaterapije. Zagreb, Centar Cedrus, 2005, str. 78, 286-287, 351-352.
- Martić I. Čovjek i ljekovito bilje. Zagreb, Školska knjiga, 2003, str. 7.
- Muñiz-Márquez DB, Martínez-Ávila GC, Wong-Paz JE, Belmares-Cerda R, Rodríguez-Herrera R, Aguilar CN. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrason Sonochem*, 2013, V20, I5, 1149-1154.

- Nijveldt RJ, von Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leewen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 2001, 74(4), 418-425.
- Nikolić T. Sistemska botanika: raznolikost i evolucija biljnog svijeta. Zagreb, Alfa d.d., 2013, str. 107-108, 360-365, 371-375.
- Otsuka N, Liu MH, Shiota S, Ogawa W, Kuroda T, Hatano T, Tsuchiya T. Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) compounds isolated from *Laurus nobilis*. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(9), 1794-1797.
- Pacifico S, Gallicchio M, Lorenz P, Duckstein SM, Potenza N, Galasso S, Marciano S, Fiorentino A, Stintzing FC, Monaco P. Neuroprotective potential of *Laurus nobilis* antioxidant polyphenol-enriched leaf extracts. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27(4), 611-626.
- Paladini AC, Marder M, Viola H, Wolfman C, Wasowski C, Medina JH. Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factors to potent anxiolytic compounds. *J Pharm Pharmacol*, 1999, 51, 519-26.
- Peixoto L. R, Rosalen P. L, Ferreira G. L. S, Freires I. A, de Carvalho F. G, Castellano L. R, de Castro R. D. Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida spp.* *Arch Oral Biol*. 2017, 73, 179-185.
- Perez-Vizcaino F, Bishop-Bailley D, Lodi F, Duarte J, Cogolludo A, Moreno L, Bosca L, Mitchell J, Warner T. The flavonoid quercetin induces apoptosis and inhibits JNK activation in intimal vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 346, 2006, 919-925.
- Qnais EY, Abdulla FA, Kaddumi EG, Abdalla SS. Antidiarrheal activity of *Laurus nobilis* L. leaf extract in rats. *J Med Food*, 2012, 15(1), 51-57.
- Simić M, Kundaković T, Kovačević N. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, 2003, 74(6), 613-616.
- Spencer J. Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. *Genes Nutr*, 2009, 4(4), 243-250.
- Toplak Galle K. Domaće ljekovito bilje. Mozaik knjiga, Zagreb, 2016, str. 8-11, 24.
- Vladimir-Knežević S. Farmakognozija I, Prirodni fenolni spojevi. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2008.
- Vrsta *Laurus nobilis* L.: <https://botanical.com/botanical/mgmh/1/larbay10.html>, pristupljeno 3.09.2018.
- Živković R. Prirodno liječenje probavnih organa ljekovitim biljem i dijetom. Zagreb, Školska knjiga, 1997, str. 256.

7. SAŽETAK / SUMMARY

U okviru ovoga diplomskog rada provedena je kvantitativna analiza flavonoida lista lovora (*Laurus nobilis* L., Lauraceae) s područja Lovrana, kroz razdoblje od svibnja 2015. do travnja 2016. godine, a u svrhu praćenja sezonske varijabilnosti sadržaja tih biološki aktivnih polifenolnih tvari. Udio flavonoida lovora, izražen kao kvercetin, određen je spektrofotometrijski na 421 nm (maksimum apsorpcije), odnosno na 425 nm (prema izvornoj metodi). Sadržaj ukupnih flavonoida u listovima lovora (apsorbancija na 421 nm) kretao se u rasponu od 0,26% (ožujak i travanj 2016.) do 0,74% (kolovoz 2015.), odnosno u rasponu od 0,23% (ožujak i travanj 2016.) do 0,71% (kolovoz 2015.) (apsorbancija na 425 nm). Provedena kvantitativna analiza predstavlja doprinos znanstvenom istraživanju lovora i upotpunjuje dosadašnje spoznaje o sadržaju polifenolnih sastavnica, posebice u pogledu udjela flavonoidnih tvari i njihove sezonske varijabilnosti, što može pomoći u procjeni fitoterapijskog potencijala te vrste *Laurus nobilis* L.

Summary

In this work, quantitative analysis of flavonoids in leaves of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) from Lovran was carried out. The samples of laurel leaves were collected during one year period (from May 2015 to April 2016) with the intention of determining the seasonal variability of the flavonoid contents. Quantitative analysis of flavonoids was carried out using the spectrophotometric method. The contents of analyzed compounds varied in laurel leaves from 0,26% (March and April 2016) to 0,74% (August 2015) (421 nm, max. abs.), and from 0,23% (December 2015) to 0,71% (August 2015) (425 nm, according to method). Conducted quantitative analysis is a contribution to the scientific study of polyphenols of *Laurus nobilis* L. and completes the existing knowledge about phytotherapeutic potential of laurel, especially in relation to the content and seasonal variability of flavonoid substances.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za Analitiku i kontrolu lijekova
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

SEZONSKA VARIJABILNOST SADRŽAJA FLAVONOIDA VRSTE *LAURUS NOBILIS* L. (LAURACEAE) S PODRUČJA LOVRANA

Marija Čuić

SAŽETAK

U okviru ovoga diplomskog rada provedena je kvantitativna analiza flavonoida lista lovora (*Laurus nobilis* L., Lauraceae) s područja Lovrana, kroz razdoblje od svibnja 2015. do travnja 2016. godine, a u svrhu praćenja sezonske varijabilnosti sadržaja tih biološki aktivnih polifenolnih tvari. Udio flavonoida lovora, izražen kao kvercetin, određen je spektrofotometrijski na 421 nm (maksimum apsorpcije), odnosno na 425 nm (prema izvornoj metodi). Sadržaj ukupnih flavonoida u listovima lovora (apsorbancija na 421 nm) kretao se u rasponu od 0,26% (ožujak i travanj 2016.) do 0,74% (kolovoz 2015.), odnosno u rasponu od 0,23% (ožujak i travanj 2016.) do 0,71% (kolovoz 2015.) (apsorbancija na 425 nm). Provedena kvantitativna analiza predstavlja doprinos znanstvenom istraživanju lovora i upotpunjuje dosadašnje spoznaje o sadržaju polifenolnih sastavnica, posebice u pogledu udjela flavonoidnih tvari i njihove sezonske varijabilnosti, što može pomoći u procjeni fitoterapijskog potencijala te vrste *Laurus nobilis* L.

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

Rad sadrži: 48 stranica, 35 slika, 1 grafički prikaz, 4 tablice i 50 literaturnih navoda.
Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *Laurus nobilis* L., flavonoidi, kvantitativna analiza, UV-Vis spektrofotometrija, sezonska varijabilnost

Mentor: **Dr. sc. Renata Jurišić Grubešić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Renata Jurišić Grubešić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Živka Juričić, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Maja Ortner Hadžiabdić, docentica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: rujan 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmaceutical Analysis
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

SEASONAL VARIABILITY OF THE FLAVONOIDS CONTENTS OF *LAURUS NOBILIS* L. (LAURACEAE) FROM LOVRAN

Marija Čuić

In this work, quantitative analysis of flavonoids in leaves of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) from Lovran was carried out. The samples of laurel leaves were collected during one year period (from May 2015 to April 2016) with the intention of determining the seasonal variability of the flavonoid contents. Quantitative analysis of flavonoids was carried out using the spectrophotometric method. The contents of analyzed compounds varied in laurel leaves from 0,26% (March and April 2016) to 0,74% (August 2015) (421 nm, max. abs.), and from 0,23% (December 2015) to 0,71% (August 2015) (425 nm, according to method). Conducted quantitative analysis is a contribution to the scientific study of polyphenols of *Laurus nobilis* L. and completes the existing knowledge about phytotherapeutic potential of laurel, especially in relation to the content and seasonal variability of flavonoid substances.

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

Thesis includes: 48 pages, 35 figures, 1 chart, 4 tables and 50 references.
Original is in Croatian language.

Keywords: *Laurus nobilis* L., flavonoids, quantitative analysis, UV-Vis spectrophotometry, seasonal variability

Mentor: **Renata Jurišić Grubešić, Ph.D.** Full Professor, University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Renata Jurišić Grubešić, Ph.D.** Full Professor, University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Živka Jurišić, Ph.D. Full Professor, University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Maja Ortner Hadžiabdić, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2018