

Sastav i antioksidativna aktivnost etanolnog ekstrakta medvjetskina lista (Uvae ursi folium)

Zovko, Marijana; Kosalec, Ivan; Kalodera, Zdenka; Pepljnjak, Stjepan; Todoric-Kovačević, Vesna

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2008, 64, 299 - 308**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:487694>

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](#)



Sastav i antioksidativna aktivnost etanolnog ekstrakta medvjetskina lista (*Uvae ursi folium*)

MARIJANA ZOVKO¹, IVAN KOSALEC¹, ZDENKA KALOĐERA¹,
STJEPAN PEPELJNJAK¹, VESNA TODORIĆ-KOVAČEVIĆ²

¹Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb i
²BELUPO d.d. Danica 5, 48000 Koprivnica

Composition and antioxidant activity of bearberry leaf (*Uvae ursi folium*) ethanolic extract

S u m m a r y – Bearberry leaf is a drug frequently used in treatment of urological infections. Ethanolic extract of bearberry leaf was prepared by ultrasonication. Phenolic composition of the extract was compared to the composition of drug. The study has revealed that both, bearberry leaf and its ethanolic extract, are rich in phenolic compounds that make 65.95% and 22.77% of their weight, respectively. Extract and drug contain 21.00% and 6.26%, of phenolic glycosides, as well as 22.77% and 11.83% tannins, respectively. Phenolic glycosides to tannins ratio is notably higher in the extract, pointing to possible reduction in side effects with use of extract instead of drug. Furthermore, antioxidant activity of the extract was determined and compared to activity of synthetic antioxidant butylated hydroxyanisol (BHA). Antioxidant activity was determined by three methods: reducing power, reactivity with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical and β -carotene-linoleate assay. The extract was an effective antioxidant in all the tests employed, especially as scavenger of DPPH free radical, as well as in β -carotene linoleate assay, where no statistically significant difference between activity of bearberry leaf extract and BHA could be observed ($p > 0,05$).

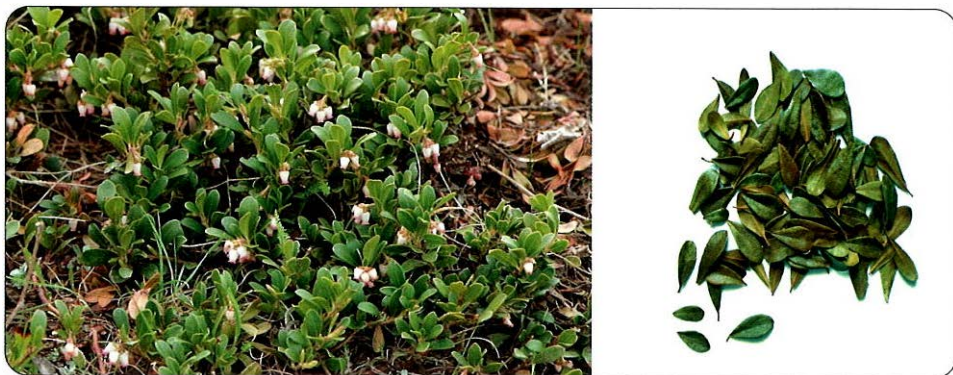
(¹Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia and ²BELUPO d.d., 48000 Koprivnica, Croatia).

UVOD

Veći broj sintetskih antioksidansa, kao što su butilirani hidroksianisol (BHA) i butilirani hidroksitoluen (BHT), dodaju se hrani i farmaceutskim proizvodima kako bi spriječili oksidativne procese. Iako se smatra da su ovi spojevi relativno sigurni za zdravlje, u literaturi se mogu naći i podaci o njihovoj potencijalnoj štetnosti (1). Stoga se u novije vrijeme pozornost usmjerava na pronalaženje antioksidansa iz prirodnih izvora. Prirodni

antioksidansi mogu biti, primjerice, vitamini koji su uobičajeni dio prehrane ili različiti biljni ekstrakti bogati prirodnim spojevima izraženih antioksidativnih svojstava. Danas se posebice intenzivno istražuju prirodni fenolni spojevi i njihova antioksidativna aktivnost. Ekstrakti biljaka i drugi biljni materijali bogati polifenolima osobito su zanimljivi zbog svoje moći da uspore oksidativnu degradaciju lipida i time poboljšaju kvalitetu i nutritivnu vrijednost hrane. Prisutnost takvih spojeva u biljnim materijalima je zanimljiva i zbog moguće uloge u zaštiti zdravlja, npr. prevenciji bolesti krvožilnog sustava ili malignih oboljenja (2).

Jedna od biljnih vrsta koje se mogu naći na području Hrvatske, a koje su izrazito bogate fenolnim spojevima, je i medvjетка (*Arctostaphylos uva ursi* L., *Ericaceae*) (slika 1a). U ljekovite svrhe koriste se osušeni listovi medvjette (*Uvae ursi folium*) (slika 1b). Zbog prisutnosti fenolnih glikozida, medvjетkin list se primjenjuje kao antiseptik mokraćnih puteva te je sastavnica brojnih uroloških čajeva (3). Droga je oficinalna u Hrvatskoj (4) i Europskoj (5) farmakopeji. Novija istraživanja nekoliko pripravaka od medvjетkina lista različitog podrijetla i načina pripreme ukazala su na potencijalnu antimikrobnu i antioksidativnu vrijednost te droge (6, 7, 8).



Slika 1. a) Medvjетка u cvatu (9) i b) osušeni medvjетkin list (*Uvae ursi folium*)

Najvažnije sastavnice medvjетkina lista su fenolski glikozidi arbutin i metilarbutin. To su β -O-glukozidi hidrokinaona, odnosno metilhidrokinaona, na čijoj prisutnosti se zasniva antibakterijski učinak droge. Oni u bazičnom mediju podliježu hidrolizi pri čemu nastaje snažan antiseptik, hidrokinaon (1, 10, 11). Sadržaj arbutina i metilarbutina varira od 5 do 10%, a njihov međusobni omjer ovisi o zemljopisnom podrijetlu biljnog materijala. Medvjетkini listovi sadrže i 10–15% trjeslovina, najviše galotanina, zatim 1–2% flavonoida (hiperozida i glikozida kvercetina i miricetina) te 0,4–0,8% triterpena (3).

Zbog visokog sadržaja trjeslovina u listu, čaj ima gorak i stežući okus. Visoki sadržaj trjeslovina u pacijenata s osjetljivim želucem u većim količinama može izazvati mučninu i povraćanje te uzimanje čaja od medvjетkina lista nije preporučljivo trudnicama, dojiljama i djeci do 12 godina (11). Stoga je cilj ovog rada bio prirediti ekstrakt medvjетkina

lista s povećanim udjelom arbutina, a uz smanjeni udio trjeslovina. Nadalje, cilj rada bio je također ispitati antioksidativno djelovanje takvog ekstrakta.

EKSPERIMENTALNI DIO

Materijal za ispitivanje

Medvjеткиn list (*Uvae ursi folium*) bio je dar tvrtke Belupo d.d. Udio nekoliko vrsta fenolnih spojeva određen je u drogi usitnjennoj u prašak te ekstraktu droge u 96% etanolu. Ekstrakt je priređen tako da je 20 g droge ekstrahirano sa 100 mL 96%-tnog etanola na ultrazvučnoj kupelji 45 minuta pri 45°C, filtrirano te upareno pri sniženom tlaku na rotacijskom vakuum uparivaču. Tako dobivenom ekstraktu određen je sastav i antioksidativna aktivnost.

Aparatura i reagensi

U radu su korišteni sljedeći uređaji: spektrofotometar (Spectronic Unicam, HeLIOS γ , Njemačka), rotavapor (Büchi, Njemačka) i ultrazvučna kupelj (Sonorex digital 10P, Bاندelin electronic, Njemačka).

U ispitivanjima su korištene sljedeće kemijske tvari: natrijev acetat, aluminiјev klorid, heksametilentetramin (Kemika, Hrvatska), kalijev heksacijanoferat (Merck, Njemačka), Folin-Ciocalteuov reagens (Fluka, Švicarska), β -karoten (Fluka, Švicarska), kazein, trikloroctena kiselina, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), *tert*-butil-4-hidroksianisol (BHA) i Tween 40 (SigmaAldrich, USA). Sve ostale korištene kemijske tvari i otapala bile su *p.a.* čistoće.

Metode istraživanja

Ukupni polifenoli i trjeslovine

Medvjеткиnu listu (0,25 g) ili ekstraktu (0,1 g) dodan je 30%-tni metanol (m/V) (80 mL) i sve zagrijano na kipućoj vodenoj kupelji oko 15 minuta uz povratno hladilo. Nakon hlađenja iscrpina je filtrirana u odmjernu tikvicu od 100 mL te nadopunjena do oznake 30%-tnim metanolom. U 2 mL iscrpine dodano je 8 mL vode i 10 mL puferske otopine natrijeva acetata (pH=5) (otopina 1). U 10 mL otopine 1 dodano je 50 mg kazeina. Smjesa je ostavljena na sobnoj temperaturi uz konstantno miješanje 45 min (otopina 2) te filtrirana.

U dvije odmjerne tikvice pojedinačno je otpipetirano po 1 mL otopine 1 i otopine 2. Zatim je dodano 0,5 mL Folin-Ciocalteuova reagensa i nadopunjeno do oznake 33%-tnom otopinom natrijeva karbonata dekahidrata. Apsorbancije dobivenih plavih otopi na izmjerene su spektrofotometrijski na 720 nm uz vodu kao kompenzacijsku otopinu. Maseni udio ukupnih polifenola i trjeslovina izračunat je iz baždarnog pravca taninske kiseline. Vrijednost koju daje otopina 1 odgovara ukupnoj količini polifenola, dok razlika među vrijednostima dobivenim za otopinu 1 i otopinu 2 ukazuje na količinu trjeslovina (12).

Određivanje arbutina i metilarbutina

Količina arbutina i metilarbutina određena je prema literaturnom propisu (13). Droga (0,4 g) ili ekstrakt (0,1 g) zagrijani su s 50 mL vode u vodenoj kupelji uz zračno hladilo 30 minuta te profiltrirani. U lijevak za odjeljivanje dodano je 5 mL dobivene otopine, 45 mL vode, 1 mL 2%-tnog aminopirazolona (m/V), 0,5 mL 3,5%-tnog amonijeva hidroksida (m/V) i 1 mL 8%-tnog kalijeva fericijanida (m/V). Nakon 5 minuta sadržaj u lijevku ekstrahiran je 3 puta s po 25 mL kloroforma. Kloroformski slojevi su spojeni te razrijeđeni na volumen od 100 mL. Apsorbancije otopina izmjerene su na 455 nm uz kloroform kao kompenzacijsku otopinu. Maseni udio fenolnih glikozida, izračunat je prema izrazu:

$$w(\%) = \frac{A \times 7,716}{m}$$

gdje je: $w(\%)$ - maseni udio fenolnih glikozida izražen kao postotak arbutina, A - apsorbanca ispitivane otopine na 455 nm, a m masa droge ili ekstrakta (g).

Određivanje reduksijske moći ekstrakata

Reduksijska moć ekstrakta medvjatkina lista određena je prema propisu iz literature (14). Ekstrakt (0,1–0,5 mg) je otopljen u 1 mL destilirane vode. Otopini je zatim dodano 2,5 mL 0,2 M fosfatnog pufera (pH=6,6) i 2,5 mL 1%-tne otopine kalijeva fericijanida (m/V) te sve inkubirano na vodenoj kupelji pri 50°C 20 minuta. Nakon toga je dodano 2,5 mL 10%-tne otopine (m/V) triklorocetene kiseline i smjesa centrifugirana na 1750×g 10 min. Alikvotu od 2,5 mL gornjeg sloja dodano je 2,5 mL destilirane vode i 0,5 mL 0,1% (m/V) otopine FeCl₃. Izmjerena je apsorbanca na 700 nm. Veća apsorbanca upućuje na veću reduksijsku moć.

Određivanje antiradikalne aktivnosti

Određena je antiradikalna aktivnost ekstrakta (15). U 2 mL otopine ekstrakata, ili otopine BHA koncentracije 0,4, 2, 10 ili 50 g/mL dodano je 2 mL otopine DPPH koncentracije 0,16 mM u 96%-tnom etanolu. Nakon 30 minuta izmjerena je apsorbanca na 517 nm. Kontrolna otopina bila je 0,08 mM otopina DPPH u istom otapalu. Kompenzacijska otopina priređena je miješanjem 2 mL otopine BHA (250 g/mL) s 2 mL otopine DPPH (0,16 mM). Antiradikalna aktivnost (RSA) izračunata je kao omjer smanjenja apsorbanca otopine DPPH nakon dodatka ekstrakta i apsorbanca kontrolne otopine DPPH, prema formuli:

$$\% \text{ RSA} = \left(1 - \frac{A_E}{A_D} \right) \times 100$$

gdje je A_E - apsorbanca otopine DPPH nakon dodatka ekstrakta, a A_D - apsorbanca kontrolne otopine DPPH.

Analiza antioksidativne aktivnosti β -karoten linoleatnim testom

Antioksidativna aktivnost ekstrakata procijenjena je i β -karoten linoleatnim testom prema literaturnom propisu (16). U 2 mL otopine β -karotena u kloroformu ($\gamma=0,1$ mg/mL) dodano je 20 mg linoleinske kiseline i 200 mg Tweena 40. Kloroform je uklonjen pri sniženom tlaku na rotacijskom vakuum uparivaču. U tikvicu je dodano 50 mL aerirane destilirane vode. Sve je snažno promiješano. Alikvoti od 5 ml tako pripremljene emulzije preneseni su u epruvete s 2 mg ekstrakta, odnosno 0,5 mg BHA. Epruvete su stavljene u vodenu kupelj na 50°C tijekom 2 sata. Apsorbancija svakog uzorka izmjerena je na 470 nm, odmah nakon pripreme uzorka ($t=0$) te u intervalima od 15 minuta do kraja pokusa ($t=120$).

Brzina izbjeljivanja β -karotena (R) izračunata je prema kinetici prvog reda (17).

$$R = \frac{1}{t} \times \ln \frac{A_{t=0}}{A_{t=t}}$$

gdje je $A_{t=0}$ početna apsorbancija na 470 nm ($t=0$), $A_{t=t}$ je apsorbancija u intervalima od 15, 30 i 45 minuta, a t je vrijeme u minutama. S obzirom na brzinu nakon 15, 30 i 45 minuta izračunata je prosječna brzina reakcije. Pomoću prosječne brzine reakcije izračunata je antioksidativna aktivnost (ANT) kao postotak inhibicije brzine izbjeljivanja β -karotena u odnosu na vodenu kontrolu prema jednadžbi:

$$\text{ANT}(\%) = \frac{R_{\text{kontrola}} - R_{\text{uzorak}}}{R_{\text{kontrola}}} \times 100$$

gdje su R_{kontrola} i R_{uzorak} prosječne brzine izbjeljivanja β -karotena u emulzijama bez antioksidansa i s biljnim ekstraktom.

Nadalje, antioksidativna aktivnost je procijenjena i tako da je uspoređivana u odnosu na dvije kontrole: pozitivnu kontrolu, BHA, koji bi trebao nuditi potpunu zaštitu od oksidacije β -karotena, i vodenu kontrolu koja ne štiti od oksidacijskih promjena (6). Aktivnost je određena u dvije vremenske točke: 60. i 120. minuti (AA-60 i AA-120) te izračunata prema sljedećoj jednadžbi:

$$\text{AA}(\%) = \left(1 - \frac{A_E^{t=0} - A_E^{t=t}}{(A_W^{t=0} - A_W^{t=t}) + (A_{BHA}^{t=0} - A_{BHA}^{t=t})} \right) \times 100$$

gdje je AA antioksidativna aktivnost, $A_E^{t=0}$ je apsorbancija odgovarajućeg ekstrakta nakon 0 min, $A_E^{t=t}$ je apsorbancija ekstrakta nakon $t=60$ ili 120 min, $A_W^{t=0}$ je apsorbancija vodene kontrole nakon 0 min, $A_W^{t=t}$ je apsorbancija vodene kontrole nakon $t=60$ ili 120 min, $A_{BHA}^{t=0}$ je apsorbancija BHA nakon 0 min, a $A_{BHA}^{t=t}$ je apsorbancija BHA nakon $t=60$ ili 120 min od početka reakcije.

Statistička analiza

Sva određivanja provedena su u triplikatu, a rezultati izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Antioksidativna aktivnost ekstrakta medvjerkina lista i BHA uspoređena je Studentovim t-testom pomoću GraphPad Prism version 3.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.

REZULTATI I RASPRAVA

Određivanje količine fenolnih spojeva u medvjerkinu listu

U medvjerkinu listu i njegovom etanolnom ekstraktu određen je ukupni udio fenolnih spojeva koji je i najvažniji parametar za procjenu antioksidativne aktivnosti neke droge. Osim toga, određen je i udio fenolnih glikozida, arbutina i metilarbutina, odgovornih za uroantiseptički učinak pripravaka droge. Nadalje, ispitana je i količina trjeslovina, odgovornih za nuspojave koje droga može izazvati.

Tablica 1. Udio fenolnih spojeva u medvjerkinu listu

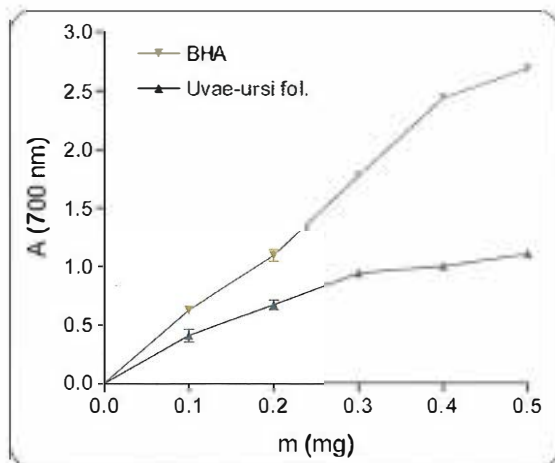
Fenolni spoj	w (%) \pm SD	
	Droga	Etanolni ekstrakt
<i>Ukupni fenoli</i>	21,37 \pm 0,80	65,95 \pm 1,60
<i>Trjeslovine</i>	11,83 \pm 1,03	22,77 \pm 0,02
<i>Fenolni glikozidi</i>	6,29 \pm 0,02	21,00 \pm 0,08
<i>FG:T*</i>	1:1,9	1:1,1

* - omjer udjela fenolnih glikozida (FG) i trjeslovina (T)

Ukupna količina fenolnih spojeva u medvjerkinu listu i njegovom etanolnom ekstraktu prikazana je u tablici 1. I ekstrakt i droga su bogati fenolnim spojevima koji čine oko 65,95% odnosno 22,77% njihove ukupne mase. Fenolni glikozidi, izraženi kao arbutin, zastupljeni su s udjelom od 21,00% odnosno 6,26%, a trjeslovine s 22,77% odnosno 11,83%. Budući da je ekstrakt priređen pri povišenoj temperaturi s etanolom, otapalom u kojemu su fenolni spojevi relativno dobro topljivi, razumljivo je da je udio svih ispitivanih spojeva veći u ekstraktu nego u drogi. S obzirom na takav sastav može se očekivati vrlo visoka antioksidativna aktivnost etanolnog ekstrakta medvjerkina lista.

Kako bi se saznalo nešto i o međusobnim odnosima količina ispitivanih spojeva određen je i omjer količine arbutina i trjeslovina u ekstraktu i drogi. Taj omjer za ekstrakt medvjerkina lista iznosi 1:1,1, a za drogu 1:1,9. Iz toga se može zaključiti da bi količina ekstrakta koja bi sadržavala jednaku količinu arbutina i metilarbutina kao droga, ujedno sadržavala gotovo dvostruko manje trjeslovina. Kako su trjeslovine odgovorne za gastrointestinalne nuspojave koje uporaba medvjerkina lista može izazvati (11), s pravom se može očekivati da bi uporaba ekstrakta umjesto droge smanjila njihovu učestalost.

Određivanje antioksidativne aktivnosti



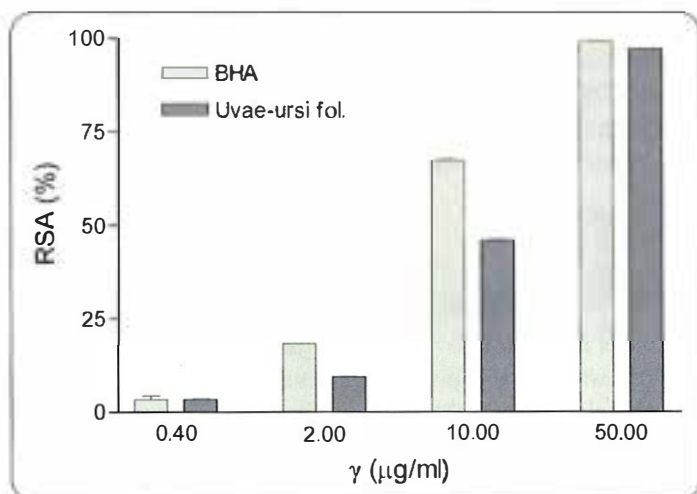
Grafikon 1. Redukcijska moć BHA i medvjetskina lista

Mjerenje redukcijske moći zasniva se na svojstvu antioksidansa da uzrokuju prijelaz željeznih iona iz Fe^{3+} u Fe^{2+} , što dovodi do nastanka Perlovog Prusijskog plavila s apsorpcijskim maksimumom na 700 nm. Veća apsorbancija upućuje na veću redukcijsku moć. Srednje vrijednosti izmjerenih apsorbancija pripadajućim standardnim devijacijama za odvage od 0,1-0,5 mg medvjetskina lista i sintetičkog antioksidanasa, BHA, prikazane su na grafikonu 1. U ispitivanim koncentracijama redukcijska moć ekstrakta i BHA linearno raste s porastom koncentracije otopine ekstrakta (r^2 vrijednosti iznose 0,92 i 0,98). Iako medvjetkin list pokazuje izraženu redukcijsku moć, statistička analiza ukazuje na to da je ona ipak znatno niža od redukcijske moći BHA.

Za razliku od redukcijske moći, antiradikalna aktivnost medvjetskina lista je znatnije izražena (grafikon 2). Ta aktivnost izmjerena je pomoću DPPH slobodnog radikala. Svježe pripremljena otopina DPPH· ima intenzivnu ljubičastu boju s apsorpcijskim maksimumom na 517 nm. U prisutnosti antioksidansa intenzitet obojenja se smanjuje. Rezultat je izražen kao RSA vrijednost, odnosno postotak smanjenja apsorbancije otopine s antioksidansom u odnosu na otopinu DPPH iste koncentracije kojoj nije dodan antioksidans.

Iz grafičkog prikaza vidljivo je da antiradikalna aktivnost raste s porastom koncentracija otopine ekstrakta i BHA. Pri koncentraciji od 50 g/mL i ekstrakt i BHA pokazuju maksimalnu aktivnost. Antiradikalna aktivnost otopine BHA je nešto veća pri svim ispitivanim koncentracijama. No aktivnost ekstrakta droge se od aktivnosti BHA statistički značajno ne razlikuje ($p > 0,05$).

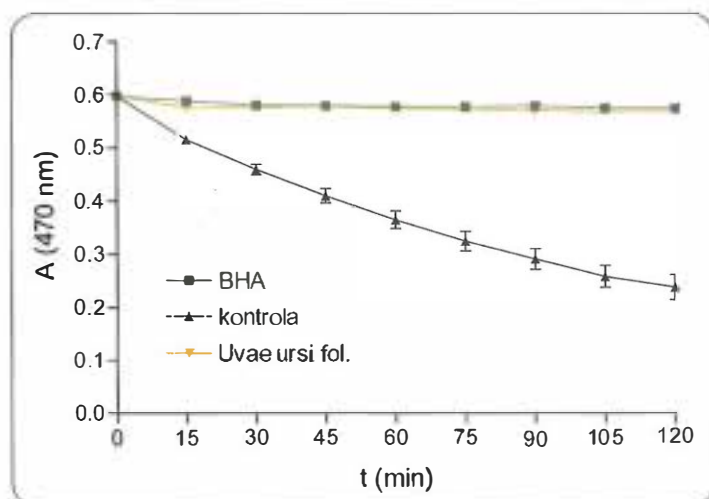
Antioksidativna aktivnost ekstrakta ispitana je i u emulziji u kojoj se nalaze β -karoten i linoleinska kiselina. Pri povišenoj temperaturi od linoleinske kiseline nastaje linoleatni radikal koji reagira s β -karotenom te on podliježe brzom obezbojenju zbog gubitka konjugiranih dvostrukih veza. Pri tome se gubi specifična narančasta boja otopine. Antioksi-



Grafikon 2. Antiradikalna aktivnost (RSA) medvjatkina lista i BHA

dansi mogu spriječiti ili odgoditi tu reakciju. Promjena apsorbancije emulzije s ekstraktom, BHA ili bez njih (kontrola) prikazana je na grafikonu 3. Vidljivo je da se apsorbancija na 470 nm u emulziji kojoj je dodan BHA tek neznatno mijenja s vremenom. Apsorbancija otopine kojoj je dodan ekstrakt medvjatkina lista također je gotovo konstantna tijekom 120 minuta. S druge strane, u otopini kojoj nije dodan antioksidans (kontrola), dolazi do brzog smanjenja apsorbancije.

Procjena antioksidativne aktivnosti može se dobiti pomoću dva parametra: vrijednosti ANT, koja daje podatke o inhibiciji degradacije β -karotena u prvih 45 minuta reakcije te



Grafikon 3. Promjena apsorbancije u emulziji s β -karotenom i linoleinskom kiselinom

AA-60 i AA-120 koji govore o antioksidativnoj aktivnosti u 60. i 120. minuti reakcije. Antioksidativna aktivnost izražena na ta dva načina prikazana je u tablici 2.

Tablica 2. Antioksidativne aktivnosti uzoraka

	BHA	Uvae-ursi fol.
ANT(%)	89,54 ± 3,82	83,92 ± 0,76
AA 60 (%)	93,74 ± 0,18	92,41 ± 1,49
AA 120 (%)	91,94 ± 0,44	90,75 ± 1,15

Antioksidativne aktivnosti u prvih 45 minuta (ANT) ekstrakta droge i BHA su vrlo visoke i iznose 83,92% i 89,54%. I antioksidativna aktivnost izražena kao AA-60 i AA-120 je iznimno visoka i za ekstrakt droge i BHA te i nakon 120 minuta ostaje viša od 90%. Statistički značajne razlike između antioksidativne aktivnosti ekstrakta medvjetskina lista i BHA nema ($p > 0,05$).

ZAKLJUČAK

Ultrazvučnom ekstrakcijom pripremljen je etanolni ekstrakt lista medvjette (*Uvae ursi folium*). Određena je ukupna količina fenolnih spojeva, trjeslovina i fenolnih glikozida u drogi i ekstraktu. Ispitivanja su pokazala da su i ekstrakt i droga bogati fenolnim spojevima koji čine oko 65,95% odnosno 22,77% njihove ukupne mase. Fenolni glikozidi, izraženi kao arbutin, zastupljeni su u ekstraktu i drogi s udjelom od 21,00% odnosno 6,26%, a trjeslovine s 22,77% odnosno 11,83%. Omjer fenolnih glikozida i trjeslovina je znatno veći u etanolnom ekstraktu nego u drogi, što bi moglo ići u prilog smanjenju nuspojave prilikom uporabe ekstrakta. Nadalje, određena je i antioksidativna aktivnost ekstrakta te uspoređena s aktivnošću sintetičkog antioksidansa, BHA. Antioksidativna aktivnost određena je pomoću tri metode: ispitana je moć redukcije Fe^{3+} u Fe^{2+} ion, reaktivnost s DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) slobodnim radikalom te antioksidativna aktivnost u β -karoten-linoleatnom testu. Ekstrakt medvjetskina lista pokazao se djelotvornim antioksidansom u svim provedenim ispitivanjima. Osobito se ističe njegova aktivnost kao hvatača slobodnih radikala u testu s DPPH te u testu s β -karotenom i linoleskom kiselinom gdje nije utvrđena statistički značajna razlika između aktivnosti ekstrakta medvjetskina lista i BHA. Stoga se može zaključiti da, uz dodatna ispitivanja, etanolni ekstrakt medvjetskina lista ima perspektivu za primjenu kao zamjena za sintetičke antioksidanse u dodacima prehrani.

Literatura References

1. <http://chemistry.about.com/library/weekly/aa082101a.htm>, datum pristupa 10.05.2008.
2. L. Packer, M. Hiramatsu, T. Yoshikawa, *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Elsevier, Amsterdam, 1999.
3. D. Kuštrak, *Farmakognozija i fitofarmacija*, Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb 2005, 396.
4. Hrvatska farmakopeja 2007 s komentarima, Hrvatsko farmaceutsko društvo, Zagreb 2007, 301.
5. *European Pharmacopocia*, Ed. 5, Vol. 2, Council of Europe, Strasbourg, 2006, 1054.
6. R. Amarowicz, R. B. Pegg, P. RahimiMoghaddam, B. Bari J. A. Weil, *Food Chem.* **84** (2004) 551.
7. G. A. Dykes, R. Amarowicz, R. B. Pegg, *Food Control* **14** (2003) 515.
8. V. Katalinic, M. Milos, T. Kulisic, M. Jukic, *Food Chem.* **94** (2006) 550.
9. http://www.em.ca/garden/native/nat_Arctostaphylos%20uva%20ursi.html, datum pristupa 10.02.2008.
10. J. Gelenčir, J. Gelenčir, *Atlas ljekovitog bilja*, Prosvjeta, Zagreb 1991, 179.
11. M. Wichtl, *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart 1994, 510.
12. G. Schneider, *Arch. Pharm.* **309** (1976) 38.
13. *Deutsches Arzneibuch 9 Ed. 9*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi-Verlag GmbH Frankfurt, 1986, 539.
14. G-C Yen, H-Y Chen, *J. Agr. Food Chem.* **43** (1995) 27.
15. T. Hatano, H. Kagawa, T. Yasuhara, T. ●kuda, *Chem. Pharm. Bull.* **36** (1988) 2090.
16. H. E. Miller, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **48** (1971) 91.
17. M. S. Al-Saikhan, L. R. Howard, J. C. Miller Jr, *J. Food Sci.* **60** (1995) 341.

Primitljeno 26. travnja 2008.