

# Hlapljivi biljni ekstrakti kao inhibitori enzima $\alpha$ -glukozidaze

---

**Mračić, Tihomir**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:473407>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-28**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET SPLIT**  
**I**  
**KEMIJSKO - TEHNOLOŠKI FAKULTET SPLIT**

**Tihomir Mračić**

**HLAPLJIVI BILJNI EKSTRAKTI KAO INHIBITORI ENZIMA**  
 **$\alpha$ -GLUKOZIDAZE**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**  
**2019./2020.**

**Mentor:**  
**Prof. dr. sc. Olivera Politeo**

**Split, ožujak 2020.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET SPLIT**  
**I**  
**KEMIJSKO - TEHNOLOŠKI FAKULTET SPLIT**

**Tihomir Mračić**

**HLAPLJIVI BILJNI EKSTRAKTI KAO INHIBITORI ENZIMA**  
 **$\alpha$ -GLUKOZIDAZE**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**  
**2019./2020.**

**Mentor:**  
**Prof. dr. sc. Olivera Politeo**

**Split, ožujak 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Medicinski fakultet i Kemijsko-tehnološki fakultet  
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA  
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

**Znanstveno područje:** Biomedicinska znanost  
**Znanstveno polje:** Farmacija  
**Nastavni predmet:** Biokemija  
**Tema rada:** je prihvaćena na 64. sjednici vijeća studija Farmacija te potvrđena na 32. Sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta i 26. sjednici Fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta  
**Mentor:** prof. dr. sc. Olivera Politeo  
**Pomoć pri izradi:** -

### HLAPLJIVI BILJNI EKSTRAKTI KAO INHIBITORI ENZIMA $\alpha$ -GLUKOZIDAZE

Tihomir Mračić, broj indeksa 112

**Sažetak:** Cilj ovog rada je pregledati literaturu provedenih istraživanja na temu eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja koji djeluju kao inhibitor na enzim  $\alpha$ -glukozidazu, čije djelovanje može imati učinak kod pacijenata koji boluju od dijabetesa tipa II. Predmet istraživanja su bila terpenima bogata eterična ulja, kao i izolirani terpenoidni spojevi. S ovim ciljem su pregledane dostupne knjige i internetske baze podataka (*Web of Science, PubMed, PubChem, PMC, Science Direct i RCSB Protein Data Bank*).  $\alpha$ -Glukozidaze imaju ulogu hidroliziranja kompleksnih ugljikohidrata u tankom crijevu čime se oslobađa  $\alpha$ -glukoza koja se zatim apsorbira u krv. Sintetski inhibitori enzima se koriste kao lijekovi, ali zbog učestalih nuspojava pri dugotrajnom korištenju, znanstvenici kontinuirano traže nove inhibitore, izolirane iz prirodnih izvora poput biljaka. Rezultati su pokazali da eterična ulja biljaka *Curcuma longa* L., *Rhaponticum acaule* (L.) DC., *Hymenocrater bituminosus* Fisch., *Aegle marmelos* (L.) Corrêa, *Thymus spathulifolius* Hausskn. i Velen i *Centaurium erythrea* Rafn imaju značajnu inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu. Jako malo čistih spojeva je testirano na inhibiciju ovog enzima. Od onih testiranih, najbolju inhibicijsku aktivnost su pokazali *ar*-turmeron, (*R*)-(+)-limonen, (*S*)-(-)-perilil alkohol i  $\alpha$ -terpineol.

**Ključne riječi:**  $\alpha$ -glukozidaze, inhibicijska aktivnost, biljni ekstrakt, eterična ulja, hlapljivi spojevi, terpeni, terpenoidi, *diabetes mellitus* tip 2.

**Rad sadrži:** 72 stranice, 9 slika, 19 tablica, 36 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav povjerenstva za obranu:

- |                                |                          |
|--------------------------------|--------------------------|
| 1. Doc. dr. sc. Franko Burčul  | predsjednik Povjerenstva |
| 2. Doc.dr.sc. Lea Kukoč-Modun  | član                     |
| 3. Prof.dr.sc. Olivera Politeo | član-mentor              |

**Datum obrane:**

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 2.**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

### GRADUATE THESIS

School of Medicine and Faculty of Chemistry and Technology  
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy  
University of Split, Croatia

**Scientific area:** Biomedical Sciences  
**Scientific field:** Pharmacy  
**Course title:** Biochemistry  
**Thesis subject** was approved by the Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. 64 as well as the Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no.32 and Faculty Council of School of Medicine, session no.26  
**Mentor:** PhD, full professor Oliver Politeo  
**Technical assistance:** -

### VOLATILE PLANT EXTRACTS AS INHIBITORS OF $\alpha$ -GLUCOSIDASE ENZYME

Tihomir Mračić, index number 112

**Summary:** The aim of this paper is to review studies conducted on the topic of essential oils and isolated volatile compounds in the composition of essential oils which act as inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase enzymes, whose action may have a negative effect in patients with type II *diabetes mellitus*. The subject of the study were terpene rich essential oils as well as isolated terpenoid compounds. To this end, available books and online databases (*Web of Science, PubMed, PubChem, PMC, Science Direct and RCSB Protein Data Bank*) have been reviewed.  $\alpha$ -Glucosidases have the role of hydrolyzing complex carbohydrates in the small intestine, thereby releasing  $\alpha$ -glucose which is then absorbed into the blood. Synthetic enzyme inhibitors are used as drugs, but because of the frequent side effects of long-term use, scientists are looking for new inhibitors, isolated from natural sources, such as plants. The results showed that the essential oils of the plants *Curcuma longa* L., *Rhaponticum acaule* (L.) DC., *Hymenocrater bituminosus* Fisch., *Aegle marmelos* (L.) Corrêa, *Thymus spathulifolius* Hausskn. and Velen and *Centaurium erythrea* Rafn had significant inhibitory activity on the enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Very few isolated compounds have been tested for inhibition of this enzyme. Of those tested, *ar*-turmerone, (*R*)-(+)-limonene, (*S*)-(-)-perillyl alcohol and  $\alpha$ -terpineol showed the best inhibitory activity..

**Key words:**  $\alpha$ -glucosidases, inhibitory activity, plant extract, essential oils, volatile compounds, terpenes, terpenoids, *diabetes mellitus* type 2

**Thesis contains:** 72 pages, 9 figures, 19 tables, 36 references

**Original in:** Croatian

#### Defense Committe:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Franko Burčul, PhD, assistant professor   | Chair person |
| 2. Lea Kukoč-Modun, PhD, assistant professor | Member       |
| 3. Olivera Politeo, PhD full professor       | Supervisor   |

**Defense date:**

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in the Library of School of Medicine Split, Šoltanska 2.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1 $\alpha$ -Glukozidaze.....	2
1.1.1 Mehanizam djelovanja $\alpha$ -glukozidaza .....	2
1.1.2. Važnost $\alpha$ -glukozidaza u patologiji metaboličkih poremećaja .....	3
1.2. Inhibitori $\alpha$ -glukozidaze .....	4
1.2.1. Biljni inhibitori $\alpha$ -glukozidaze.....	6
1.3. Sekundarni biljni metaboliti .....	6
1.3.1. Terpenoidi .....	7
1.4. Metoda testiranja aktivnosti inhibitora $\alpha$ -glukozidaza .....	8
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	10
3. MATERIJALI I METODE .....	12
4. REZULTATI.....	14
4.1. Kronološki prikaz rezultata inhibicije enzima $\alpha$ -glukozidaze eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja .....	15
5. RASPRAVA.....	45
5.1. Sposobnost eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja da inhibiraju enzim $\alpha$ -glukozidazu .....	46
6. ZAKLJUČCI .....	59
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	62
8. SAŽETAK.....	67
9. SUMMARY .....	69
10. ŽIVOTOPIS .....	71

## **1.UVOD**

## 1.1 $\alpha$ -Glukozidaze

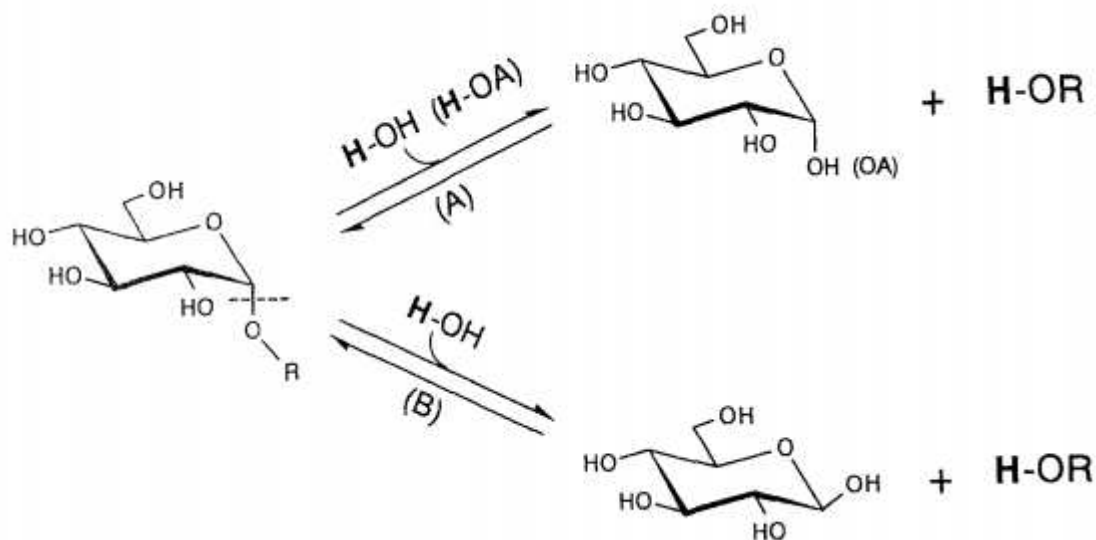
$\alpha$ -Glukozidaze (AG) su enzimi koji prema enzimskoj nomenklaturi spadaju u skupinu hidrolaza, podskupina glikozilaze i potpodskupinu glikozidaze (enzimi koji hidroliziraju *O*- i *S*-glikozilne strukture) s klasifikacijskom oznakom EC 3.2.1.20. Ovi enzimi su široko rasprostranjeni u mikroorganizmima, biljnom i životinjskom tkivu. Glavna uloga enzima je hidroliziranje terminalnih glikozidnih veza oligosaharida, sintetskih  $\alpha$ -glikozida koji sadrže  $\alpha$ -glikozidne veze, kao i  $\alpha$ -glukane poput hidrosolubilnog škroba i glikogena. Cijepanjem veze dolazi do oslobađanja  $\alpha$ -glukoze s kraja lanca. Neke  $\alpha$ -glukozidaze mogu katalizirati i reakcije transglukozilacije pa se ponekad nazivaju transglukozidazama. (1) Moderna klasifikacija  $\alpha$ -glukozidaze dijeli po homolognosti slijeda amino kiselina. Po strukturi se mogu podijeliti na dvije porodice, I i II. Enzimi iz porodice I su prisutni kod nekih mikroorganizama iz roda *Saccharomyces* i *Bacillus sp.*, kao i kod nekih insekata, te sadrže četiri konzervativne regije (1, 2, 3 i 4) koje dijele s  $\alpha$ -amilazama prisutnima u mikroorganizmima iz rodova *Aspergillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* i dr. Enzimi iz porodice II ne sadrže konzervativne regije 1, 3 i 4, a nalaze se u tkivima sisavaca, gljiva i biljaka. Ljudi posjeduju dvije podvrste  $\alpha$ -glukozidaze: humana lizosomalna kiselina AG i humana intestinalna AG koje spadaju u porodicu II. (2)

### 1.1.1 Mehanizam djelovanja $\alpha$ -glukozidaza

$\alpha$ -Glukozidaze kataliziraju dvije vrste reakcija: prijenos glukoznog ostatka s nereducirajućeg kraja oligosaharida na vodu (hidroliza) ili prijenos istog ostatka na akceptorsku molekulu (transglukozilacija). Ove reakcije se mogu smatrati nukleofilnom supstitucijom na asimetričnom  $C_1$  atomu anomernog centra. Produkti koji nastaju djelovanjem  $\alpha$ -glukozidaza zadržavaju konfiguraciju, dok djelovanjem glukoamilaza dolazi do inverzije konfiguracije (*Slika 1.*). Samo enzimi koji sudjeluju u reakcijama u kojima se zadržava konfiguracija mogu katalizirati reakcije transglukozilacije. Reakcija se može podijeliti na dvije faze. U prvoj fazi, nakon vezanja substrata na aktivno mjesto enzima, nukleofilna grupa s enzima (ionizirana karboksi grupa od aspartata, glutamata ili histidin imidazola) napada asimetrični  $C_1$  atom. Nastaje kovalentno vezani glukozil-enzim intermedijer s anomernom inverzijom na  $C_1$  atomu. Ova faza je karakterizirana prijenosom protona s donora na aktivnom mjestu (s karboksi grupe) na glikozidni kisik (hidroliza uz kiselinu). U drugoj fazi, hidroksilna grupa (kod hidrolize) ili šećerni ostatak (kod transglukozilacije) napadaju stvorenu etersku vezu te dolazi do ponovne inverzije konfiguracije na  $C_1$  atomu pa produkt reakcije zadržava istu konfiguraciju kao početni supstrat. Bitnu ulogu u ovoj fazi ima lužina koja privlači proton



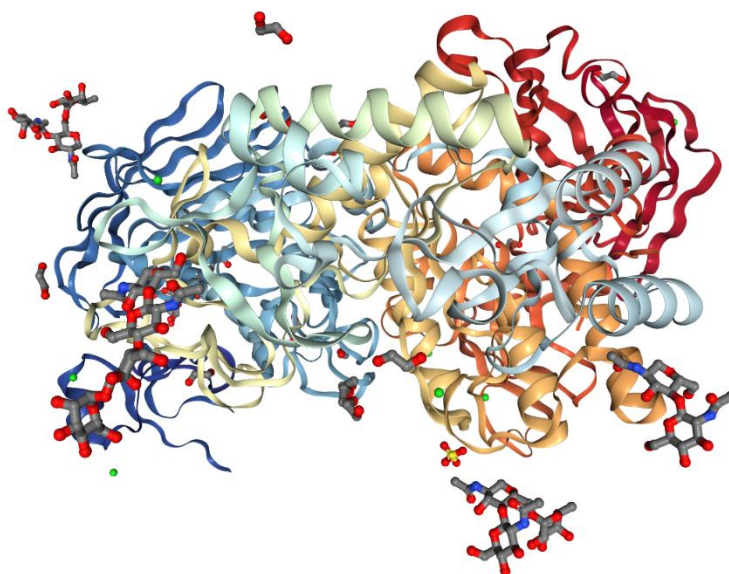
s vode (ili šećernog ostatka tijekom tranzglukozilacije), što povećava nukleofilna svojstva napadajućeg kisika (hidroliza uz lužinu). Kao lužina mogu poslužiti karboksilat aspartata ili glutamata. Enzim se vraća u početno protonirano stanje i reakcija završava.(1)



**Slika 1.** Prikaz reakcija hidrolize i tranzglukozilacije djelovanjem  $\alpha$ -glukozidaza (A) i glucoamilaza (B).  
R, šećerni ostatak; H-OA, proton akceptor; ----,mjesto cijepanja (2)

### 1.1.2. Važnost $\alpha$ -glukozidaza u patologiji metaboličkih poremećaja

$\alpha$ -Glukozidaze imaju značaj u više bolesti različitih etiologija. Pompeova bolest ili glikogenoza tipa II je autosomno recesivna, progresivna bolest uzrokovana nedostatkom lizosomalne kisele  $\alpha$ -glukozidaze. To je metabolička miopatija karakterizirana pohranom glikogena u lizosomima. Klasični oblik bolesti koji se pojavljuje kod novorođadi opisao je J.C. Pompe 1932. godine. Simptomi su poteškoće u hranjenju, respiratorne infekcije, hipotonija, smanjena pokretljivost, hipertrofična kardiomiopatija te srčano zatajenje. Pacijenti s klasičnim oblikom Pompeove bolesti rijetko prežive više od jedne godine. Kod pacijenata s manje progresivnim oblicima bolesti, nastup simptoma može se dogoditi u bilo kojoj životnoj dobi. Ozbiljnost bolesti više ovisi o njenom trajanju nego o dobi, a najčešći simptomi su disfunkcija skeletnih mišića i respiratorni problemi. 2006. godine je odobreno liječenje nadomjesnom terapijom rekombinantnom humanom lizosomalnom  $\alpha$ -glukozidazom. (3)



**Slika 2.** Prikaz trodimenzionalne strukture humane lizosomalne kisele  $\alpha$ -glukozidaze; PDB ID: 5NN3

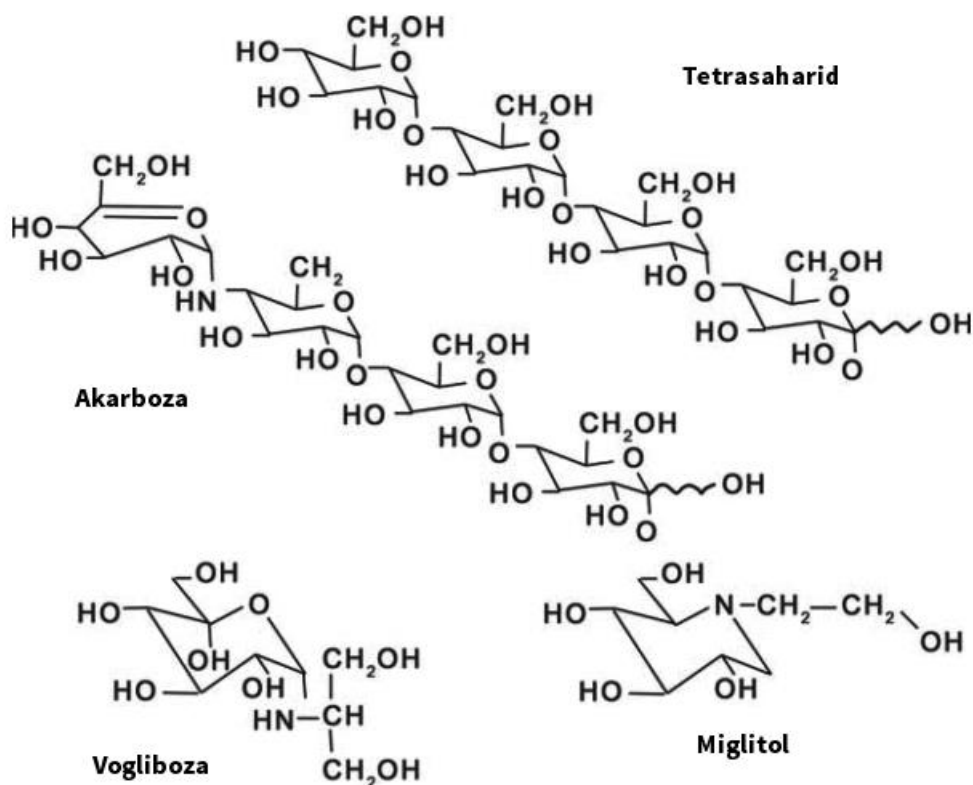
(4)

*Diabetes mellitus* tip 2 (DMT2) je kompleksna kronična bolest koja zahtjeva kontinuiranu farmakoterapiju, kao i mnogobrojne nefarmakološke mjere za smanjenje faktora rizika. (5) To je progresivna bolest koja je u početku karakterizirana pojavom inzulinske rezistencije i hiperinzulinemije koja napreduje u kroničnu hiperglikemiju s pojavom popratnih simptoma poput žeđi, poliurije, zamagljenog vida i gubitka težine. Neliječeni DMT2 dugoročno vodi do komplikacija poput retinopatije s potencijalnom sljepoćom, nefropatije koja vodi da bubrežnog zatajenja, neuropatije, razvoja dijabetičkog stopala i amputacije kao i makrovaskularnih komplikacija koje vode do pojave kardiovaskularnih bolesti. DMT2 čini oko 90% slučajeva dijabetesa te se smatrao adultnim oblikom dijabetesa, ali zadnjih godina postoji sve veća incidencija bolesti u djece i adolescenata. (6) Djelovanje  $\alpha$ -glukozidaza može imati negativan učinak na tijek bolesti zbog povećanog postprandijalnog unosa glukoze u krv i nastanka hiperglikemije. (7)

## 1.2. Inhibitori $\alpha$ -glukozidaze

Inhibitori  $\alpha$ -glukozidaze su oralni antidijabetici koji inhibiraju djelovanje intraepitelne  $\alpha$ -glukozidaze u tankom crijevu. Pripadnici skupine su akarboza, miglitol i vogliboza čije su strukture prikazane na *Slici 3*.

Povijest akarboze započinje programom probira raznih spojeva izoliranih iz vrsta *Actinomycetes sp.* koji je pokrenuo Bayer AG. Za jedan od spojeva (akarboza) su našli da je snažni inhibitor probavnih enzima kao što su  $\alpha$ -amilaza,  $\alpha$ -glukozidaza, sukraza i maltaza. U genomu *Actinoplanes sp.* SE50, 25 gena su identificirana koji kodiraju različite proteine potrebne za biosintezu akarboze, njen unutar- i izvanstanični transport te metabolizam. (7) Strukturno je pseudo-tetrasaharid s dušikovim atomom koji povezuje prvu i drugu jedinicu glukoze. Modifikacija prirodne tetrasaharidne strukture je važna za visoki afinitet i stabilnost vezanja za aktivna mjesta intraepitelnih  $\alpha$ -glukozidaza. Djeluje kao kompetitivni inhibitor  $\alpha$ -glukozidaza zbog čega mora biti prisutna na mjestu enzimske aktivnosti u isto vrijeme kao i ugljikohidrati. Najučinkovitije djeluje na  $\alpha$ -glukozidazu te također inhibira  $\alpha$ -amilazu. Miglitol ima jaču sposobnost inhibicije sukraze i maltaze od akarboze, ali nema djelovanje na  $\alpha$ -amilazu. Samo 0.5 - 1.7% akarboze se apsorbira nepromijenjeno, za razliku od miglitola koji se apsorbira 96% nepromijenjen. Otprilike 98% akarboze se razgradi do glukoze, maltoze i akarviozina djelovanjem bakterijskih enzima. (8)



Slika 3. Prikaz molekularnih struktura inhibitora  $\alpha$ -glukozidaze (9)

Inhibitori  $\alpha$ -glukozidaze prvenstveno djeluju na  $\alpha$ -glukozidaze jejunuma. Posljedično, veći udio neprobavljenih ugljikohidrata stiže do ileuma i uzlaznog debelog crijeva te dolazi do dugotrajnog povećanja GLP1 (glukagonu sličan peptid-1). Zbog većeg udjela kompleksnih ugljikohidrata u debelom crijevu dolazi do njihove fermentacije do kratkolančanih masnih kiselina i stvaranja plinova, što je uzrok najčešćih nuspojava, meteorizma i flatulencije.(8)

### 1.2.1. Biljni inhibitori $\alpha$ -glukozidaze

Inhibitori  $\alpha$ -glukozidaze mogu biti izolirani iz različitih prirodnih izvora poput mikroorganizama ili ljekovitog bilja.  $\alpha$ -Glukozidaze iz kvasaca, crijeva štakora i miševa se često koriste u istraživanjima sposobnosti inhibicije enzima različitih spojeva. Akarboza se često koristi kao pozitivna kontrola, a ponekad i biljni metaboliti s poznatom inhibicijskom aktivnosti, poput flavonola kvercetina, izoflavona genisteina, i alkaloida 1-deoksinojirinmicina. (10)

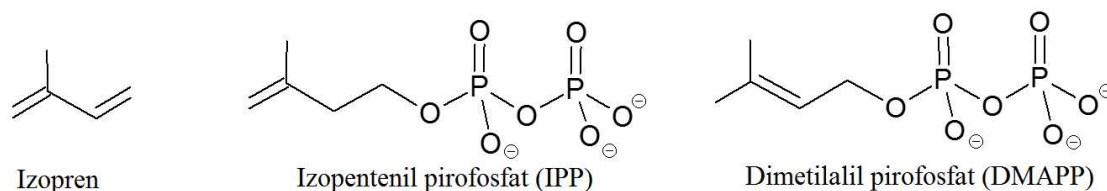
Sekundarni biljni metaboliti koji su u istraživanjima pokazali sposobnost inhibicije enzima strukturno spadaju u terpene, alkaloidne, kinine, flavonoide, fenole, fenilpropanoide kao i steroidne strukture bogate funkcionalnim skupinama poput organskih kiselina, estera, alkohola i alilnih grupa. Većina promatranih spojeva sadrže flavonoidne, terpeneske i fenilpropanoidne prstene (10).

### 1.3. Sekundarni biljni metaboliti

Biljke sadrže mnogobrojne prirodne produkte (sekundarne metabolite) koji ne moraju direktno sudjelovati u njihovom rastu i razvoju, ali imaju značajnu ulogu u interakcijama s drugim organizmima (odbrana od biljojeda i infekcija, privlačenje oprašivača i životinja koje raspršavaju sjeme, zaštita od UV zračenja, kao signalne molekule i dr.) (11). Unatoč neizmjerne raznolikosti, biljni produkti proizlaze iz par osnovnih spojeva: acetata, mevalonata i šikimata koji se podliježu mnogobrojnim biosintetskim transformacijama i kombinacijama. (12) Iz tih spojeva nastaju različiti sekundarni metaboliti koji se mogu podijeliti u tri glavne skupine: 1. flavonoidi i srodni fenolni i polifenolni spojevi, 2. terpenoidi i 3. alkaloidi i spojevi koji sadrže sumpor. (11)

### 1.3.1. Terpenoidi

Terpenoidi (ili izoprenoidi) su skupina metabolita s ogromnom funkcionalnom i strukturnom raznolikošću, a njihovo obilje i raznolikost je najveća kod biljaka. Unatoč velikoj strukturnoj i funkcionalnoj raznolikosti među biljnim terpenoidima, oni svi potječu od istih prekursora s pet ugljika ( $C_5$ ): izopentenil pirofosfata (IPP) i njegovog izomera koji sadrži dvostruku vezu, dimetilalil pirofosfata (DMAPP). Stvaranje ovih prekursora (izoprenskih jedinica) ide preko dva sintetska puta: put mevalonata i metileritritol-4-fosfatnog puta (MEP put). Djelovanjem prenilttransferaza na izoprenske jedinice nastaju geranil pirofosfat (GPP,  $C_{10}$ ), farnezil pirofosfat (FPP,  $C_{15}$ ), geranilgeranil pirofosfat (GGPP,  $C_{20}$ ) i druge manje obilne preniltirofosfatne molekule dužih lanaca, poput oktaprenil pirofosfata ( $C_{40}$ ) i nonaprenil (solanezil) pirofosfata ( $C_{45}$ ). Ove molekule služe kao polazne točke iz kojih nastaju većina biljnih terpenoida. (13) Osnovna struktura terpenoida se može razlikovati od stroge aditivnosti izoprenskih jedinica gubitkom ili pomicanjem fragmenta, obično metilne skupine. Terpenoidni motivi su česte strukturne i funkcionalne značajke mnogih bioaktivnih prirodnih produkata, od fitolnog bočnog lanca klorofila i diterpenoidnog kostura antitumorskog lijeka taksola, do osnovne strukturne jedinice tetrahidrokanabinola, značajne bioaktivne komponente marihuane. (14)



**Slika 4.** Prikaz molekularnih struktura izoprena i izoprenskih jedinica (14)

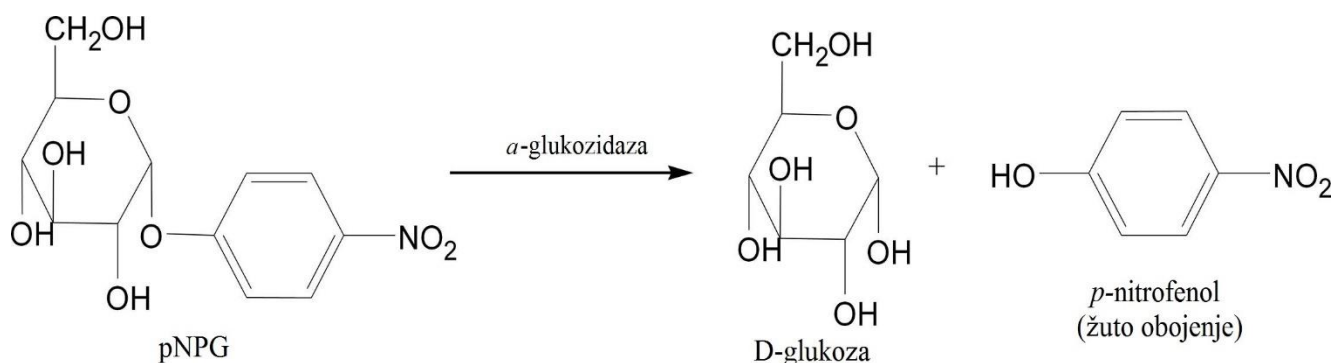
Terpenoidi se mogu klasificirati prema broju izoprenskih jedinica koje sadrže. Hemiterpeni ( $C_5$ ) sadrže jednu izoprensku (terpensku) jedinicu. Monoterpeni ( $C_{10}$ ) potječu od GPP-a i sastoje se od dviju jedinica. Seskviterpeni ( $C_{15}$ ) obično potječu od FPP-a i imaju tri izoprenske jedinice. Diterpeni ( $C_{20}$ ) su izoprenoidi izvedeni iz GGPP-a s četiri izoprenske jedinice. Sesterpeni ( $C_{25}$ ), s pet jedinica, rijetki su u odnosu na ostatak izoprenoida. Triterpeni ( $C_{30}$ ) se sastoje od šest izoprenskih jedinica izvedene spajanjem dviju FPP molekula.

Tetraterpeni (C<sub>40</sub>) sadrže osam izoprenskih jedinica, a uobičajeno se stvaraju kondenzacijom dvije GGPP molekule, a politerpeni su formirani s više od osam izoprenskih jedinica. (13)

Biljni izoprenoidi se također mogu klasificirati s obzirom na njihovu funkciju. Prvoj skupini pripada manji broj izoprenoida koji imaju bitnu ulogu u rastu i razvoju biljke, pa se zato mogu smatrati primarnim metabolitima. U drugu skupinu spadaju deseci tisuća izoprenoida koji imaju ulogu sekundarnih metabolita čija je biosinteza obično ograničena na određene biljne porodice ili čak i na pojedine biljne vrste, organe, tkiva ili razvojne faze. U ovu skupinu spadaju hemiterpeni (izopren, prenil), monoterpeni (citral, geraniol, limonen, linalol, mentol, mircen, pinen, timol), seskviterpeni (kapsidiol, kariofilen, farnezen, germakren, humulen, nerolidol), diterpeni (abietadien, kafestol, kasben, feruginol, kauren, labdan, steviol, rizatalen, taksadien), triterpeni (amirin, arabidiol, lupin, oleanan), i politerpeni (poliprenoli, dolikol, guma). Veliki broj sekundarnih izoprenoidnih metabolita imaju komercijalnu vrijednost kao arome, pigmenti, polimeri ili lijekovi. (13)

#### 1.4. Metoda testiranja aktivnosti inhibitora $\alpha$ -glukozidaza

Najčešće korištena metoda testiranja aktivnosti inhibitora je spektrofotometrijska metoda koja se temelji na mjerenju promjene apsorbancije otopine do koje dolazi uslijed reakcije enzima  $\alpha$ -glukozidaze i supstrata *p*-nitrofenil- $\alpha$ -glukopiranozida (pNPG) (Slika 5.). Produkti reakcije su D-glukoza i *p*-nitrofenol koji u bazičnom mediju prelazi u žuto obojenje s maksimumom apsorpcije kod valne duljine od 405 nm.. (15)



Slika 5. Mehanizam reakcije između pNPG i  $\alpha$ -glukozidaze (15)

Otopina liofiliziranog enzima (0.015 Unit/mL) i otopina uzorka se pomiješaju s 0.01 M fosfatnim puferom (pH =6.9 – 7.0) i inkubiraju 5-30 minuta na 37 °C prije dodatka supstrata. Dodatkom otopine pNPG (0.5 mM) započinje reakcija i smjesa se inkubira 30 minuta na 37 °C. Reakcija se prekida dodatkom 0.2 M otopine natrijevog karbonata. Apsorbancija smjese se mjeri kod valne duljine od 405nm. Postupak se ponavlja koristeći pozitivnu kontrolu umjesto uzorka (najčešće akarboza). (16) Postotak inhibicije se mjeri pomoću formule: % Inhibicije =  $(A_{\text{kontrola}} - A_{\text{uzorak}})/A_{\text{kontrola}} \times 100$  (15)

Iz dobivenih rezultata se može izračunati IC<sub>50</sub> vrijednost uzorka koja predstavlja koncentraciju tvari potrebnu da se inhibira 50% enzima. (16) Usporedbom s IC<sub>50</sub> vrijednosti pozitivne kontrole može se inhibicijski potencijal ispitivanog čistog spoja ili smjese tvari, kao što su eterična ulja (vrijednosti manje od pozitivne kontrole ukazuju da je sposobnost inhibicije uzorka veća, dok vrijednosti veće od pozitivne kontrole ukazuju da je sposobnost inhibicije uzorka manja).

Za razrijeđivanje uzoraka može se koristiti dimetil sulfoksid, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO (DMSO), bipolarni spoj sposoban otopiti polarne i nepolarne spojeve, a smatra se da ima malu toksičnost i može se miješati sa širokim spektrom organskih otapala poput estera, alkohola, ketona i aromatskih ugljikovodika kao i s vodom. (17)

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**



Cilj ovog istraživanja je pregled literature provedenih istraživanja na temu eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja koji djeluju kao inhibitor na enzim  $\alpha$ -glukozidazu. Prikupljeni su podatci o sadržaju i inhibicijskoj aktivnosti istraživanih eteričnih ulja i hlapljivih spojeva u svrhu rasprave o njihovoj potencijalnoj koristi kao alternativna terapija u liječenju dijabetesa tipa II. Cilj korištene metode sustavnog pregleda literature u ovome radu je povećanje znanja o stupnju značajnosti provedenih znanstvenih studija i pronađenih dokaza te ujedno i sažimanje objavljenih radova vezanih za odabranu temu.

### **3. MATERIJALI I METODE**

Sustavni pregled literature o nekom jasno oblikovanom pitanju metoda je koja se koristila prilikom izrade ovog rada. Koristi sustavne i eksplicitne metode pronalaženja, odabira te analize rezultata relevantnih istraživanja o odabranoj temi. Prilikom čitanja relevantnih tekstova potrebno je ukloniti sve nejasnoće, a povezivanjem rezultata različitih istraživanja može se doći do novih spoznaja. Kao izvori podataka pretraživane su dostupne knjige i internetske baze podataka *Web of Science*, *PubMed*, *PubChem*, *PMC*, *Science Direct* i *RCSB Protein Data Bank*. Pri pretraživanju znanstvenih i stručnih članaka korištene su sljedeće ključne riječi: *alpha-glucosidases*, *inhibitory activity*, *plant extracts*, *essential oils*, *volatile compounds*, *terpenes*, *terpenoids*, *Diabetes Mellitus type 2*.

The image shows two screenshots of search results. The top screenshot is from PubMed, displaying search results for the query "[alpha-Glucosidases][Mesh] AND \*Oils, Volatile][Mesh]". It lists six items, including articles on essential oils from Acacia, Afromomum, Artemisia, and Thymus species. The bottom screenshot is from Web of Science, showing 42 results for the same query. It highlights three results: 1. HPLC-MS/MS chemical characterization and biological properties of Origanum onites extracts; 2. Chemical characterization, antioxidant, anticholinesterase and alpha-glucosidase potentials of essential oil of Rosmarinus tournefortii de noe; 3. Antidiabetic, anti-inflammatory, anticholinesterase and cytotoxicity determination of two Carpopotus species.

Slika 6. Baze podataka PubMed i Web of Science

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Kronološki prikaz rezultata inhibicije enzima $\alpha$ -glukozidaze eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja

Inhibitori enzima  $\alpha$ -glukozidaze se koriste u kontroli postprandijalne hiperglikemije u terapiji dijabetesa tipa II. Sintetski inhibitori, akarboza i miglitol su standardna terapija, ali su povezani s mnoštvom nuspojava pri višim dozama i dugotrajnom korištenju, poput flatulencije, meteorizma, proljeva i abdominalne boli. Iz tog razloga, znanstvenici pokušavaju pronaći alternativne i prirodne izvore inhibitora koji bi imali manju stopu nuspojava.

Dobiveni su podaci s ciljem prikaza eteričnih ulja i izoliranih spojeva iz biljnih ekstrakata s inhibicijskom aktivnošću na enzim  $\alpha$ -glukozidazu koji će biti prikazani kronološki, od najranijih do najnovijih.

Lekshmi i suradnici su 2012. godine istražili aktivnost hlapljivih spojeva u eteričnom ulju biljke *Curcuma longa L.* (kurkuma ili turmerik). (18) Ulje je ekstrahirano iz svježih (engl. *fresh turmeric oil* - FTO) i sušenih (engl. *dried turmeric oil* – DTO) podanaka biljke kako bi se usporedio njihov sastav i aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu dobivenu iz *Bacillus stearothermophilus*, a kao pozitivna kontrola se koristila akarboza. Sastav je analiziran pomoću sustava GC-MS (engl. *gas chromatography/mass spectrometry* – plinska kromatografija/masena spektrometrija) te se pokazalo da je glavni sastojak ulja *ar*-turmeron. Rezultati su pokazali sljedeću sposobnost inhibicije enzima  $\alpha$ -glukozidaza:  $IC_{50}$  (DTO) =  $0.38 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$ ;  $IC_{50}$  (FTO) =  $1.32 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$ ;  $IC_{50}$  (akarboza) =  $18.12 \pm 1.23 \mu\text{g/mL}$ ;  $IC_{50}$  (*ar*-turmeron) =  $0.28 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$

Istraživanje iz 2015. godine koje su proveli Ganiyu i suradnici je bilo usmjereno na eterično ulje ekstrahirano iz pupoljaka biljke *Eugenia aromatica* Kuntze (klinčić), zimzelenog drva iz porodice *Myrtaceae*. (19) Ulje je izolirano hidrodestilacijom, a sastav (prikazan u *Tablici 1.*) je analiziran pomoću GC-FID tehnike (engl. *gas chromatography with flame ionization detector* – plinska kromatografija s detektorom ionizacije plamena) dok su rezultati testiranja sposobnosti inhibicije enzima crijevne  $\alpha$ -glukozidaze štakora sljedeći:  $IC_{50}$  (eterično ulje) =  $71.94 \mu\text{L/L}$ ;  $IC_{50}$  (akarboza) =  $21.1 \mu\text{g/mL}$ .

**Tablica 1.** Kemijski sastav eteričnog ulja klinčića (19)

No.	Spoj	Udio (%)
1	kamfen	0.23
2	limonen	0.12
3	$\alpha$ -pinen	13.09
4	$\beta$ -pinen	45.44
5	benzil alkohol	0.87
6	<i>cis</i> -ocimen	2.32
7	mircen	5.13
8	alocimen	2.78
9	pinen-2-ol	2.34
10	$\alpha$ -tujen	3.36
11	$\gamma$ -terpinen	5.08
12	neral	0.20
13	geranial	0.43
14	izoartemisia	0.20
15	1,8-cineol	16.27
16	linalol	0.71
17	borneol	0.25
18	terpinen-4-ol	0.35
19	$\alpha$ -terpineol	0.42
20	timilmetil eter	0.17
21	$\alpha$ -kopen	0.18

Ceylan i suradnici su 2015. godine istražili inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja izoliranog iz nadzemnih dijelova vrste *Thymus spathulifolius* Hausskn. i Velen., turske endemske biljke iz porodice *Lamiaceae* (rod *Thymus* – timijan ili majčina dušica). (20) Cilj ovog istraživanja bio je odrediti prinos, kemijski sastav i inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja. Analiza sastava eteričnog ulja je bila provedena pomoću sustava GC-FID i GC-MS, dok je sposobnost inhibicije bila određena pomoću već opisane metode. Rezultati analize kemijskog sastava ovog eteričnog ulja su prikazani u *Tablici 2*, dok su rezultati testiranja sposobnosti inhibicije enzima sljedeći:  $IC_{50}$  (eterično ulje) =  $1.08 \pm 0.05$  mg/mL;  $IC_{50}$  (akarboza) = 6.67 mg/mL). (20)

**Tablica 2.** Kemijski sastav eteričnog ulja nadzemnih dijelova *T. Spathulifolius* (20)

No.	Spoj	Udio (%)	RI
1	1,8-cineol	4.2	1212
2	$\gamma$ -terpinen	0.4	1250
3	3-octanon	0.3	1259
4	<i>p</i> -cimen	0.3	1276
5	1-okten-3-ol	0.1	1452
6	kamfor	0.6	1536
7	bornil acetat	1.2	1594
8	terpinen-4-ol	0.7	1614
9	$\beta$ -kariofilen	6.1	1618
10	$\alpha$ -humulen	0.4	1691
11	$\alpha$ -terpineol	1.3	1709
12	borneol	16.7	1718
13	$\beta$ -bisabolon	0.9	1749
14	( <i>E</i> )- $\alpha$ -bisabolon	0.6	1786
15	kumin aldehid	0.1	1808
16	<i>p</i> -cimen-8-ol	0.5	1862
17	timil acetat	0.4	1868
18	kariofilen oksid	3.0	2018
19	kumin alkohol	0.2	2122
20	timol	50.5	2200
21	karvakrol	7.7	2229

**Identificirani spojevi 97.2**

*RI*– retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana na HP-INNOWAX kapilarnoj koloni

U istraživanju iz 2015. godine, Tan i suradnici su ispitali  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost odabranih monoterpenskih spojeva: geraniol, nerol, citral, (*R*)-(-)-linalol, (*R*)-(+)-limonen, (*S*)-(-)-perilil alkohol, (*R*)-(+)- $\beta$ -citronelol, (*S*)-(-)- $\beta$ -citronelol,  $\alpha$ -terpineol, L-mentol,  $\gamma$ -terpinen i terpinolen. (21) Aktivnost se mjerila ranije opisanom metodom, a rezultati testiranja sposobnosti inhibicije enzima iz *Saccharomyces cerevisiae* (prikazani kao %Inhibicije) su: (*R*)-(+)-limonen (21.3%), (*S*)-(-)-perilil alkohol (21.1%),  $\alpha$ -terpineol (14.0%), (*R*)-(+)- $\beta$ -citronelol, terpinolen, citral, (*R*)-(-)-linalol, nerol, geraniol i (*S*)-(-)- $\beta$ -citronelol u rasponu od 4.2% do 8.1%, akarboza (49.6%). L-mentol i  $\gamma$ -terpinen nisu pokazali značajnu aktivnost. Koncentracija izoliranih spojeva iznosila je 10 mM, a akarboze 5  $\mu$ M. (21)

Nadalje, Majouli i suradnici ispitali su inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja biljke *Hertia cheirifolia* L., vrste iz roda *Hertia*, pripadnika porodice *Asteraceae* (glavočiike). (22) Uzorci su prikupljeni u fazi cvjetanja, a sastav eteričnog ulja cvjetova, listova i stabljika te korijena analiziran je pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. Inhibicijska sposobnost eteričnih

ulja na  $\alpha$ -glukozidazu iz *Aspergillus niger* testirana je ranije opisanom metodom. Kemijski sastav pojedinih eteričnih ulja prikazan je u *Tablici 3*. Rezultati testiranja sposobnosti inhibicije enzima su sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje iz cvjetova) = 0.24 ± 0.01 µg/mL; IC<sub>50</sub> (eterično ulje iz stabljika i listova) = 0.29 ± 0.04 µg/mL; IC<sub>50</sub> (eterično ulje korijena) = 0.45 ± 0.02 µg/mL; IC<sub>50</sub> (akarboza) = 0.28 ± 0.01 µg/mL. (22)

**Tablica 3.** Kemijski sastav eteričnih ulja iz *H. Cheirifolia L.* (22)

No.	Spoj	Cvjetovi (%)	Listovi i stabljike (%)	Korijen (%)	RI
1	$\alpha$ -pinen	70.4	62.5	22.1	941
2	kamfen	<0.1	<0.1	-	955
3	sabinen	2.3	2.1	0.1	978
4	$\beta$ -pinen	1.3	1.2	<0.1	982
5	mircen	0.9	0.7	-	993
6	$\alpha$ -terpinen	<0.1	-	-	1020
7	<i>p</i> -cimen	<0.1	0.5	-	1028
8	limonen	0.8	0.7	<0.1	1032
9	$\gamma$ -terpinen	<0.1	-	-	1064
10	terpinolen	0.1	-	-	1090
11	$\alpha$ -pinen oksid	<0.1	0.7	-	1097
12	<i>cis</i> -verbenol	<0.1	0.7	0.9	1141
13	4-terpineol	0.8	<0.1	<0.1	1179
14	$\alpha$ -terpineol	<0.1	-	<0.1	1191
15	verbenon	<0.1	0.1	<0.1	1205
16	$\alpha$ -terpinil acetat	<0.1	0.9	6.9	1352
17	( <i>E</i> )- $\beta$ -damascenon	0.1	<0.1	-	1383
18	$\beta$ -elemen	0.9	1.3	3.9	1392
19	$\beta$ -kariofilen	0.6	1.7	11.8	1419
20	$\alpha$ -gvajen	-	-	<0.1	1440
21	$\alpha$ -humulen	0.6	1.1	1.1	1456
22	drima-7,9-dien	-	-	1.2	1471
23	$\beta$ -kamigren	-	-	1.7	1476
24	$\gamma$ -murolen	-	0.5	-	1478
25	germakren D	6.7	9.5	5.9	1482
26	valencen	0.6	1.1	13.2	1493
27	biciklogermakren	0.8	0.6	-	1496
28	germakren A	-	-	7.6	1505



No.	Spoj	Cvjetovi (%)	Listovi i stabljike (%)	Korijen (%)	RI
29	$\beta$ -bisabolen	0.8	0.7	-	1508
30	$\delta$ -kadinen	0.9	1.1	1.6	1524
31	spatulenol	0.6	1.3	-	1577
32	kariofilen oksid	0.7	0.8	2.5	1582
33	globulol	0.7	0.7	-	1584
34	humulen epoksid II	-	0.5	-	1607
35	<i>epi</i> -10- $\gamma$ -eudesmol	0.7	0.7	0.9	1622
36	1- <i>epi</i> -kubenol	0.6	-	1.6	1629
37	$\tau$ -kadinol	1.0	0.8	1.1	1641
38	$\alpha$ -kadinol	3.2	2.7	-	1654
39	14-hidroksi-9- <i>epi</i> - ( <i>E</i> )-kariofilen	-	-	1	1678
40	akorenon	0.8	0.7	1.6	1688
41	drimenon	-	-	1.4	1792
42	manoil oksid	0.7	-	-	1991
43	abietadien	0.5	-	-	2082
44	<i>n</i> -heneikosan	-	-	1	2100
45	<i>n</i> -trikosan	-	-	1.2	2300
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>98.1</b>	<b>95.9</b>	<b>90.3</b>	

RI– retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana na HP-5 kapilarnoj koloni

Zengin i suradnici su 2016. godine objavili istraživanje o monoterpenima bogatom eteričnom ulju biljke *Sideritis galatica* Bornm., turske endemske biljke iz roda *Sideritis* (očist), porodice *Lamiaceae*. (23) Čaj od nadzemnih dijelova biljke se u narodnoj medicini koristi za gastrointestinalne probleme poput bolova u želucu ili flatulencije, kao i simptome prehlade. Izolirano eterično ulje analizirano je pomoću GC-FID i GC-MS tehnika, a  $\alpha$ -glukozidazna inhibicijska aktivnost se odredila pomoću ranije opisane metode. Kemijski sastav eteričnog ulja prikazan je u *Tablici 4.*, dok su rezultati testiranja sposobnosti inhibicije enzima sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje) = 0.632 ± 0.073 mg/mL; IC<sub>50</sub> (akarloza) = 2.062 ± 0.405 mg/mL. (23)

**Tablica 4.** Kemijski sastav eteričnog ulja *S. galatica* (23)

No.	Spoj	Udio (%)	RI
1	$\alpha$ -pinen	23.0	1028
2	$\beta$ -pinen	32.2	1115
3	sabinen	1.5	1128
4	$\delta$ -3-karen	0.6	1156
5	$\alpha$ -felandren	0.5	1173
6	heptanal	0.4	1191
7	limonen	2.9	1203
8	$\beta$ -felandren	1.4	1215
9	(E)-2-heksenal	0.1	1228
10	(Z)- $\beta$ -ocimen	9.5	1242
11	(E)- $\beta$ -ocimen	1.4	1259
12	<i>p</i> -cimen	0.6	1276
13	terpinolen	0.5	1289
14	1-okten-3-ol	0.3	1452
15	$\alpha$ -kopaen	0.2	1504
16	$\beta$ -kariofilen	16.9	1618
17	(Z)- $\beta$ -farnezen	0.6	1673
18	$\alpha$ -humulen	0.4	1691
19	germakren D	1.2	1732
20	biciklogermakren	0.8	1757
21	$\delta$ -kadinen	0.3	1776
22	kariofilen oksid	1.2	2018
23	benzil benzoat	1.6	2663
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>98.1</b>	

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana na HP-INNOWAX kapilarnoj koloni

Jani i suradnici su 2016. godine proveli istraživanje  $\alpha$ -glukozidazne inhibicijske aktivnosti eteričnog ulja svježih stabljika i listova biljke *Neolitsea coccinea* B.C. iz porodice *Lauraceae*. (24) Eterično ulje izolirano je hidrodestilacijom i analizirano pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. Sastav eteričnih ulja prikazan je u *Tablici 5*. Testovi inhibicijske aktivnosti na  $\alpha$ -glukozidazu *Saccharomyces cerevisiae* su dali sljedeće rezultate: IC<sub>50</sub> (eterično ulje stabljika) = 32.2 ± 0.8 µg/mL, IC<sub>50</sub> (eterično ulje listova) = 70.9 ± 1.1 µg/mL, IC<sub>50</sub> (kvercetin) = 5.1 ± 0.1 µg/mL. (24)

**Tablica 5.** Kemijski sastav eteričnih ulja stabljika i listova *Neolitsea coccinea* B.C. (24)

No	Spoj	Udio (%)		
		Stabljike	Listovi	RI
1	(3Z)-heksenol	-	0.1	866
2	terpinen-4-ol	-	0.5	1189
3	$\delta$ -elemen	0.5	0.3	1333
4	$\alpha$ -kubeben	0.7	0.1	1345
5	izoleden	-	<0.1	1371
6	$\alpha$ -kopaen	1.2	0.5	1377
7	$\beta$ -kubeben	0.2	-	1386
8	$\beta$ -elemen	2.3	2.6	1391
9	$\alpha$ -cis-bergamoten	0.8	0.9	1411
10	$\beta$ -kariofilen	0.6	0.5	1417
11	$\beta$ -kopaen	-	0.1	1428
12	$\alpha$ -trans-bergamoten	0.3	-	1432
13	$\gamma$ -elemen	-	0.3	1433
14	aromadendren	-	0.5	1440
15	cis-murola-3,5-dien	1.7	-	1450
16	trans-murola-3,5-dien	-	0.5	1451
17	$\alpha$ -humulen	0.9	1.2	1456
18	rotunden	1.0	-	1462
19	trans-kadina-1(6),4-dien	6.8	-	1477
20	germakren D	4.0	6.1	1487
21	$\beta$ -selinen	-	2.4	1493
22	trans-murola-4(14),5-dien	2.3	-	1497
23	biciklogermakren	-	12.6	1504
24	$\alpha$ -murolen	3	-	1505
25	(E,E)- $\alpha$ -farnezen	-	2.8	1510
26	$\delta$ -amorfen	-	3.5	1515
27	$\delta$ -kadinen	21.2	-	1531
28	trans-kadina-1,4-dien	2.7	1.1	1536
29	$\alpha$ -kalakoren	-	0.1	1549
30	elemol	0.8	-	1553
31	germakren B	-	0.1	1564
32	glinol	2	-	1591
33	globulol	-	5.9	1592
34	viridiflorol	-	4.9	1596
35	rosifoliol	-	2.6	1620
36	1- <i>epi</i> -kubenol	11.3	3.5	1631
37	$\gamma$ -eudesmol	-	7.1	1635
38	$\tau$ -kadinol	5.5	2.4	1642
39	$\alpha$ -kadinol	4.4	-	1656
40	selin-11-en-4 $\alpha$ -ol	-	26.8	1664
41	ciperotundon	10.7	-	1698
42	eudesm-7(11)-en-4-ol	-	0.4	1703
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>84.9</b>	<b>90.4</b>	

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju n-alkana (C<sub>8</sub> – C<sub>30</sub>) na HP-5MS kapilarnoj koloni

Istraživanje koje su Dang i suradnici proveli 2016. godine bilo je usmjereno na  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost eteričnih ulja dobivenih iz kore zrelih plodova šest biljaka iz roda *Citrus* (agrumi), porodice *Rutaceae*: *C. medica* var. *sarcodactylis* (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle (Budina ruka), *C. aurantifolia* (Christm.) Swingle (limeta), *C. grandis* L. (pomelo), *C. sinensis* L. (slatka naranča), *C. reticulata* Blanco (mandarina) i *C. microcarpa* Bunge (kalamondin). (25) Eterična ulja agruma spadaju među najčešće korištena eterična ulja na svijetu, a koriste se kao aditivi za hranu, prezervativi i arome. Eterična ulja Budine ruke (CMSU), limete (CAU), pomela (CGU), naranče (CSU), mandarine (CRU), i kalamondina (CMU) su ekstrahirani pomoću hidrodestilacije, a sastav je analiziran pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. (Tablica 6.). Inhibicijska aktivnost ovih šest eteričnih ulja bila je testirana protiv  $\alpha$ -glukozidaze kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, a dobiveni rezultati inhibicije  $\alpha$ -glukozidaze su sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje CMSU) = 412.2  $\mu$ g/mL; IC<sub>50</sub> (akarboza) = 433.8  $\mu$ g/mL. (25)

**Tablica 6.** Kemijski sastav šest eteričnih ulja kora *Citrus* plodova (25)

No.	Spoj	Udio (%)						RI
		CMSU	CAU	CGU	CSU	CRU	CMU	
1	(Z)-heks-3-en-1-ol	-	0.10	-	-	-	-	855
2	$\alpha$ -tujen	0.60	0.45	-	-	-	-	932
3	$\alpha$ -pinen	1.49	1.78	0.80	0.66	0.63	0.59	941
4	sabinen	0.20	1.29	-	0.13	0.18	0.28	980
5	$\beta$ -pinen	1.62	6.72	0.24	-	0.34	1.23	986
6	mircen	1.58	1.71	-	2.33	2.55	2.11	994
7	<i>n</i> -oktanal	-	0.38	2.33	0.40	0.51	0.42	1005
8	$\alpha$ -felandren	-	-	1.17	-	-	-	1012
9	$\alpha$ -terpinen	0.62	0.47	-	-	-	-	1024
10	<i>o</i> -cimen	0.96	0.31	-	-	-	-	1032
11	limonen	59.00	61.31	90.69	95.74	94.1	90.88	1038
12	$\beta$ -felandren	-	-	3.02	-	-	-	1039
13	cineol	-	1.94	-	-	-	-	1040
14	(E)- $\beta$ -ocimen	0.37	0.39	0.13	-	-	-	1051
15	$\gamma$ -terpinen	23.84	13.98	-	-	-	-	1066
16	<i>n</i> -oktanol	-	-	-	0.16	0.20	0.21	1072
17	<i>trans</i> -linalol oksid	-	-	0.24	-	-	-	1080
18	<i>cis</i> -linalol oksid	-	-	0.11	-	-	-	1095
19	terpinolen	1.26	0.80	-	-	-	-	1096
20	linalol	0.30	0.47	0.39	0.19	0.74	0.77	1104

No.	Spoj	Udio (%)					CMU	RI
		CMSU	CAU	CGU	CSU	CRU		
21	nonanal	-	-	-	-	-	0.23	1107
22	citronelal	-	0.92	-	-	-	-	1157
23	terpinen-4-ol	0.73	0.90	-	-	-	-	1189
24	$\alpha$ -terpineol	1.48	2.14	0.40	0.17	0.42	0.41	1201
25	dekanal	-	-	-	0.20	0.15	0.23	1209
26	citronelol	0.13	0.51	-	-	-	-	1231
27	nerol	0.74	-	-	-	0.18	-	1234
28	neral	1.23	0.11	0.21	-	-	-	1248
29	geraniol	0.84	-	-	-	-	-	1258
30	geranial	1.61	0.15	0.27	-	-	-	1276
31	$\delta$ -elemen	-	-	-	-	-	0.11	1349
32	geranil acetat	-	-	-	-	-	0.59	1385
33	$\beta$ -kariofilen	0.28	0.66	-	-	-	-	1439
34	(E)- $\alpha$ -bergamoten	0.25	0.49	-	-	-	-	1447
35	germakren D	0.43	0.38	-	-	-	1.39	1499
36	(E)- $\alpha$ -farnezen	-	0.70	-	-	-	-	1512
37	$\beta$ -bisabolen	0.43	0.82	-	-	-	-	1518
38	kadinen	-	0.12	-	-	-	-	1537
39	$\beta$ -eudesmol	-	-	-	-	-	0.39	1671
40	$\alpha$ -eudesmol	-	-	-	-	-	0.15	1673
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>99.99</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>99.98</b>	<b>100.0</b>	<b>99.99</b>	

CMSU – eterično ulje *C. medica* var. *sarcodactylis* (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle

CAU – eterično ulje *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle

CGU – eterično ulje *Citrus grandis* L

CSU – eterično ulje *Citrus sinensis* L

CRU – eterično ulje *Citrus reticulata* Blanco

CMU – eterično ulje *Citrus microcarpa* Bunge

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju n-alkana na HP-5MS kapilarnoj koloni

Movahhedin i suradnici su 2016. godine su po prvi put istražili sastav i enzimsku inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu eteričnog ulja nadzemnih dijelova biljke *Ajuga chamaecistus* subsp. *scoparia* (Boiss.) Rech.f. iz roda *Ajuga* (ivica), porodica *Lamiaceae*. (26) Eterično ulje je izolirano pomoću hidrodestilacije, sastav je analiziran pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. Identifikacija pojedinih sastojaka provedena je izračunom retencijskog indeksa sastojaka u odnosu na seriju n-alkana (C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>) na DB-5 kapilarnoj koloni u istim GC uvjetima te usporedbom dobivenih indeksa s onim objavljenima u literaturi. Identificirano je 8

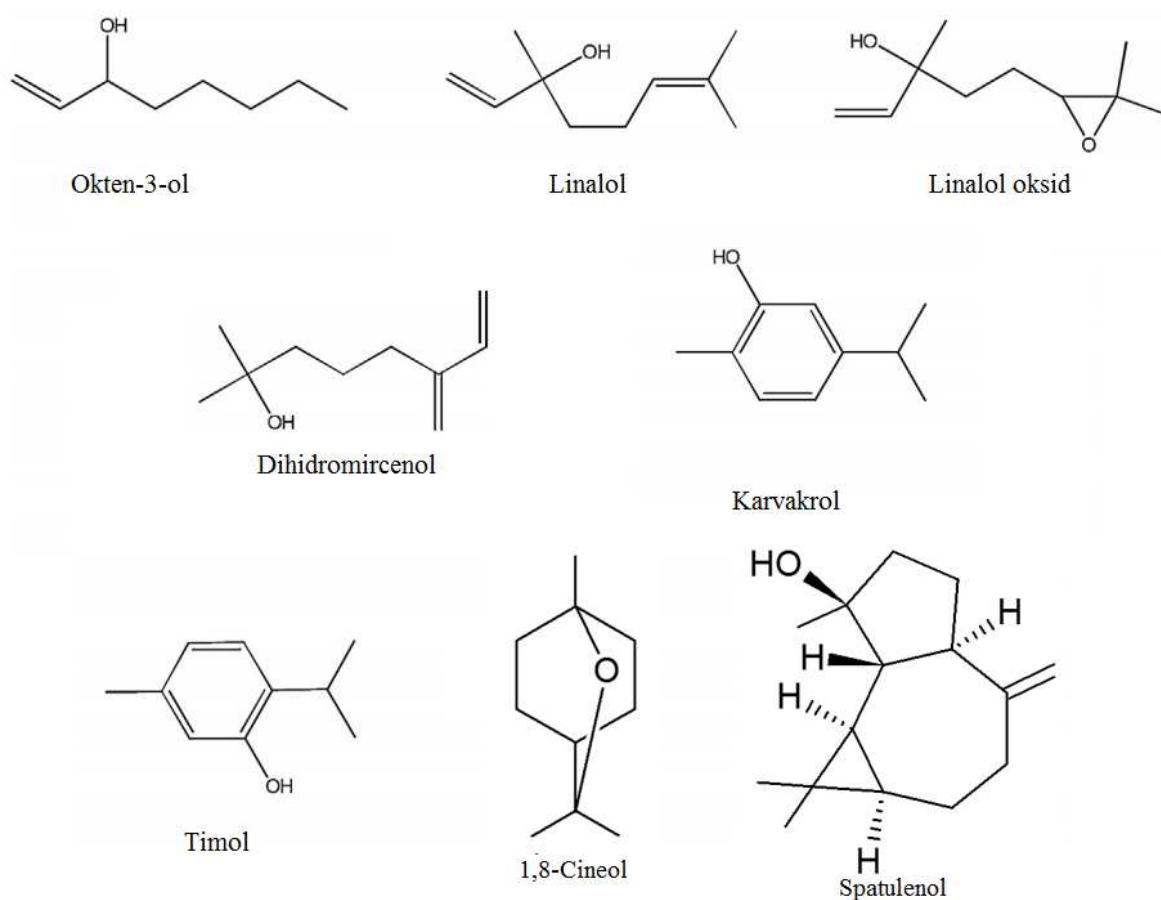
hlapljivih spojeva (94.6% ukupnog sastava), prikazanih u *Tablici 7*. Rezultati inhibicijskog potencijala su pokazali da eterično ulje ima  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost izraženu kao mmol ekvivalenta akarboze (ACE)/g uzorka ( $4.34 \pm 0.01$  mmol ACE/g uzorka). (26)

**Tablica 7.** Kemijski sastav eteričnog ulja *A. chamaecistus* subsp. *scoparia* (Boiss) Rech.f. (26)

No.	Spoj	Udio (%)	RI
1	okten-3-ol	14.3	965
2	1,8-cineol	6.9	1018
3	linalol oksid	11.2	1062
4	dihidromircenol	9.5	1079
5	linalol	8.8	1090
6	timol	15.1	1282
7	karvakrol	10.8	1293
8	spatulenol	18.0	1564

**Identificirani spojevi 94.6**

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana (C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>) na DB-5 kapilarnoj koloni



**Slika 7.** Hlapljivi spojevi identificirani u eteričnom ulju *A. chamaecistus* (26)

U istraživanju iz 2017. godine, Adefegha S.A. i suradnici su analizirali sastav i antidijabetičku aktivnost dvije vrste iz roda *Aframomum*, porodice *Zingiberaceae* (đumbirovke): *Aframomum melegueta* K. Schum i *Aframomum danielli* K. Schum. (27) Eterično ulje iz sjemenki izolirano je hidrodestilacijom. Analiza sastava pomoću sustava GC-FID otkrila je prisutstvo hlapljivih spojeva poput limonena, eugenola, eukaliptola,  $\alpha$ -pinena,  $\beta$ -pinena,  $\beta$ -kadinena,  $\beta$ -kariofilena,  $\alpha$ -terpineola, germakrena D i dr. (Tablica 8.). Inhibicijska aktivnost na crijevnu  $\alpha$ -glukozidazu štakora istraživanih eteričnih ulja testirana je u usporedbi s aktivnošću akarboze, a dobiveni su sljedeći rezultati:  $IC_{50}$  (ulje *A. melegueta*) = 91.83  $\mu$ L/mL;  $IC_{50}$  (ulje *A. danielli*) = 114.65  $\mu$ L/mL;  $IC_{50}$  (akarboza) = 18.63  $\mu$ g/mL. (27)

**Tablica 8.** Kemijski sastav eteričnih ulja iz sjemenki *A. melegueta* i *A. danielli* (27)

No.	Spoj	Udio (%)	
		<i>A. melegueta</i>	<i>A. danielli</i>
1	$\beta$ -tujen	0.11	0.067
2	$\alpha$ -pinen	-	0.32
3	kafen	-	0.027
4	$\beta$ -pinen	-	1.14
5	2-karen	-	0.064
6	eukaliptol	0.099	10.93
7	3-karen	0.07	0.096
8	4-karen	0.15	0.12
9	1,6-oktadien-3-ol	1.05	0.85
10	ciklopentoziloksan	0.08	0.15
11	terpinen-4-ol	0.27	0.48
12	$\alpha$ -terpineol	0.67	5.56
13	2-mirtenol	-	0.37
14	timol	-	0.19
15	<i>p</i> -menten	-	0.21
16	eugenol	82.2	51.14
17	3-alil-6-metoksifenol	0.30	-
18	heksametilen	0.30	0.41
19	$\beta$ -kariofilen	3.27	5.11
20	2-norfinen	0.097	0.25
21	1,6,10-dodekatrien	0.14	0.03
22	$\alpha$ -kariofilen	3.35	2.21
23	naftalen, 1,2	0.37	0.65
24	germakren D	1.26	1.38

No.	Spoj	Udio (%)	
		<i>A. melegueta</i>	<i>A. danielli</i>
25	$\beta$ -eudesma-4 (14), 11-dien	0.47	1.05
26	$\beta$ -kadinen	0.27	0.60
27	limonen	2.19	4.50
28	naftalen	0.10	0.18
29	<i>epi</i> -biklosoeskvifelandren	0.82	1.29
30	peruviole	-	1.32
31	$\gamma$ -elemen	0.54	-
32	spatulanol	-	0.46
33	kariofilen oksid	1.62	4.94
34	$\tau$ -kadinol	0.21	-
35	$\gamma$ -gurjunen	-	0.62
36	$\alpha$ -bisabolen epoksid	-	1.06
37	tujopsen	-	0.11
38	(-)-izokauren	-	0.16

Nadalje, Bahadori i suradnici su 2017. godine istražili sastav i aktivnost eteričnog ulja biljke *Hymenocrater bituminosus* Fisch., iz porodice *Lamiaceae*. (28) Biljke iz roda *Hymenocrater* su korištene u narodnoj medicini Irana za zdravstvene probleme poput glavobolje, povišene temperature, kožne alergije i dr. *H. bituminosus* se koristi kao ukrasna biljka zbog svog prijatnog mirisa. Eterično ulje je dobiveno hidroddestilacijom iz nadzemnih dijelova biljke (cvjetovi, listovi i mlade stabljike) u fazi cvjetanja i analizirano pomoću sustava GC-MS. Sastav eteričnog ulja prikazan je u *Tablici 9*. Inhibicijska aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu testirana je ranije opisanom metodom, a dobiveni su sljedeći rezultati: inhibicijski potencijal eteričnog ulja izražen je u odnosu na akarbozu (ACE) i iznosi  $40.17 \pm 1.40$  mmol ACE/g uzorka. (28)



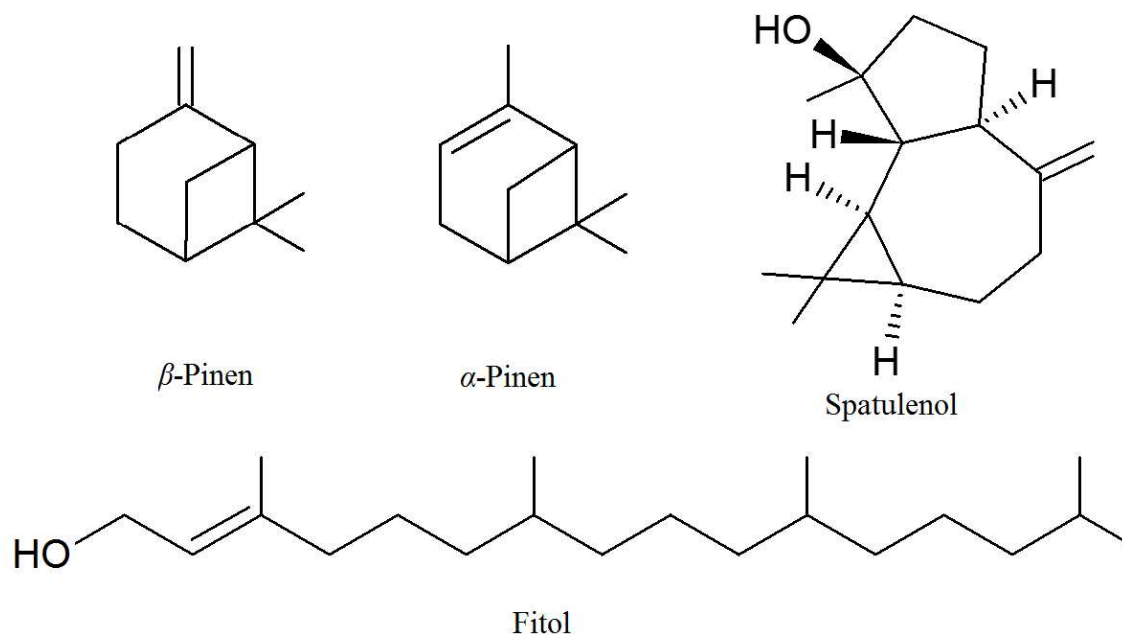
**Tablica 9.** Kemijski sastav eteričnog ulja iz *Hymenocrater bituminosus* (28)

No.	Spoj	Udio (%)	RI
1	$\alpha$ -tujen	0.7	920
2	$\alpha$ -pinen	18.2	926
3	kamfen	0.1	939
4	tuja-2,4 (10)-dien	0.1	945
5	benzaldehyd	0.1	953
6	sabinen	0.7	965
7	$\beta$ -pinen	11.3	967
8	mircen	0.1	989
9	<i>p</i> -cimen	0.4	1021
10	limonen	0.7	1025
11	1,8-cineol	4.1	1026
12	linalol	0.4	1100
13	$\alpha$ -kamfolenal	1.6	1122
14	<i>trans</i> -pinokarveol	1.0	1132
15	<i>cis</i> -verbenol	0.2	1137
16	<i>trans</i> -verbenol	2.5	1140
17	pinokarvon	0.5	1157
18	terpinen-4-ol	0.2	1173
19	<i>p</i> -cimen-8-ol	0.1	1183
20	$\alpha$ -terpineol	0.2	1187
21	(3 <i>Z</i> )-heksenil butanoat	0.4	1188
22	mirtenal	0.8	1191
23	mirtenol	0.8	1193
24	(3 <i>Z</i> )-heksenil-3-metil butanoat	0.6	1238
25	<i>n</i> -tridekan	0.4	1300
26	$\alpha$ -kopaen	0.2	1368
27	$\beta$ -burbonen	2.4	1375
28	4 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,7 $\beta$ -nepetalakton	1.1	1380
29	$\alpha$ -humulen	0.3	1443
30	germakren D	1.8	1471
31	( <i>E</i> )- $\beta$ -ionon	0.8	1481
32	<i>n</i> -pentadekan	0.5	1500
33	<i>trans</i> -kalamenen	1.9	1514
34	miristicin	1.8	1517
35	$\alpha$ -kalakoren	0.2	1534
36	spatulanol	8.5	1567

No.	Spoj	Udio (%)	RI
37	kariofilen oksid	0.3	1571
38	salvial-4 (14)-en-1-on	0.3	1582
39	humulen epoksid II	0.9	1597
40	<i>epi</i> - $\alpha$ -kadinol	0.9	1632
41	$\alpha$ -kadinol	0.4	1646
42	eudesma-4 (15),7-dien-1 $\beta$ -ol	1.0	1675
43	heksahidrofarnesil acetone	0.7	1844
44	<i>n</i> -heksadekanska kiselina	1.7	1966
45	abietatrien	1.0	2036
46	abietadien	1.2	2057
47	<i>trans</i> -fitol	11.0	2105
48	<i>n</i> -trikozaan	0.3	2306
49	<i>n</i> -pentakozaan	2.4	2500
50	<i>n</i> -heptakozaan	3.3	2700
51	<i>n</i> -nonakozaan	3.0	2900

**Identificirani spojevi 94.1**

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana na HP-5MS kapilarnoj koloni



**Slika 8.** Glavni spojevi identificirani u eteričnom ulju *Hymenocrater bituminosus* (28)

U istraživanju iz 2018. godine, Ya'ni i suradnici su analizirali sastav i antidiijabetičku aktivnost odabranih vrsta iz porodice *Lamiaceae* koje se koriste u narodnoj medicini Jemena: *Leucas inflata* Benth., *Marrubium vulgare* L., *Salvia schimperi* Benth. i *Origanum majorana* L. (29). Eterično ulje biljaka izolirano je hidrodestilacijom iz svježih listova i zelenih grana, sastav (prikazan u *Tablici 10.*) je analiziran GC-FID i GC-MS tehnikama. Identifikacija spojeva u sastavu ulja provedena je usporedbom dobivenih retencijskih indeksa s podacima iz literature. Testovi inhibicije provedeni su već opisanom metodom, a rezultati su sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje *S. schimperi*) = 14.26 μL, IC<sub>50</sub> (eterično ulje *M. vulgare*) = 35.47 μL, IC<sub>50</sub> (eterično ulje *L. inflata*) = 159.66 μL, IC<sub>50</sub> (akarboza) = 12.87 μL, eterično ulje *O. majorana* nije imalo inhibicijsku aktivnost na α-glukozidazu. (29)

**Tablica 10.** Kemijski sastav eteričnih ulja četiri biljke iz porodice *Lamiaceae* (29)

No	Spoj	Udio (%)				
		LI	MV	OM	SS	RI
1	α-pinen	5.17	-	0.07	-	936
2	sabinen	1.10	-	0.52	-	975
3	β-pinen	-	-	0.08	-	981
4	β-mircen	1.12	-	0.21	-	990
5	α-terpinen	1.64	-	1.40	-	1018
6	p-cimen	2.13	-	0.87	-	1028
7	δ-limonen	0.72	-	0.40	-	1031
8	γ-terpinen	4.49	-	5.07	-	1061
9	terpinolen	1.24	-	-	-	1087
10	linalol	25.38	-	4.68	1.79	1102
11	trans-pinen hidrat	-	-	4.21	-	1124
12	trans-verbenol	-	-	2.21	-	1146
13	kamfor	-	-	0.04	-	1147
14	pinokarvon	-	-	0.03	-	1167
15	borneol	-	-	0.61	-	1175
16	terpin-4-ol	5.96	-	-	0.54	1182
17	α-terpineol	-	-	37.75	-	1186
18	mirtenal	-	-	0.06	-	1198
19	L-α-terpineol	5.90	-	8.02	-	1201
20	dihidrokarvon	-	-	0.05	-	1203
21	trans-pipertiol	-	-	1.15	0.35	1209
22	timol metil eter	-	-	0.38	-	1231

No	Spoj	Udio (%)				
		LI	MV	OM	SS	RI
23	geraniol	1.72	-	-	-	1248
24	linalil acetat	-	-	2.15	-	1254
25	fenil etil acetat	-	-	0.10	-	1255
26	tujanol acetat	-	-	2.57	-	1277
27	karvakrol	-	-	1.68	-	1296
28	oktandiol	-	-	0.05	-	1347
29	$\alpha$ -kopaen	-	2.71	-	-	1374
30	geranil acetat	0.72	-	-	-	1380
31	<i>E</i> - $\beta$ -damascenon	-	-	2.3	0.44	1381
32	$\beta$ -elemen	2.29	-	-	-	1389
33	Z-kariofilen	16.95	10.95	-	-	1404
34	$\alpha$ -gurjunen	-	-	0.10	2.59	1405
35	4,8,- $\alpha$ -epoksikariofilen	-	-	-	26.06	1418
36	$\beta$ -humulen	1.11	-	-	1.70	1432
37	$\beta$ -farnezen	0.77	6.91	-	-	1444
38	<i>trans</i> -murola-3,5-dien	-	3.97	-	-	1457
39	$\alpha$ -aromadendren	-	-	1.53	1.85	1458
40	$\alpha$ -izometil ionol	1.43	4.18	-	-	1466
41	kumakren	-	-	-	-	1469
42	dauka-5,8-dien	0.64	-	-	-	1472
43	kadina-1,4-dien	-	-	-	2.55	1498
44	biciklogermakren	3.77	-	-	-	1505
45	$\alpha$ -bisabolen	-	9.72	-	-	1507
46	$\gamma$ -kadenin	-	4.35	0.24	-	1515
47	Z-nerolidol	-	1.06	0.04	-	1534
48	$\alpha$ -agarofuran	-	-	-	-	1547
49	<i>cis</i> -murolenol	-	-	-	-	1551
50	kadenin eter	-	-	-	7.46	1557
51	kariofilen oksid	1.69	3.72	-	20.70	1580
52	humulen oksid	-	-	-	1.03	1612
53	cedrol	-	-	-	2.51	1617
54	<i>epi</i> -eudesmol	-	-	-	0.44	1620
55	<i>epi</i> -kubenol	-	-	-	5.35	1630
56	izoborneol	-	1.76	-	-	1632
57	selinadienol	-	-	-	1.13	1646
58	bisabolol	-	-	-	11.67	1666
59	cedranol	-	-	-	0.48	1680
60	pentadekanon	-	1.46	-	-	1697
61	<i>E</i> -ligustilid	-	1.82	-	-	1796

No	Spoj	Udio (%)				
		LI	MV	OM	SS	RI
62	bisabolol acetat	1.96	-	-	-	1799
63	fitol	-	2.54	-	-	1943
64	Z,Z-geranil linalol	-	5.86	-	-	1961
65	pseudofitol	-	1.95	-	0.44	1988
66	7-hidroksi-4,8-dimetilkumarin	-	1.35	-	-	2013
67	manol	-	1.98	-	-	2060
68	oktadekanol	-	10.44	-	-	2077
69	oktadekanska kiselina	-	1.21	-	-	2142
70	labd-4-en-8,13-diol	-	-	-	1.51	2207
71	oktadekanol acetat	-	5.36	-	-	2209
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>89.34</b>	<b>88.91</b>	<b>99.02</b>	<b>92.65</b>	

LI – *Leucas inflata* Benth.

MV – *Marrubium vulgare* L.

OM – *Origanum majorana* L.

SS – *Salvia schimperii* Benth.

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana (C<sub>6</sub> – C<sub>22</sub>) na HP-5 kapilarnoj koloni

Mosbah i suradnici su 2018. godine analizirali kemijski sastav i *in vitro*  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja iz cvjetova *Rhaponticum acaule* (L) DC, biljke iz roda *Rhaponticum*, porodice *Asteraceae*. (30) Izolacija eteričnog ulja izvedena je hidrodestilacijom uzorka prikupljenog u fazi cvjetanja te je analizirano pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. Spektrofotometrijski test inhibicije  $\alpha$ -glukozidaze proveden je ranije opisanom metodom na  $\alpha$ -glukozidazu izoliranu iz *Aspergillus niger*. Identificirano je 26 sastojaka (prikazani u *Tablici 11.*) koji su predstavljali 97.4% ukupnog sastava, a rezultati sposobnosti inhibicije enzima su sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje *R. acaule*) = 6.7 ± 0.10 µg/mL; IC<sub>50</sub> (akarboza) = 280 ± 10.01 µg/mL. (30)

**Tablica 11.** Kemijski sastav eteričnog ulja iz nadzemnih dijelova *R. acaule* (L) DC (30)

No.	Spoj	Udio (%)	RI
1	( <i>E,E</i> )-2,4-heptadienal	0.2 ± 0.002	1012
2	linalol	0.4 ± 0.010	1101
3	nonanal	0.2 ± 0.004	1104
4	estragol	0.5 ± 0.010	1197
5	dekanal	0.6 ± 0.014	1206
6	tridecen	0.8 ± 0.010	1292
7	eugenol	1.8 ± 0.018	1358
8	$\alpha$ -kopaen	1.3 ± 0.011	1377
9	$\beta$ -kubeben	0.6 ± 0.010	1391
10	$\beta$ -elemen	1.8 ± 0.018	1392
11	metil eugenol	8.3 ± 0.280	1403
12	$\beta$ -kariofilen	5.7 ± 0.170	1419
13	$\beta$ -kopaen	0.2 ± 0.003	1430
14	cis- $\alpha$ -ambrinol	0.9 ± 0.017	1437
15	$\alpha$ -humulen	1.7 ± 0.016	1455
16	2-metiltetradekan	0.8 ± 0.012	1462
17	$\gamma$ -kurkumen	0.5 ± 0.010	1481
18	germakren D	49.2 ± 1.100	1482
19	( <i>E</i> )- $\beta$ -ionon	6.2 ± 0.180	1487
20	biciklogermakren	4.1 ± 0.120	1496
21	$\alpha$ -murolen	0.4 ± 0.011	1499
22	( <i>Z</i> )- $\alpha$ -bisabolen	3.7 ± 0.080	1506
23	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farnezen	4.2 ± 0.100	1508
24	$\delta$ -kadinen	0.8 ± 0.014	1524
25	elemicin	0.8 ± 0.015	1555
26	dendrolazin	1.5 ± 0.017	1580
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>97.4 ± 2.248</b>	

*RI* – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana na HP-5MS kapilarnoj koloni

U radu iz 2018. godine, Qin i suradnici su proveli usporedno istraživanje eteričnih ulja dobivenih iz šest uzoraka listova *Litsea coreana* Levl. var. *lanuginosa* (engl. *hawk tea*) koji su rasli u različitim pokrajinama Kine. (31) Uzorci eteričnih ulja dobiveni su hidrodestilacijom i označeni kao LC1 - LC6, sastav je analiziran pomoću sustava GC-MS, a retencijski indeksi su dobiveni u odnosu na retencijske indekse odgovarajuće serije *n*-alkana ( $C_7 - C_{40}$ ) i uspoređeni s podacima iz literature. U sastavu je identificirano 50 različitih spojeva (*Tablica 12.*). Sposobnost inhibicije uzoraka u usporedbi s akarbozom određena je ranije opisanom metodom, a dobiveni su sljedeći rezultati:  $IC_{50}$  (LC1) = 2.64 mg/mL;  $IC_{50}$  (LC2) = 11.30 mg/mL;  $IC_{50}$  (LC3) = 18.35 mg/mL;  $IC_{50}$  (LC4) = 3.88 mg/mL;  $IC_{50}$  (LC5) = 8.07 mg/mL;  $IC_{50}$  (LC6) = 1.71 mg/mL;  $IC_{50}$  (akarboza) = 5.17 mg/mL. (31)

**Tablica 12.** Kemijski sastav eteričnih ulja šest uzoraka *Litsea coreana* Levl. var. *lanuginosa* iz različitih staništa (31)

No	Spoj	Udio (%)						RI
		LC1	LC2	LC3	LC4	LC5	LC6	
<b>Alkoholi</b>								
1	1-undekanol	2.15	1.43	0.94	1.01	1.74	0.3	1861
<b>Aldehidi</b>								
2	nonanal	-	0.36	0.29	0.42	-	0.33	1396
3	dekanal	5.42	4.88	13.17	11.56	1.91	12.97	1506
4	undekanal	1.39	0.74	1.12	0.64	0.56	0.47	1649
5	dodekanal	13.39	14.12	8.3	5.62	15.38	2.1	1709
6	tetradekanal	4.28	4.91	4.08	3.07	3.81	1.86	1912
<b>Fenilpropanoidi</b>								
7	cinamil acetat	0.71	1.14	2.37	2.46	1.01	0.81	2125
<b>Ketoni</b>								
8	6-metil-5-hepten-2-on	2.35	0.67	0.31	1	0.61	-	1376
9	2-tridekanon	1.19	1.06	0.67	0.48	1.33	0.38	1802
<b>Terpeni</b>								
<b>Monoterpeni</b>								
10	linalol oksid	-	0.3	0.14	0.42	-	0.25	1458
11	linalol	-	0.4	0.81	0.67	0.29	0.58	1575
12	bornil acetat	0.69	0.85	0.71	1.53	0.55	2.27	1591
13	citral	13.11	9.81	21.12	10.31	13.52	4.67	1743
14	geraniol	0.55	0.56	0.42	0.39	0.72	0.31	1812
15	geranil izovalerat	0.65	0.93	0.86	1.32	0.69	0.89	1926
16	$\alpha$ -limonen diepoksid	0.46	0.59	0.48	0.53	0.68	0.53	1977
<b>Seskviterpeni</b>								
17	$\delta$ -elemen	0.34	0.31	0.18	0.95	-	0.64	1480

No	Spoj	Udio (%)						RI
		LC1	LC2	LC3	LC4	LC5	LC6	
18	kariofilen	3.57	2.55	3.02	6.72	2.31	15.74	1608
19	aromandendren	0.71	0.47	0.27	0.59	0.44	0.33	1631
20	$\alpha$ -humulen	2.99	2.08	1.78	7.3	1.45	13.56	1675
21	$\gamma$ -murolen	2.21	1.37	1.59	3.16	1.94	3.24	1691
22	$\beta$ -selinen	5.44	4.5	3.55	5.52	4.93	4.93	1719
23	viridifloren	1.33	1.45	0.73	-	1.37	0.84	1724
24	$\beta$ -bisabolen	0.79	1.04	0.77	0.75	1.15	0.95	1735
25	germakren B	0.47	1.38	1.51	1.68	4.19	0.48	1768
26	$\delta$ -kadinen	4.43	2.14	0.9	2.4	2.3	2.9	1771
27	$\alpha$ -murolen	0.65	0.62	0.56	0.72	0.46	0.57	1779
28	kalamenen	1.92	1.28	2.58	1.7	3.5	0.31	1822
29	$\alpha$ -kalakoren	1.34	1.06	1.09	1.5	1.01	0.97	1897
30	galakoren B	0.39	0.38	0.2	0.37	0.28	0.25	1943
31	šiobunol	0.47	0.37	0.21	0.44	0.28	0.25	1950
32	palustrol	0.88	-	0.43	0.48	0.43	0.48	1956
33	$\beta$ -ionon epoksid	0.7	1.11	0.73	0.57	0.91	0.49	1978
34	kariofil enepoksid	0.56	0.9	0.49	0.61	0.66	0.89	1991
35	nerolidol	-	2.94	1.16	1.85	1.21	4.41	2012
36	ledol	1.5	0.56	0.2	0.43	0.31	0.61	2026
37	globulol	1.99	1.99	1.77	1.6	1.63	1.52	2036
38	kuberol	0.84	1.73	1.27	1.02	1.38	0.42	2054
39	elemol	1.51	1.78	1.46	1.45	1.68	1.49	2086
40	spatulenol	1	2.69	2.51	1.78	3.73	1.08	2099
41	cedrol	1.37	2.36	1.06	0.88	2.15	0.97	2111
42	$\beta$ -kopaen-4 $\alpha$ -ol	-	2.02	1.94	0.93	2.07	1.17	2145
43	$\gamma$ -eudesmol	1.41	2.22	0.52	0.48	1.37	2.21	2152
44	$\alpha$ -aeorenol	1.92	1.46	2.04	0.47	2.27	1.32	2160
45	$\delta$ -kadinol	1.11	1.57	1.01	0.61	0.96	1.6	2164
46	hinesol	1.03	1.57	1.08	1.04	1.41	1.0	2177
47	$\beta$ -eudesmol	5.33	4.16	3.2	3.81	2.23	1.93	2191
48	$\alpha$ -eudesmol	1.62	1.56	1.24	2.06	1.1	1.18	2198
49	$\alpha$ -bisabolol	1.7	2.17	1.53	1.77	2.15	1.08	2216
50	7(11)-selinen-4 $\alpha$ -ol	1.72	2.43	1.26	1.36	2.6	0.87	2236
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>99.58</b>	<b>98.97</b>	<b>99.63</b>	<b>98.43</b>	<b>98.21</b>	<b>98.86</b>	

LCI-6 – šest uzoraka eteričnih ulja *Litsea coreana* iz različitih pokrajina Kine

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana (C<sub>7</sub> – C<sub>40</sub>) na Rtx-Wax kapilarnoj koloni



Fawzi Mahomoodally i suradnici su 2018. godine istražili sastav hlapljivih spojeva i farmakološki profil eteričnog ulja listova *Aegle marmelos* (L.) Corrêa (engl. *bael*) iz porodice *Rutaceae*. (17) Ulje je ekstrahirano pomoću hidrodestilacije, sastav eteričnog ulja je analiziran koristeći GC-FID i GC-MS, a sastojci su identificirani izračunom retencijskih indeksa koji su dobiveni u odnosu na retencijske indekse odgovarajuće serije *n*-alkana (C<sub>5</sub> – C<sub>30</sub>) te usporedbom vrijednosti s podacima iz literature. Kemijski sastav ovog ulja prikazan je u *Tablici 13.*, a inhibicijska aktivnost ulja na enzim  $\alpha$ -glukozidaza testirana je usporedno s aktivnošću akarboze te se pokazalo da inhibicijski potencijal ulja prikazan u odnosu na akarbozu (ACE) iznosi 39.08 mmol ACE/g uzorka. (17)

**Tablica. 13.** Kemijski sastav eteričnog ulja iz lišća *Aegle marmelos* (L.) Corrêa (17)

No.	Spoj	Udio (%)	RI
1	$\alpha$ -pinen	1.2	1023
2	2-metil-2-pentanol	1	1095
3	mircen	1.3	1165
4	$\alpha$ -felandren	1.4	1168
5	limonen	74.9	1201
6	$\beta$ -felandren	4.4	1212
7	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen	0.8	1237
8	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen	2.5	1255
9	<i>p</i> -cimen	4.2	1276
10	$\beta$ -elemen	0.2	1601
11	$\beta$ -kariofilen	2	1614
12	$\alpha$ -humulen	0.7	1689
13	kripton	0.2	1695
14	$\delta$ -kadinen	0.2	1773
15	<i>ar</i> -kureumen	0.2	1787
16	<i>trans</i> -karveol	0.2	1846
17	kariofilen oksid	1.7	2017
18	<i>n</i> -heksadekanska kiselina	1.6	2912
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>98.7</b>	

*RI* – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana (C<sub>5</sub> – C<sub>30</sub>) na HP-INNOWAX kapilarnoj koloni

Nadalje, Bouyahya i suradnici su 2019. godine istražili kemijsku varijabilnost i antidijabetičko djelovanje eteričnog ulja biljke *Centaurium erythrea* Rafn (štitasta kičica) iz porodice *Gentianaceae*. (32) Eterično ulje je izolirano hidrodestilacijom iz tri različite razvojne faze biljke (vegetativna faza, faza cvjetanja i faza poslije cvjetanja). Kemijski sastav ulja analiziran je pomoću sustava GC-MS, a identifikacija hlapljivih spojeva provedena je na temelju literaturnih podataka i retencijskog indeksa. Potvrda svakog spoja izvršena je usporedbom njegovih masenih spektra s podacima iz NIST02 baze podataka masenih spektara. Inhibicijska aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu (iz *Saccharomyces cerevisiae*) dobivena je ranije opisanom metodom i izražena kao IC<sub>50</sub> vrijednost, a akarboza se koristila kao pozitivna kontrola. Analizom sastava (Tablica 14.) identificirana su 39 spoja u vegetativnoj fazi (98.73% ukupnog sastava eteričnog ulja), 37 spoja u fazi cvjetanja (94.09%) i 36 spoja u fazi poslije cvjetanja (98.29%). Rezultati inhibicijskog potencijala ulja su sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje - vegetativna faza) = 56.77 ± 1.02 µg/mL; IC<sub>50</sub> (eterično ulje - faza cvjetanja) = 87.18 ± 0.422 µg/mL; IC<sub>50</sub> (eterično ulje - faza poslije cvjetanja) = 71.83 ± 0.72 µg/mL; IC<sub>50</sub> (akarboza) = 199.53 ± 2.45 µg/mL. (32)

**Tablica 14.** Kemijski sastav eteričnih ulja *C. erythrae* iz tri različite razvojne faze (32)

No.	Spoj	Udio (%)			RI
		Vegetativna faza	Faza cvjetanja	Faza poslije cvjetanja	
1	$\beta$ -tujon	0.83	1.73	0.62	964
2	linalol	2.13	1.94	1.37	1122
3	kamfor	1.34	2.13	1.94	1135
4	menton	2.52	1.82	0.95	1148
5	izomenton	2.86	3.09	2.7	1157
6	borneol	1.57	1.68	1.76	1166
7	mentol	12.74	20.82	9.46	1171
8	terpinen-4-ol	0.62	1.12	1.13	1178
9	<i>p</i> -cimen-8-ol	1.43	0.86	0.58	1184
10	$\alpha$ -terpineol	1.26	0.96	0.81	1193
11	dekanal	2.03	3.31	1.26	1204
12	pulegon	2.61	0.73	1.94	1237
13	karvon	0.53	1.17	-	1244
14	piperiton	3.52	2.58	1.74	1255
15	bornil acetat	1.46	0.75	0.59	1279
16	<i>trans</i> -anetol	3.52	1.42	2.07	1286

No.	Spoj	Udio (%)			RI
		Vegetativna faza	Faza cvjetanja	Faza poslije cvjetanja	
17	mentil acetat	0.73	1.2	-	1308
18	timol	1.19	0.83	1.04	1321
19	karvakrol	11.6	8.73	25.61	1340
20	$\alpha$ -kopaen	0.54	0.74	1.22	1352
21	$\beta$ -damascenon	1.85	1.69	1.53	1374
22	$\beta$ -burbonen	0.78	-	0.6	1398
23	$\beta$ -kariofilen	2.04	0.74	1.87	1417
24	germakren D	1.76	2.17	1.04	1431
25	$\beta$ -bisabolen	0.63	1.59	0.98	1448
26	$\gamma$ -kadinen	1.17	0.92	0.64	1455
27	$\delta$ -kadinen	0.78	-	1.31	1462
28	kariofilen oksid	1.45	0.58	0.87	1576
29	heksadekan	1.2	2.21	0.66	1593
30	tetradekanal	0.96	1.63	1.01	1617
31	$\alpha$ -kadinol	0.74	1.05	0.65	1629
32	pentadekanal	0.61	1.3	-	1642
33	tetradekanska kiselina	1.03	0.79	0.64	1658
34	oktadekan	0.82	1.21	0.56	1665
35	neofitadien	1.92	0.8	2.52	1677
36	heksahidrofarnesil aceton	2.47	1.03	1.83	1691
37	heksadekanska kiselina	3.64	2.02	1.47	1714
38	heneikozan	2.5	2.32	3.11	1740
39	linoleinska kiselina	2.38	1.83	1.63	1753
40	trikozean	10.12	15.27	17.7	1771
41	tetrakozean	2.03	1.36	1.52	1787
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>98.73</b>	<b>94.09</b>	<b>98.29</b>	

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana

Kirkan i suradnici su 2019. godine su istražili sastav i inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu eteričnih ulja iz nadzemnih dijelova (listova, pupoljaka i cvjetova) *Satureja thymbra* L. i *Thymbra spicata* var. *spicata*, biljaka koje su endemske za mediteransko područje, a pripadaju porodici *Lamiaceae*. (33) Eterična ulja su izolirana hidrodestilacijom, a sastav je analiziran pomoću GC-FID i GC-MS tehnika. Sastojci eteričnih ulja su identificirani pomoću retencijskih indeksa homologne serije *n*-alkana (C<sub>5</sub> - C<sub>30</sub>) i usporedbom s podacima iz literature. Inhibicijska aktivnost na  $\alpha$ -glukozidaze dobivena je ranije opisanom metodom, izražena u obliku IC<sub>50</sub> vrijednosti, a kao pozitivna kontrola se koristila akarboza. Kemijski

sastav eteričnih ulja prikazan je u *Tablici 15.* a rezultati za inhibicijski potencijali ulja su sljedeći:  $IC_{50}$  (*S. thymbra*) =  $1.03 \pm 0.02$  mg/L;  $IC_{50}$  (*T. spicata*) =  $1.02 \pm 0.01$  mg/L;  $IC_{50}$  (akarboza) =  $0.25 \pm 0.01$  mg/L. (33)

**Tablica 15.** Kemijski sastav eteričnih ulja *S. thymbra* i *T. spicata* var. *spicata* (33)

No.	Spoj	Udio (%)		RI
		<i>S. thymbra</i>	<i>T. spicata</i> var. <i>spicata</i>	
1	$\alpha$ -pinen	0.82	0.65	1031
2	$\alpha$ -tujen	1.59	2.09	1034
3	kamfen	0.14	-	1076
4	$\beta$ -pinen	0.22	-	1118
5	$\delta$ -3-karen	0.1	1.78	1158
6	$\alpha$ -felandren	0.33	0.21	1174
7	$\alpha$ -terpinen	3.74	2.45	1188
8	limonen	0.4	0.17	1203
9	1,8-cineol	-	0.15	1214
10	$\beta$ -felandren	0.24	-	1218
11	$\gamma$ -terpinen	34.67	18.94	1257
12	<i>p</i> -cimen	11.46	8.31	1281
13	terpinolen	0.11	-	1291
14	1-okten-3-ol	0.36	-	1454
15	<i>trans</i> -sabinen hidrat	0.37	-	1474
16	linalol	0.56	-	1553
17	<i>cis</i> -sabinen hidrat	0.14	-	1556
18	terpinen-4-ol	0.52	-	1611
19	$\beta$ -kariofilen	6.85	1.07	1615
20	aromadendren	0.32	-	1628
21	( <i>E</i> )- $\beta$ -farnezen	0.33	-	1694
22	$\alpha$ -terpinil acetat	0.09	-	1709
23	borneol	0.42	0.23	1719
24	kariofilen oksid	0.88	-	2019
25	spatulenol	0.19	-	2145
26	timol	0.12	-	2198
27	karvakrol	32.45	63.23	2239
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>97.4</b>	<b>99.26</b>	

*RI* – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana ( $C_5 - C_{30}$ ) na HP-INNOWAX kapilarnoj koloni

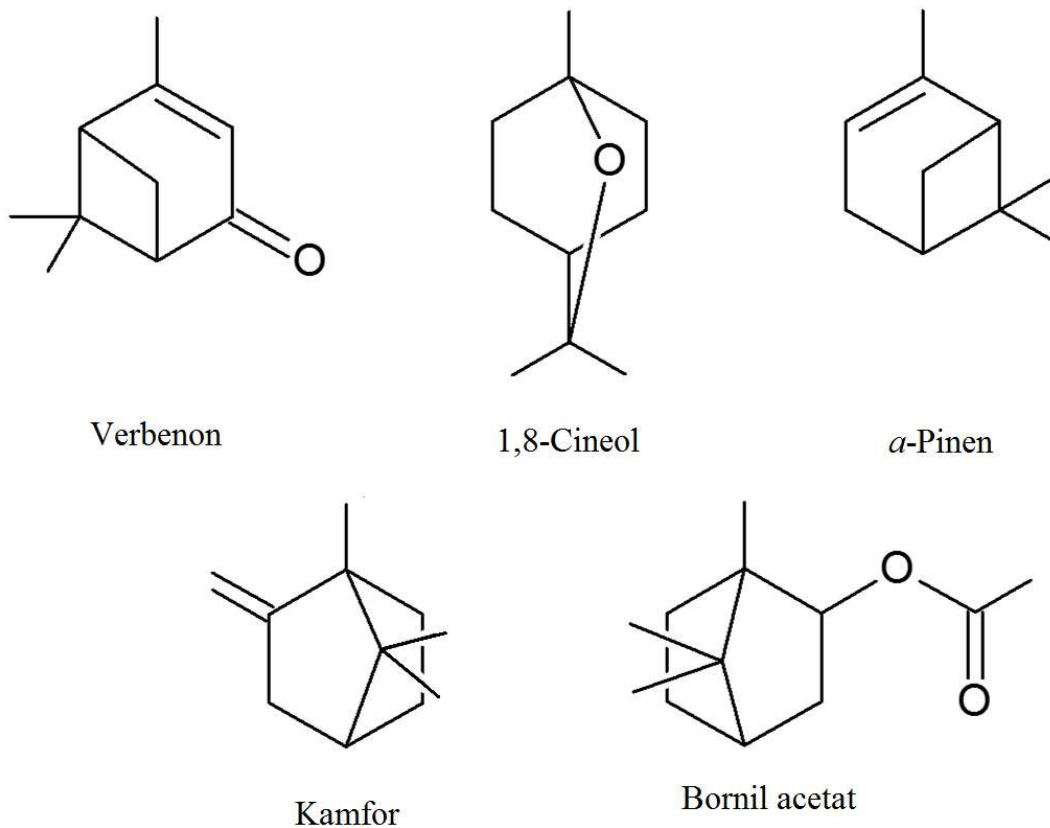
Ahamad i suradnici su 2019. godine istražili sastav i antidijabetičku aktivnost eteričnog ulja listova ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L., *Lamiaceae*) koji je rastao u Iraku. (34) Ulje je izolirano iz svježih listova hidrodestilacijom, sastav (prikazan u *Tablici 16.*) je analiziran pomoću GC-MS, sastojci su identificirani pomoću retencijskih indeksa homologne serije *n*-alkana (C<sub>9</sub> – C<sub>20</sub>) na HPS i HP-20M kapilarnim kolonama. Inhibicijska aktivnost je testirana ranije opisanom spektrofotometrijskom metodom, a kao pozitivna kontrola se koristila akarboza. Rezultati testiranja inhibicijske aktivnosti na  $\alpha$ -glukozidazu su sljedeći: IC<sub>50</sub> (eterično ulje) = 9.64 ± 2.44 µg/mL, IC<sub>50</sub> (akarboza) = 12.04 ± 3.17 µg/mL (34)

**Tablica 16.** Kemijski sastav eteričnog ulja listova *Rosmarinus officinalis* L (34)

No	Spoj	Udio (%)	RI
1	3-( <i>Z</i> )-heksenol	0.05	855
2	$\alpha$ -tujen	0.09	923
3	$\alpha$ -pinen	12.10	938
4	kamfen	1.69	951
5	$\beta$ -tujen	0.20	970
6	$\beta$ -pinen	1.15	975
7	$\beta$ -mircen	1.65	991
8	$\alpha$ -terpinen	0.15	1018
9	<i>p</i> -cimen	0.73	1026
10	limonen	1.50	1031
11	1,8-cineol	15.96	1033
12	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	0.01	1040
13	$\gamma$ -terpinen	1.87	1061
14	sabinen hidrat	0.70	1074
15	terpinolen	0.53	1084
16	linalol	3.27	1098
17	$\beta$ -pinen oksid	0.14	1143
18	kamfor	10.98	1145
19	kamfen hidrat	0.53	1148
20	izocitral	0.04	11451
21	borneol	3.69	1173
22	terpinen-4-ol	4.31	1177
23	(-)- $\alpha$ -terpineol	3.35	1189
24	verbenon	23.46	1202
25	<i>cis</i> -karveol	0.12	1228
26	<i>cis</i> -mirtanol	0.91	1215
27	(-)-mirtenal	0.22	1246
28	geraniol	0.59	1251
29	bornil acetat	5.78	1285

No	Spoj	Udio (%)	RI
30	karvakrol	0.27	1298
31	$\beta$ -kariofilen	0.55	1401
32	$\alpha$ -gvajen	0.09	1441
33	kariofilen oksid	0.18	1583
34	<i>n</i> -tetradekanol	0.43	1677
35	$\alpha$ -bisabolol	0.48	1682
36	ftalna kiselina	0.53	1919
37	palmitinska kiselina	0.18	1951
38	linoleinska kiselina	0.21	2079
39	9,12-oktadekadienska kiselina, metil ester	0.21	2078
40	metil oleat	0.38	2081
41	oleinska kiselina	0.19	2163
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>99.03</b>	

RI – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana (C<sub>9</sub> – C<sub>20</sub>) na HPS i HP-20M kapilarnim kolonama



Slika 9. Glavni spojevi identificirani u eteričnom ulju *Rosmarinus officinalis* (34)

U istraživanju iz 2019. godine, Hichri i suradnici su istražili inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu (iz *Saccharomyces cerevisiae*) eteričnog ulja biljke *Eruca vesicaria* subsp. *longirostris* (Uechtr.) Jahand. & Maire (povrtna riga) iz porodice *Brassicaceae*. (35) Uzorci su prikupljeni u fazi cvjetanja, eterično ulje je izolirano hidrodestilacijom iz različitih dijelova biljke (korijenje, stabljike, listovi i plodovi), a sastav ulja analiziran je pomoću sustava GC-MS. (Tablica 17.). Inhibicijska aktivnost ulja uspoređena je s akarbozom i izražena kao IC<sub>50</sub> vrijednost, a dobiveni rezultati su sljedeći: IC<sub>50</sub> (ulje plodova) = 1.12 ± 0.05 µg/mL; IC<sub>50</sub> (ulje iz stabljika) = 0.87 ± 0.02 µg/mL; IC<sub>50</sub> (ulje iz korjenja) = 0.81 ± 0.02 µg/mL; IC<sub>50</sub> (ulje iz listova) = 100 ± 3 µg/mL; IC<sub>50</sub> (akarboza) = 280 ± 10 µg/mL. (35)

**Tablica 17.** Kemijski sastav eteričnih ulja iz različitih dijelova *Eruca vesicaria* subsp. *longirostris* (35)

No.	Spoj	Udio (%)				RI
		Korijenje	Stabljike	Listovi	Plodovi	
1	5-metil-heksanenitril	0.2	-	-	0.1	949
2	heptanenitril	0.1	-	-	-	985
3	1-(metiltio)-heksan	0.1	-	-	-	1006
4	$\beta$ -izoforon	-	-	-	0.1	1043
5	pentil izotiocijanat	0.1	-	-	-	1099
6	izoforon	-	-	-	0.1	1120
7	4-metilpentil izotiocijanat	0.5	1.2	-	-	1165
8	3-hidroksi-2-etil- $\gamma$ -piron	0.2	0.6	-	0.1	1193
9	5-(metiltio)-pentanenitril	13.5	6.8	-	2.3	1202
10	( <i>E</i> )-anetol	0.1	-	-	-	1285
11	3-metiltiopropil izotiocijanat	0.2	0.4	-	-	1312
12	4-vinil gvaiaokol	-	-	-	0.1	1314
13	4-hidroksi-3metilacetofenon	0.1	-	-	-	1320
14	$\alpha$ -longipinen	-	-	9.6	-	1351
15	( <i>E</i> )- $\beta$ -damascenon	-	-	-	0.1	1383
16	$\beta$ -elemen	-	-	35.7	-	1392
17	( <i>E</i> )- $\beta$ -damaskon	-	-	15.4	-	1412
18	erucin	83.7	85.3	10.6	96.6	1431
19	( <i>E</i> )- $\beta$ -ionon	-	-	2.7	0.1	1486

No.	Spoj	Udio (%)				
		Korijenje	Stabljike	Listovi	Plodovi	RI
20	ledenol	0.1	1.4	-	-	1562
21	kariofilen oksid	-	0.5	-	-	1582
22	pentadekanal	0.1	-	-	-	1716
23	tetradekanska kiselina	0.1	0.3	-	-	1765
24	1-pentadekanol	0.1	0.3	-	-	1781
25	heksadekanal	-	0.3	-	-	1817
26	heksahidrofarnezil aceton	-	0.2	23.9	0.1	1843
<b>Identificirani spojevi</b>		<b>99.2</b>	<b>97.3</b>	<b>97.9</b>	<b>99.7</b>	

*RI* – retencijski indeks u odnosu na seriju *n*-alkana na polarnoj DB-5 kapilarnoj koloni

Nadalje, Yagi i suradnici su 2019. godine analizirali kemijski sastav i inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu eteričnih ulja *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. i *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. (porodica *Poaceae*) (36) Eterična ulja sušenih cvatova su izolirana hidroddestilacijom, kemijski sastav analiziran je pomoću sustava GC-MS, dok su sastojci identificirani pomoću retencijskih indeksa homologne serije *n*-alkana ( $C_8$  –  $C_{30}$ ). Identificirano je 29 spojeva u ulju *Cymbopogon schoenanthus* i 42 spoja u ulju *Cymbopogon nervatus* (kemijski sastav prikazan je u *Tablici 18.*). Sposobnost inhibicije enzima testirana je u usporedbi s aktivnošću akarboze ranije opisanom metodom, a rezultati testiranja su pokazali da eterična ulja obje biljke nemaju inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu. (36)



**Tablica 18.** Kemijski sastav eteričnih ulja sušenih cvatova *C. schoenanthus* i *C. nervatus*

No.	Spoj	<i>C. schoenanthus</i>	<i>C. servatus</i>	RI
1	triciklen	-	<0.1	1009
2	$\alpha$ -pinen	-	0.6	1023
3	norbonan	-	0.1	1057
4	kamfen	-	0.6	1068
5	$\delta$ -2-karen	9.1	<0.1	1132
6	$\delta$ -3-karen	-	0.1	1157
7	mircen	-	<0.1	1165
8	$\alpha$ -felandren	0.1	<0.1	1168
9	pseudolimonen	-	<0.1	1173
10	izocineol	-	4.5	1179
11	$\alpha$ -terpinen	-	0.2	1183
12	limonen	1.9	13.7	1201
13	1,8-cineol	-	3.2	1211
14	<i>p</i> -menta-1,3,6-trien	-	0.2	1218
15	$\gamma$ -terpinen	-	0.3	1249
16	<i>p</i> -cimen	0.4	3.1	1276
17	terpinolen	-	2.6	1286
18	izoterpinolen	-	0.1	1291
19	2-norbornanone	0.1	-	1408
20	$\alpha$ , <i>p</i> -dimetilstiren	0.1	0.6	1447
21	longipinen	-	0.1	1479
22	longiciklen	-	0.1	1512
23	kamfor	-	0.3	1535
24	sativen	-	<0.1	1539
25	<i>cis</i> -dihidro- $\alpha$ -terpineol	-	0.3	1567
26	<i>trans-p</i> -ment-2-en-1-ol	0.4	-	1568
27	1-terpineol	-	3.1	1580
28	longifolen	-	0.8	1585
29	2-norbornanol	-	1.4	1592
30	$\beta$ -elemen	1.2	-	1601
31	$\beta$ -gurjuen	0.1	-	1606
32	terpinen-4-ol	-	0.5	16012
33	$\beta$ -kariofilen	0.6	-	1614
34	<i>trans</i> -dihidrokarvon	-	0.1	1626
35	<i>cis-p</i> -ment-2-en-1-ol	0.5	-	1633
36	<i>trans-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	-	13.6	1636
37	<i>cis-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	<0.1	7.9	1677
38	<i>trans</i> -piperitol	0.1	-	1689
39	$\alpha$ -terpineol	1.1	3.2	1706
40	borneol	-	0.9	1715
41	kamigren	0.1	-	1723

No.	Spoj	C.		RI
		<i>schoenanthus</i>	<i>C. servatus</i>	
42	$\beta$ -selinen	0.4	-	1743
43	$\alpha$ -selinen	0.2	-	1747
44	piperiton	59.1	-	1753
45	karvon	-	2.9	1757
46	$\delta$ -kadinen	0.1	-	1773
47	$\gamma$ -kadinen	0.1	-	1779
48	<i>p</i> -metilacetofenon	-	0.3	1800
49	<i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	-	11.1	1809
50	<i>kuparen</i>	0.5	-	1846
51	<i>trans</i> -karveol	-	2.2	1847
52	<i>geraniol</i>	0.2	-	1852
53	<i>p</i> -cimen-8-ol	0.6	0.9	1861
54	<i>cis</i> -karveol	-	0.5	1877
55	<i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	-	10.6	1900
56	<i>kariofilen oksid</i>	0.7	-	2017
57	<i>elemol</i>	10.9	-	2095
58	<i>(E)</i> -metil cinamat	0.9	-	2104
59	$\gamma$ -eudesmol	2.1	-	2187
60	<i>eugenol</i>	-	0.3	2188
61	$\alpha$ -eudesmol	3.0	-	2246
62	$\beta$ -eudesmol	4.9	-	2256
63	<i>acetyl eugenol</i>	-	0.5	2276
	Identificirani spojevi	99.4	90.6	

## **5. RASPRAVA**

## 5.1. Sposobnost eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja da inhibiraju enzim $\alpha$ -glukozidazu

Farmakološka svojstva mnogih eteričnih ulja su još neistražena, a služe kao potencijalni izvor alternativnih i djelotvornih terapijskih mogućnosti za mnoge bolesti različitih etiologija. Sintetski inhibitori  $\alpha$ -glukozidaze se koriste u kontroli postprandijalne hiperglikemije u terapiji dijabetesa tipa II koji su povezani s mnoštvom nuspojava pri višim dozama i dugotrajnom korištenju, poput flatulencije, meteorizma, proljeva i abdominalne boli. Smatra se da bi prirodni izvori inhibitora enzima mogli služiti kao alternativna terapija s kojom bi se izbjegle nuspojave vezane za sintetske inhibitore.

Lekshmi i suradnici su 2012. godine istražili aktivnost hlapljivih spojeva u eteričnom ulju biljke *Curcuma longa L.* (kurkuma ili turmerik). (18) Ulje je ekstrahirano iz svježih (engl. *fresh turmeric oil* – FTO) i sušenih (engl. *dried turmeric oil* – DTO) podanaka. Glavni sastojak ulja bio je *ar*-turmeron. Test inhibicijske sposobnosti (opisan u poglavlju 1.4.) pokazao je da eterična ulja iz svježih i sušenih podanaka imaju snažnu inhibicijsku aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu iz *Bacillus stearothermophilus* ovisnu o dozi izraženu u obliku  $IC_{50}$ . DTO ( $IC_{50} = 0.38 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$ ) je pokazao 3.5 puta veću sposobnost inhibicije  $\alpha$ -glukozidaze u usporedbi s FTO ( $IC_{50} = 1.32 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$ ). Sposobnost inhibicije oba ulja je bila značajno veća ( $p < 0,05$ ) od akarboze ( $IC_{50} = 18.12 \pm 1.23 \mu\text{g/mL}$ ). Izolirani *ar*-turmeron je pokazao još veću sposobnost inhibicije ( $IC_{50} = 0.28 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ ). Rezultati istraživanja su pokazali da je eterično ulje kurkume potentni inhibitor  $\alpha$ -glukozidaze, te da sušenje podanka ima značaj u povećanju sposobnosti inhibicije, povezane s povećanjem udjela glavnog sastojka ulja, *ar*-turmerona (45.0 - 58.0%). (18)

Istraživanje iz 2015. godine koje su proveli Ganiyu i suradnici je bilo usmjereno na eterično ulje ekstrahirano iz pupoljaka biljke *Eugenia aromatica* Kuntze (klinčić), zimzelenog drva iz porodice *Myrtaceae*. (19) Rezultati testiranja aktivnosti ulja su pokazali inhibiciju enzima (dobivenog iz crijevne  $\alpha$ -glukozidaze štakora) ovisnu o dozi. Pri testiranom rasponu koncentracija ulja (40 - 160  $\mu\text{L/L}$ ), inhibicija  $\alpha$ -glukozidaze je iznosila 58-90% ( $IC_{50} = 71.94 \mu\text{L/L}$ ), dok je  $IC_{50}$  vrijednost akarboze iznosila 21.1  $\mu\text{g/mL}$ . Iako je pozitivna kontrola (akarboza) pokazala veću sposobnost inhibicije, nuspojave povezane sa sintetičkim inhibitorima se ne očekuju pri primjeni prirodnih spojeva. GC-FID analiza sastava ulja (prikazana u *Tablici 2.*) je pokazala da su glavni sastojci ulja  $\alpha$ -pinen (13.09%),  $\beta$ -pinen

(45.44%), mircen (5.13%),  $\gamma$ -terpinen (5.08%), pinen-2-ol (2.34%), 1,8-cineol (16.27%) i linalol (0.71%). (19)

Ceylan i suradnici su 2015. godine istražili inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja izoliranog iz nadzemnih dijelova vrste *Thymus spathulifolius* Hausskn. i Velen., turske endemske biljke iz porodice *Lamiaceae* (rod *Thymus* – timijan ili majčina dušica). (20) U sastavu je identificiran 21 sastojak koji su predstavljali 97.2% ukupnog sastava. Glavni sastojci su bili timol (50.5%), borneol (16.7%) i karvakrol (7.7%).  $IC_{50}$  vrijednost eteričnog ulja je iznosila  $1.08 \pm 0.05$  mg/mL, s većom sposobnosti inhibicije  $\alpha$ -glukozidaze od akarboze ( $IC_{50} = 6.67$  mg/mL). (20)

U istraživanju iz 2015. godine, Tan i suradnici su ispitali  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost odabranih monoterpenskih spojeva: geraniol, nerol, citral, (*R*)-(-)-linalol, (*R*)-(+)-limonen, (*S*)-(-)-perilil alkohol, (*R*)-(+)- $\beta$ -citronelol, (*S*)-(-)- $\beta$ -citronelol,  $\alpha$ -terpineol, L-mentol,  $\gamma$ -terpinen and terpinolen. (21). Spojevi su testirani pri koncentraciji od 10 mM. Rezultati su pokazali da su najbolju sposobnost inhibicije imali (*R*)-(+)-limonen (21.3%) i (*S*)-(-)-perilil alkohol (21.1%), a slijedio je  $\alpha$ -terpineol (14.0%). (*R*)-(+)- $\beta$ -citronelol, terpinolen, citral, (*R*)-(-)-linalol, nerol, geraniol i (*S*)-(-)- $\beta$ -citronelol su pokazali relativno nižu aktivnost, u rasponu od 4.2% do 8.1%. L-mentol i  $\gamma$ -terpinen nisu pokazali značajnu aktivnost. Pozitivna kontrola (akarboza) je pokazala mnogo veću sposobnost inhibicije u iznosu 49.6% pri koncentraciji od 5  $\mu$ M. (21)

Nadalje, Majouli i suradnici su ispitali inhibicijsku aktivnost eteričnih ulja cvjetova, listova i stabljika te korijena *Hertia cheirifolia* L., vrste iz roda *Hertia*, pripadnika porodice *Asteraceae* (glavočike). (22) U eteričnom ulju iz cvjetova otkriveno je 35 sastojaka (98.1% ukupnog sastava), a glavni sastojci su bili  $\alpha$ -pinen (70.4%), germakren D (6.7%),  $\alpha$ -kadinol (3.2%) i sabinen (2.3%). 30 sastojaka je bilo identificirano u eteričnom ulju od stabljika i listova (95.9% ukupnog sastava), a glavni sastojci su bili  $\alpha$ -pinen (62.5%), germakren (9.5%),  $\alpha$ -kadinol (2.7%), sabinen (2.1%) i  $\beta$ -kariofilen. U eteričnom ulju iz korijena identificirano je 28 sastojaka (90.3% ukupnog sastava), a glavni sastojci su bili  $\alpha$ -pinen (22.1%), valencen (13.2%),  $\beta$ -kariofilen (11.8%), germakren A (7.6%),  $\alpha$ -terpinil acetat (6.9%), germakren D (5.9%),  $\beta$ -elemen (3.9%) i kariofilen oksid (2.5%). Najbrojniji su bili monoterpenški ugljikovodici. (22). Rezultati testova inhibicije su pokazali da eterična ulja imaju relativno nisku inhibicijsku aktivnost u usporedbi s akarbozom. Najvišu inhibicijsku aktivnost imalo je eterično ulje iz cvjetova ( $IC_{50} = 0.24 \pm 0.01$   $\mu$ g/mL). Eterična ulja iz stabljika i listova ( $IC_{50} =$

0.29 ± 0.04 µg/mL) te korijena (IC<sub>50</sub> = 0.45 ± 0.02 µg/mL) imali su nižu inhibicijsku aktivnost od akarboze (IC<sub>50</sub> = 0.28 ± 0.01 µg/mL). Iz rezultata bi se moglo zaključiti da terpeni poput α-pinena, sastojka s najvećim udjelom, imaju značajnu inhibicijsku aktivnost na α-glukozidaze. Međutim, eterična ulja su složene smjese i trebalo bi ispitati jesu li biološki utjecaji rezultat sinergizma svih sastojaka ili su većinski zaslužni sastojci s najvećim udjelom. (22)

Zengin i suradnici su 2016. godine objavili istraživanje o monoterpenima bogatom eteričnom ulju biljke *Sideritis galatica* Bornm., turske endemske biljke iz roda *Sideritis* (očist), porodice *Lamiaceae*. (23) Identificirana su 23 sastojka koji su predstavljali 98.1% ukupnog sastava ulja (Tablica 4.) Monoterpeni ugljikovodici su bila dominantna skupina (74.1% ukupnog sastava), od kojih su najveći udio imali β-pinen (32.2%), α-pinen (23.0%), (Z)-β-ocimen (9.5%). Druga najbrojnija skupina su bili seskviterpeni (21.6%), čiji su glavni sastojci bili β-kariofilen (16.9%), germakren D (1.2%) i kariofilen oksid (1.2%). Pripadnici roda *Sideritis* se po sastavu eteričnog ulja mogu karakterizirati kao monoterpenima bogati ili seskviterpenima bogati. S obzirom na rezultate analize, *S. galatica* spada u monoterpenima bogate. Testovi inhibicijske aktivnosti su pokazali da eterično ulje (IC<sub>50</sub> = 0.632 ± 0.073 mg/mL) ima veću inhibicijsku aktivnost u usporedbi s akarbozom (IC<sub>50</sub> = 2.062 ± 0.405 mg/mL). (23)

Jani i suradnici su 2016. godine proveli istraživanje α-glukozidazne inhibicijske aktivnosti eteričnog ulja svježih stabljika i listova biljke *Neolitsea coccinea* B.C. iz porodice *Lauraceae*. (24). Analizom sastava identificirano je 23 spoja u ulju stabljika (84.9% ukupnog sastava) i 30 spojeva u ulju listova (90.4% ukupnog sastava). Eterična ulja su bila karakterizirana visokim udjelom seskviterpena (84.8 - 89.8% ukupnog sastava) Ulje stabljika je sadržavalo 17 seskviterpenskog ugljikovodika (50.2%) i 6 oksidiranih seskviterpena (34.7%), dok je ulje listova sadržavalo 20 seskviterpenskog ugljikovodika (36.2%) i 8 oksidiranih seskviterpena (53.6%). Oksidirani monoterpen, terpinen-4-ol (0.5%) i alkohol (3Z)-heksenol (0.1%) su također bili prisutni u ulju listova. δ-Kadinen (21.2%), 1-*epi*-kubenol (11.3%) i ciperotundon (10.7%) su bili glavni sastojci ulja stabljika, dok su selin-11-en-4-α-ol (26.8%), biciklogermagren (12.6%), γ-eudesmol (7.1%), germakren D (6.1%) i globulol (5.9%) bili glavni sastojci u ulju listova. Testovi inhibicijske aktivnosti na enzim α-glukozidazu *Saccharomyces cerevisiae* su pokazali da oba ulja imaju manju aktivnost u usporedbi s pozitivnom kontrolom. IC<sub>50</sub> vrijednosti su iznosile 32.2 ± 0.8 µg/mL za ulje stabljika, 70.9 ± 1.1 µg/mL za ulje listova i 5.1 ± 0.1 µg/mL za kvercetin. Autori

pretpostavljaju da je inhibicijska aktivnost ulja relativno niska zbog niskog udjela monoterpenoida u sastavu oba ulja. (24)

Istraživanje koje su Dang i suradnici proveli 2016. godine bilo je usmjereno na  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost eteričnih ulja dobivenih iz kore zrelih plodova šest biljaka iz roda *Citrus* (agrumi), porodice *Rutaceae*: *C. medica* var. *sarcodactylis* (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle (Budina ruka), *C. aurantifolia* (Christm.) Swingle (limeta), *C. grandis* L. (pomelo), *C. sinensis* L. (slatka naranča), *C. reticulata* Blanco (mandarina) i *C. microcarpa* Bunge (kalamondin). (25) Analizom sastava se pokazalo da je limonen (90.95 – 95.74%) bio najobilniji u pomelu, naranči, mandarini i kalamondinu, dok su limonen (59.0 – 61.31%) i  $\gamma$ -terpinen (13.98 – 23.84%) bili najobilniji u Budinoj ruci i limeti.  $\gamma$ -Terpinen nije bio identificiran u pomelu, naranči, mandarini i kalamondinu. (24). Inhibicijska aktivnost ovih šest eteričnih ulja bila je testirana protiv  $\alpha$ -glukozidaze kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Eterično ulje Budine ruke (CMSU) je jedino inhibiralo  $\alpha$ -glukozidazu s  $IC_{50}$  vrijednosti od 412.2  $\mu\text{g/mL}$ , usporedivo s akarbozom ( $IC_{50} = 433.8 \mu\text{g/mL}$ ). Iako je limonen u drugim istraživanjima pokazao antidijabetičku aktivnost, ovaj spoj možda nije odgovoran za inhibiciju  $\alpha$ -glukozidaze s obzirom da se nalazi u visokom udjelu u ostalim, neaktivnim, uzorcima. Udio  $\gamma$ -terpinena je bio 1.7 puta veći u CMSU nego u limeti, sugerirajući da bi ovaj monoterpen mogao doprinositi  $\alpha$ -glukozidaznoj inhibicijskoj aktivnosti. Također, 4 sastojka, nerol, neral, geraniol i geranial bi mogli biti uključeni u  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost s obzirom da nisu identificirani ili su bili prisutni u maloj količini u drugim uzorcima. (25)

Autori su također istražili imaju li CMSU i akarboza sinergističku ili aditivnu interakciju pri inhibiciji  $\alpha$ -glukozidaze. Pri niskim koncentracijama akarboze (10  $\mu\text{g/mL}$ ) i CMSU (10 i 30  $\mu\text{g/mL}$ ), postotak inhibicije smjese je bio jednak sumi CMSU i akarboze, što bi sugeriralo da imaju aditivnu inhibiciju. Pri višim dozama CMSU (100 i 500  $\mu\text{g/mL}$ ) došlo je do sinergističkog inhibicijskog učinka s akarbozom (10  $\mu\text{g/mL}$ ). Najniža terapijska doza akarboze iznosi 150 mg/dan, a pri dozama iznad 300 mg/dan lijek ne pokazuje povećanje inhibicijske aktivnosti zbog zasićenja receptora. Pri višim dozama akarboze povećava se incidencija nuspojava, stoga, rezultati ovog istraživanja pokazuju mogućnost smanjivanja doze akarboze ako se kombinira s CMSU, što bi smanjilo i incidenciju nuspojava akarboze. (25)

Movahhedini i suradnici su 2016. godine su po prvi put istražili sastav i enzimsku inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja nadzemnih dijelova biljke *Ajuga chamaecistus* subsp.

*scoparia* (Boiss.) Rech.f. iz roda *Ajuga* (ivica), porodica *Lamiaceae*. (26) Identificirano je 8 hlapljivih spojeva (94.6% ukupnog sastava). Glavni sastojci su bili spatulenol (18.0%), timol (15.1%), okten-3-ol (14.3%) i linalol oksid (11.2%). Oksidirani monoterpeni su bili najobilnija skupina. Eterično ulje je pokazalo  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost izraženu kao mmol ekvivalenta akarboze (ACE)/g uzorka ( $4.34 \pm 0.01$  mmol ACE/g uzorka) (26)

U istraživanju iz 2017. godine, Adefegha i suradnici su analizirali sastav i antidijabetičku aktivnost eteričnih ulja sjemenki dvije vrste iz roda *Aframomum*, porodice *Zingiberaceae* (đumbirovke): *Aframomum melegueta* K. Schum i *Aframomum danielli*. K. Schum (27). Ulje dobiveno iz *A. melegueta* je imalo veći udio eugenola (72.2%) i  $\alpha$ -kariofilena (3.35%) u usporedbi s uljem *A. danielli* (Tablica 8.). Međutim, ulje iz *A. danielli* je imalo veći udio  $\beta$ -kariofilena (5.11%), eukaliptola (10.93%),  $\alpha$ -terpineola (5.56%) i dr.  $\gamma$ -Elemen,  $\tau$ -kadinol i 3-alil-6-metoksifenol su bili prisutni samo u *A. melegueta*, dok su  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, mirtenol, timol, *p*-menten, peruviol,  $\gamma$ -gurjunen,  $\alpha$ -bisabolen epoksid i kamfen bili prisutni samo u *A. danielli*. Inhibicijska aktivnost na crijevnu  $\alpha$ -glukozidazu štakora istraživanih eteričnih ulja testirana je u usporedbi s aktivnošću akarboze i prikazana kao postotak inhibicije. Iako je akarboza imala najvišu inhibicijsku aktivnost ( $IC_{50} = 18.63$   $\mu$ g/mL), ulje *A. melegueta* ( $IC_{50} = 91.83$   $\mu$ L/mL) je imala značajno ( $p < 0.05$ ) veću aktivnost od ulja *A. danielli* ( $IC_{50} = 114.65$   $\mu$ L/mL). (27)

Nadalje, Bahadori i suradnici su 2017. godine istražili sastav i aktivnost eteričnog ulja biljke *Hymenocrater bituminosus* Fisch., iz porodice *Lamiaceae* (28) Eterično ulje iz nadzemnih dijelova biljke (cvjetovi, listovi i mlade stabljike) je karakterizirano prisutstvom 51 hlapljivog spoja koji predstavljaju 94.1% ukupnog sastava.  $\alpha$ -Pinen (18.2%),  $\beta$ -pinen (11.3%), *trans*-fitol (11.0%) i spatulenol (8.5%) su identificirani kao glavni sastojci ulja. Monoterpeni ugljikovodici (32.3%) su predstavljali glavnu frakciju ulja, a slijede oksidirani monoterpeni (13.5%), diterpeni (13.2%) i oksidirani seskviterpeni (13.0%). Najmanji udio su imali alkani (9.9%) i seskviterpeni ugljikovodici (6.8%). Rezultati analize sastava pokazuju da eterično ulje *H. bituminosus* sadrži farmakološki korisne tvari. Prisutstvo *trans*-fitola kao jednog od glavnih sastojaka u eteričnom ulju roda *Hymenocrater* je prvi put prikazano u ovom istraživanju, a prisutstvo alkanskih derivata s udjelom 9.9% je još jedna uočena razlika. Eterično ulje je pokazalo visoku inhibicijsku aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu, prikazana kao postotak inhibicije izraženu kao mmol ekvivalenta akarboze (ACE)/g uzorka ( $40.17 \pm 1.40$  mmol ACE/g uzorka). (28)



U istraživanju iz 2018. godine, Ya'ni i suradnici su analizirali sastav i antidijabetičku aktivnost odabranih vrsta iz porodice *Lamiaceae* koje se koriste u narodnoj medicini Jemena: *Leucas inflata* Benth., *Marrubium vulgare* L., *Salvia schimperi* Benth. i *Origanum majorana* L. (29). Rezultati testova inhibicijske aktivnosti na  $\alpha$ -glukozidazu su pokazali da eterična ulja *S. schimperi* ( $IC_{50} = 14.26 \mu\text{L}$ ) i *M. vulgare* ( $IC_{50} = 35.47 \mu\text{L}$ ) imaju inhibicijsku aktivnost ovisnu o dozi (u usporedbi s akarbozom,  $IC_{50} = 12.87 \mu\text{L}$ ). Eterično ulje *Leucas inflata* je pokazalo slabu inhibicijsku aktivnost s  $IC_{50} = 159.66 \mu\text{L}$ , dok eterično ulje *Origanum majorana* nije imalo inhibicijsku aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu. Bolja inhibicijska aktivnost eteričnog ulja *Salvia schimperi* bi se mogla objasniti prisutstvom glavnih sastojaka: 4,8- $\alpha$ -epoksikariofilena (26.06%), kariofilen oksida (20.7%), bisabolola (11.67%), kadinen etera (7.46%), i kubenola (5.35%). Za inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja *Marrubium vulgare* bi mogli biti odgovorni glavni sastojci poput kariofilena (10.95%), oktadekanola (10.44%),  $\alpha$ -bisabolena (9.72%),  $\beta$ -farnezena (6.91%), geranil linalola (5.86%) i oktadekanol acetata (5.36%) (29)

Mosbah i suradnici su 2018. godine analizirali kemijski sastav i *in vitro*  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja cvjetova *Rhaponticum acaule* (L) DC, biljke iz roda *Rhaponticum*, porodice *Asteraceae*. (30) Identificirano je 26 sastojaka (prikazani u *Tablici 11.*) koji su predstavljali 97.4% ukupnog sastava. Glavni sastojci su bili germakren D ( $49.2 \pm 1.1\%$ ), metil eugenol ( $8.3 \pm 0.28\%$ ), (*E*)- $\beta$ -ionon ( $6.2 \pm 0.18\%$ ),  $\beta$ -kariofilen ( $5.7 \pm 0.17\%$ ), (*E,E*)- $\alpha$ -farnezen ( $4.2 \pm 0.1\%$ ), biciklogermakren ( $4.1 \pm 0.12\%$ ) i (*Z*)- $\alpha$ -bisabolen ( $3.7 \pm 0.08\%$ ). Eterično ulje je bilo karakterizirano velikim udjelom seskviterpenskih ugljikohidrata. Eterično ulje *R. acaule* ( $IC_{50} = 6.7 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$ ) pokazalo je 42 puta veću sposobnost inhibicije od akarboze ( $IC_{50} = 280 \pm 10.01 \mu\text{g/mL}$ ) te je pokazalo miješani tip inhibicije, ali se većinski veže za slobodni enzim (većinski kompetitivni mehanizam). (30)

U radu iz 2018. godine, Qin i suradnici su proveli usporedno istraživanje eteričnih ulja dobivenih iz šest uzoraka listova *Litsea coreana* Levl. var. *lanuginosa* (engl. *hawk tea*) koji su rasli u različitim pokrajinama Kine. (31) U sastavu šest uzoraka (LC1 – 6) identificirano je 50 različitih spojeva (*Tablica 12.*). Terpenoidi su bili najobilniji (68.38 – 79.64%), tj seskviterpeni (43.84 – 70.14%) i monoterpeni (9.50 – 24.54%). Slijedili su aldehidi (17.73 – 26.96%), ketoni (0.38 – 3.54%), fenilpropanoidi (0.71 – 2.46%) i alkoholi (0.30 – 2.15%). Pet glavnih sastojaka je pronađeno u svim uzorcima: monoterpenoid citral (4.67 – 21.12%), dva seskviterpena, kariofilen (2.31 – 15.74%) i  $\alpha$ -humulen (1.45 – 13.56%) i dva aldehida, dodekanal (2.10 – 15.38%) i dekanal (1.91 – 13.17%). Primijećene su i razlike u sastavu

različitih uzoraka: linalol, nerolidol i  $\beta$ -kopaen-4 $\alpha$ -ol detektirani u LC1; nonanal i linalol oksid nisu detektirani u LC1 i LC5; palustrol nije bio detektiran u LC2; viridfloren nije bio detektiran u LC4;  $\delta$ -elemen nije bio detektiran u LC5 i 6-metil-5-hepten-2-on nije bio detektiran u LC6. IC<sub>50</sub> vrijednosti LC6 (1.71 mg/mL), LC1 (2.64 mg/mL) i LC4 (3.88 mg/mL) su bile niže od akarboze (5.17 mg/mL), sugerirajući to da ova eterična ulja imaju potencijal kao prirodna hipoglikemijska sredstva. IC<sub>50</sub> vrijednosti LC5 (8.07 mg/mL), LC2 (11.30 mg/mL) i LC3 (18.35 mg/mL) pokazuju umjerenu do nisku inhibicijsku aktivnost. (31)

Fawzi Mahomoodally M. i suradnici su 2018. godine istražili sastav hlapljivih spojeva i farmakološki profil eteričnog ulja listova *Aegle marmelos* (L.) Corrêa (bael) iz porodice *Rutaceae*. (17) Glavni sastojci ulja bili su limonen (74.9%),  $\beta$ -felandren (4.4%), *p*-cimen (4.2%), (*E*)- $\beta$ -ocimen (2.5%) i  $\beta$ -kariofilen (2.0%). Ulje je pokazalo dobru inhibicijsku aktivnost, prikazanu kao postotak inhibicije i izraženu kao mmol ekvivalenta akarboze (ACE)/g uzorka (39.08 mmol ACE/g uzorka). (17)

Nadalje, Bouyahya i suradnici su 2019. godine istražili kemijsku varijabilnost i antidijabetičko djelovanje eteričnog ulja biljke *Centaurium erythrea* Rafn (štitasta kičica) iz porodice *Gentianaceae*. (32) Eterično ulje je izolirano je iz tri različite razvojne faze biljke (vegetativna faza, faza cvjetanja i faza poslije cvjetanja). Analizom sastava identificirana su 39 spoja u vegetativnoj fazi (98.73% ukupnog sastava eteričnog ulja), 37 spoja u fazi cvjetanja (94.09%) i 36 spoja u fazi poslije cvjetanja (98.29%). Glavni sastojci su bili karvakrol (11.60% u vegetativnoj fazi, 8.73% u fazi cvjetanja i 25.61% u fazi poslije cvjetanja), mentol (12.74, 20.82 i 9.46%) i trikozan (10.12, 15.27 i 17.70%). Udio karvakrola bio je vrlo visok u fazi poslije cvjetanja (25.61%), dok je udio mentola bio najveći u fazi cvjetanja (20.82%). Razlike u kemijskom sastavu različitih fenoloških faza mogu se objasniti činjenicom da na sintezu sekundarnih metabolita (uključujući i eterična ulja) utječu faze rasta biljke. Najbolju inhibicijsku aktivnost je pokazalo eterično ulje iz vegetativne faze (IC<sub>50</sub> = 56.77 ± 1.02  $\mu$ g/mL) u usporedbi s fazom cvjetanja (IC<sub>50</sub> = 87.18 ± 0.42  $\mu$ g/mL) i fazom poslije cvjetanja (IC<sub>50</sub> = 71.83 ± 0.72  $\mu$ g/mL). Svi uzorci su pokazali bolju aktivnost od akarboze (IC<sub>50</sub> = 199.53 ± 2.45  $\mu$ g/mL). (32)

Kirkan i suradnici su 2019. godine su istražili sastav i enzimsku inhibicijsku aktivnost eteričnih ulja iz nadzemnih dijelova (listova, pupoljaka i cvjetova) *Satureja thymbra* L. i *Thymbra spicata* var. *spicata*, biljaka iz porodice *Lamiaceae*. (33) 26 spojeva identificirano je u eteričnom ulju *S. thymbra* (97.40% ukupnog sastava) i 12 spojeva u eteričnom ulju *T.*

*spicata* (99.26% ukupnog sastava). Glavni sastojci *S. thymbra* su bili  $\gamma$ -terpinen (34.67%), karvakrol (32.45%), *p*-cimen (11.46%) i  $\beta$ -kariofilen (6.85%), dok su glavni sastojci *T. spicata* bili karvakrol (62.23%),  $\gamma$ -terpinen (18.94%) i *p*-cimen (8.31%). Eterična ulja obje biljke su pokazala četiri puta manju inhibicijsku aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu u usporedbi s akarbozom. IC<sub>50</sub> vrijednosti su iznosile 1.03 ± 0.02 mg/L za *S. thymbra* i 1.02 ± 0.01 mg/L za *T. spicata* i 0.25 ± 0.01 mg/L za akarbozu. (33)

Ahamad i suradnici su 2019. godine istražili sastav i antidijabetičku aktivnost eteričnog ulja listova ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L., *Lamiaceae*) koji je rastao u Iraku. (34) Analizom sastava ulja je identificiran 41 spoj (99.03% ukupnog sastava). Glavni sastojci ulja su bili verbenon (23.46%), 1,8-cineol (15.96%),  $\alpha$ -pinen (12.10%), kamfor (10.98%) i bornil acetat (5.78%). Rezultati testova inhibicijske aktivnosti na  $\alpha$ -glukozidazu su pokazali da eterično ulje ružmarina ima o koncentraciji ovisnu inhibicijsku aktivnost, s IC<sub>50</sub> vrijednost koja iznosi 9.64 ± 2.44  $\mu$ g/mL, što je veća aktivnost u usporedbi s akarbozom (IC<sub>50</sub> = 12.04 ± 3.17  $\mu$ g/mL) (34)

U istraživanju iz 2019. godine, Hichri i suradnici su istražili  $\alpha$ -glukozidaznu inhibicijsku aktivnost eteričnog ulja biljke *Eruca vesicaria* subsp. *longirostris* (Uechtr.) Jahand. & Maire (povrtna riga) iz porodice *Brassicaceae*. (35) Analizom sastava ulja iz različitih dijelova biljke (korijenje, stabljike, listovi i plodovi) identificirano je ukupno 26 spojeva koji spadaju u skupine seskviterpen ugljikovodike, oksidirane seskviterpene, spojeve koji sadrže sumpor i/ili dušik, apokarotenoide, fenilpropanoide i ostale. Najveći udio kemijskog sastava prisutan u tri eterična ulja plodova, stabljika i korijena zauzimaju izotiocijanati, od kojih najveći udio ima 4-metiltiobutil izotiocijanat (erucin), 96.6% za plodove, 85.3% za stabljike i 83.7% za korijenje te 5-(metiltio)-pentanentril (2.3% za plodove, 6.8% za stabljike i 13.5% za korijenje). Međutim, glavni sastojci eteričnog ulja listova se znatno razlikuju:  $\beta$ -elemen (35.7%), heksahidrofarnezil aceton (23.9%), (*E*)- $\beta$ -damaskon (10.6%) i  $\alpha$ -longipinen (9.6%). Eterična ulja ploda, stabljika i korijena imaju snažno inhibicijsko djelovanje na  $\alpha$ -glukozidazu *Saccharomyces cerevisiae* s IC<sub>50</sub> vrijednostima koje iznose 1.12 ± 0.05  $\mu$ g/mL za plodove, 0.87 ± 0.02  $\mu$ g/mL za stabljike i 0.81 ± 0.02  $\mu$ g/mL za korijenje. Za inhibiciju bi mogao biti odgovoran erucin koji se nalazi u visokim razinama u aktivnim uzorcima. Eterično ulje listova također pokazuje značajnu inhibicijsku aktivnost na  $\alpha$ -glukozidazu, s IC<sub>50</sub> koji iznosi 100 ± 3  $\mu$ g/mL. Udio  $\beta$ -elemena u ulju listova iznosio je 35.7%, sugerirajući da ovaj seskviterpen može doprinijeti inhibicijskoj aktivnosti. Sva četiri uzorka pokazala su bolju inhibicijsku aktivnost od akarboze (IC<sub>50</sub> = 280 ± 10  $\mu$ g/mL). (35)

Nadalje, Yagi i suradnici su 2019. godine analizirali kemijski sastav i inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu eteričnih ulja sušenih cvatova *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. i *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. (porodica *Poaceae*) (36) Identificirano je 29 spojeva u ulju *Cymbopogon schoenanthus* (L) (99.4% ukupnog sastava ulja), s najvećim udjelom oksidiranih monoterpena (62.1%), a slijede oksidirani seskviterpeni (21.6%) i monoterpeni ugljikovodici (11.6%). Glavni sastojak eteričnog ulja *C. schoenanthus* je bio piperiton (59.1%). 42 spoja su identificirana u ulju *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) (90.6% ukupnog sastava ulja), s najvećim udjelom oksidiranih monoterpena (66.1%), a slijede monoterpeni ugljikovodici (22.2%). Glavni sastojci eteričnog ulja *C. nervatus* su bili limonen (13.7%) i izomeri *p*-mentadienola: *trans-p*-menta-2,8-dien-1-ol (13.6%), *trans-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (11.1%) i *cis-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (10.6%). Rezultati testiranja sposobnosti inhibicije enzima su pokazali da eterična ulja obje biljke nemaju inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu. (36)

**Tablica 18.** Prikaz rezultata inhibicijske aktivnosti eteričnih ulja na enzim  $\alpha$ -glukozidazu

Ref.	Biljka	Dio biljke/razvojna faza	Izvor enzima	Inhibicijska aktivnost	Pozitivna kontrola (akarboza)
(18)	<i>Curcuma longa</i> L.	sušeni podanak	<i>B. stearothermophilus</i>	IC <sub>50</sub> = 0.38 ± 0.09 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 18.12 ± 1.23 µg/mL
(18)	<i>Curcuma longa</i> L.	svježi podanak	<i>B. stearothermophilus</i>	IC <sub>50</sub> = 1.32 ± 0.08 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 18.12 ± 1.23 µg/mL
(19)	<i>Eugenia aromatica</i> Kuntze	pupoljak	crijevna $\alpha$ -glukozidaza štakora	58-90% (40-160µL/L), IC <sub>50</sub> = 71.94 µL/L	IC <sub>50</sub> = 21.1 µg/mL
(20)	<i>Thymus spathulifolius</i> Hausskn. i Velen	nadzemni dijelovi	-	IC <sub>50</sub> = 1.08 ± 0.05 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 6.67 mg/mL
(22)	<i>Hertia cheirifolia</i> L.	cvjetovi	<i>A. niger</i>	IC <sub>50</sub> = 0.24 ± 0.01 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 0.28 ± 0.01 µg/mL
(22)	<i>Hertia cheirifolia</i> L.	listovi i stabljike	<i>A. niger</i>	IC <sub>50</sub> = 0.29 ± 0.04 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 0.28 ± 0.01 µg/mL
(22)	<i>Hertia cheirifolia</i> L.	korijen	<i>A. niger</i>	IC <sub>50</sub> = 0.45 ± 0.02 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 0.28 ± 0.01 µg/mL
(23)	<i>Sideritis galatica</i> Bornm	cijela sušena biljka	-	IC <sub>50</sub> = 0.632 ± 0.073 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 2.062 ± 0.405 mg/mL
(24)	<i>Neolitsea coccinea</i> B.C.	stabljike	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 32.2 ± 0.8 µg/mL	IC <sub>50</sub> (kvercetin) = 5.1 ± 0.1 µg/mL
(24)	<i>Neolitsea coccinea</i> B.C.	listovi	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 70.9 ± 1.1 µg/mL	IC <sub>50</sub> (kvercetin) = 5.1 ± 0.1 µg/mL
(25)	<i>Citrus medica</i> var. <i>sarcodactylis</i> (Siebold ex Hoola van Nooten) Swingle	kora zrelog ploda	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 412.2 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 433.8 µg/mL
(25)	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	kora zrelog ploda	<i>S. cerevisiae</i>	-	IC <sub>50</sub> = 433.8 µg/mL
(25)	<i>Citrus grandis</i> L.	kora zrelog ploda	<i>S. cerevisiae</i>	-	IC <sub>50</sub> = 433.8 µg/mL
(25)	<i>Citrus sinensis</i> L.	kora zrelog ploda	<i>S. cerevisiae</i>	-	IC <sub>50</sub> = 433.8 µg/mL
(25)	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	kora zrelog ploda	<i>S. cerevisiae</i>	-	IC <sub>50</sub> = 433.8 µg/mL
(25)	<i>Citrus microcarpa</i> Bunge	kora zrelog ploda	<i>S. cerevisiae</i>	-	IC <sub>50</sub> = 433.8 µg/mL
(26)	<i>Ajuga chamaecistus</i> subsp. <i>scoparia</i> (Boiss.) Rech.f.	nadzemni dijelovi	-	4.34 ± 0.01 mmol ACE/g uzorka	-
(27)	<i>Aframomum melegueta</i> K. Schum.	sjemenke	crijevna $\alpha$ -glukozidaza štakora	IC <sub>50</sub> = 91.83 µL/mL	IC <sub>50</sub> = 18.63 µg/mL
(27)	<i>Aframomum danielli</i> K. Schum	sjemenke	crijevna $\alpha$ -glukozidaza štakora	IC <sub>50</sub> = 114.65 µL/mL	IC <sub>50</sub> = 18.63 µg/mL

Ref.	Biljka	Dio biljke/razvojna faza	Izvor enzima	Inhibicijska aktivnost	Pozitivna kontrola (akarboza)
(28)	<i>Hymenocrater bituminosus</i> Fisch.	nadzemni dijelovi	-	40.17 ± 1.40 mmol ACE/g uzorka	-
(29)	<i>Leucas inflata</i> Benth.	svježi listovi i zelene grane	-	IC <sub>50</sub> = 159.66 µL	IC <sub>50</sub> = 12.87 µL
(29)	<i>Marrubium vulgare</i> L.	svježi listovi i zelene grane	-	IC <sub>50</sub> = 35.47 µL	IC <sub>50</sub> = 12.87 µL
(29)	<i>Salvia schimperii</i> Benth.	svježi listovi i zelene grane	-	IC <sub>50</sub> = 14.26 µL	IC <sub>50</sub> = 12.87 µL
(29)	<i>Origanum majorana</i> L.	svježi listovi i zelene grane	-	-	IC <sub>50</sub> = 12.87 µL
(30)	<i>Rhaponticum acaule</i> (L.) DC.	cvjetovi	<i>A. niger</i>	IC <sub>50</sub> = 6.7 ± 0.10 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 280 ± 10.01 µg/mL
(31)	<i>Litsea coreana</i> Levl. var. <i>lanuginosa</i>	listovi	-	IC <sub>50</sub> = 2.64 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 5.17 mg/mL
(31)	<i>Litsea coreana</i> Levl. var. <i>lanuginosa</i>	listovi	-	IC <sub>50</sub> = 11.30 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 5.17 mg/mL
(31)	<i>Litsea coreana</i> Levl. var. <i>lanuginosa</i>	listovi	-	IC <sub>50</sub> = 18.35 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 5.17 mg/mL
(31)	<i>Litsea coreana</i> Levl. var. <i>lanuginosa</i>	listovi	-	IC <sub>50</sub> = 3.88 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 5.17 mg/mL
(31)	<i>Litsea coreana</i> Levl. var. <i>lanuginosa</i>	listovi	-	IC <sub>50</sub> = 8.07 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 5.17 mg/mL
(31)	<i>Litsea coreana</i> Levl. var. <i>lanuginosa</i>	listovi	-	IC <sub>50</sub> = 1.71 mg/mL	IC <sub>50</sub> = 5.17 mg/mL
(17)	<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corrêa	listovi	-	39.08 mmol ACE/g uzorka	-
(32)	<i>Centaurium erythrea</i> Rafn	vegetativna faza	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 56.77 ± 1.02 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 199.53 ± 2.45 µg/mL
(32)	<i>Centaurium erythrea</i> Rafn	faza cvjetanja	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 87.18 ± 0.422 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 199.53 ± 2.45 µg/mL
(32)	<i>Centaurium erythrea</i> Rafn	faza poslije cvjetanja	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 71.83 ± 0.72 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 199.53 ± 2.45 µg/mL
(33)	<i>Satureja thymbra</i> L.	nadzemni dijelovi	-	IC <sub>50</sub> = 1.03 ± 0.02 mg/L	IC <sub>50</sub> = 0.25 ± 0.01 mg/L
(33)	<i>Thymbra spicata</i> var. <i>spicata</i>	nadzemni dijelovi	-	IC <sub>50</sub> = 1.02 ± 0.01 mg/L	IC <sub>50</sub> = 0.25 ± 0.01 mg/L
(34)	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	svježi listovi	-	IC <sub>50</sub> = 9.64 ± 2.44 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 12.04 ± 3.17 µg/mL
(35)	<i>Eruca vesicaria</i> subsp. <i>longirostris</i> (Uechtr.) Jahand. & Maire	korijen	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 0.81 ± 0.02 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 280 ± 10 µg/mL

Ref.	Biljka	Dio biljke/razvojna faza	Izvor enzima	Inhibicijska aktivnost	Pozitivna kontrola (akarboza)
(35)	<i>Eruca vesicaria</i> subsp. <i>longirostris</i> (Uechtr.) Jahand. & Maire	stabljike	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 0.87 ± 0.02 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 280 ± 10 µg/mL
(35)	<i>Eruca vesicaria</i> subsp. <i>longirostris</i> (Uechtr.) Jahand. & Maire	listovi	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 100 ± 3 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 280 ± 10 µg/mL
(35)	<i>Eruca vesicaria</i> subsp. <i>longirostris</i> (Uechtr.) Jahand. & Maire	plodovi	<i>S. cerevisiae</i>	IC <sub>50</sub> = 1.12 ± 0.05 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 280 ± 10 µg/mL
(36)	<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (L.) Spreng.	sušeni cvat	-	-	-
(36)	<i>Cymbopogon nervatus</i> (Hochst.) Chiov.	sušeni cvat	-	-	-

**Tablica 19.** Prikaz rezultata inhibicijske aktivnosti izoliranih spojeva na enzim  $\alpha$ -glukozidazu

Ref.	Spoj	Izvor enzima	Inhibicijska aktivnost	Pozitivna kontrola
(18)	<i>ar</i> -turmeron	<i>B. stearothermophilus</i>	IC <sub>50</sub> = 0.28 ± 0.05 µg/mL	IC <sub>50</sub> = 18.12 ± 1.23 µg/mL
(21)	geraniol	<i>S. cerevisiae</i>	7.8% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	nerol	<i>S. cerevisiae</i>	7.0% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	citral	<i>S. cerevisiae</i>	5.8% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	( <i>R</i> )-(-)-linalol	<i>S. cerevisiae</i>	6.6% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	( <i>R</i> )-(+)-limonen	<i>S. cerevisiae</i>	21.3% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	( <i>S</i> )-(-)-perilil alkohol	<i>S. cerevisiae</i>	21.1% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	( <i>R</i> )-(+)- $\beta$ -citronelol	<i>S. cerevisiae</i>	4.2% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	( <i>S</i> )-(-)- $\beta$ -citronelol	<i>S. cerevisiae</i>	8.1% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	$\alpha$ -terpineol	<i>S. cerevisiae</i>	14.0% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	L-mentol	<i>S. cerevisiae</i>	-	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	$\gamma$ -terpinen	<i>S. cerevisiae</i>	-	49.6% (konc. 5 µM)
(21)	terpinolen	<i>S. cerevisiae</i>	4.5% (konc 10 mM)	49.6% (konc. 5 µM)



## **6. ZAKLJUČCI**

Cilj ovog rada je pregled literature provedenih istraživanja na temu eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja koji djeluju kao inhibitor na  $\alpha$ -glukozidazu, enzim čijom se inhibicijom može pospješiti terapija dijabetesa tipa II. Pregledom radova na ovu temu utvrđeno je da eterična ulja i njihovi izolirani sastojci mogu imati potentnu inhibicijsku aktivnost na  $\alpha$ -glukozidaze. Ovaj rad je bio usmjeren na hlapljive bioaktivne spojeve iz skupine terpenoida kao glavne sastavnice eteričnih ulja. Izolacija eteričnih ulja vršila se hidrodestilacijom, analiza sastava ulja se vršila pomoću GC-FID i/ili GC-MS tehnika. Inhibicijska aktivnost uzoraka se većinom testirala jednostavnim spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na mjerenju promjene apsorbancije otopine žuto obojenog *p*-nitrofenola, produkta reakcije između pNPG i  $\alpha$ -glukozidaze. Akarboza se koristila kao pozitivna kontrola, osim istraživanja koje su proveli Jani i suradnici gdje se kao pozitivna kontrola koristio kvercetin. Kao izvor enzima su se najčešće koristili kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, gljivica *Aspergillus niger*, a rjeđe gram-pozitivna bakterija *Bacillus stearotherophilus* ili  $\alpha$ -glukozidaze iz crijeva štakora.

Među istraživanim eteričnim uljima bogatim terpenoidima, kao najbolji inhibitor  $\alpha$ -glukozidaze se pokazalo se eterično ulje izolirano iz sušenih podanaka *Curcuma longa* L. s  $IC_{50}$  vrijednosti  $0.38 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$  u usporedbi s akarbozom ( $IC_{50} = 18.12 \pm 1.23 \mu\text{g/mL}$ ). Glavni sastojak ulja bio je *ar*-turmeron (58.0%) Uz njega je odličnu sposobnost inhibicije pokazalo eterično ulje iz cvjetova *Rhaponticum acaule* (L.) DC. s  $IC_{50}$  vrijednosti  $6.7 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$  u usporedbi s akarbozom ( $IC_{50} = 280 \pm 10.01 \mu\text{g/mL}$ ), čiji su glavni sastojci bili germakren D ( $49.2 \pm 1.1\%$ ), metil eugenol ( $8.3 \pm 0.28\%$ ), (*E*)- $\beta$ -ionon ( $6.2 \pm 0.18\%$ ),  $\beta$ -kariofilen ( $5.7 \pm 0.17\%$ ), (*E,E*)- $\alpha$ -farnezen ( $4.2 \pm 0.1\%$ ), biciklogermakren ( $4.1 \pm 0.12\%$ ) i (*Z*)- $\alpha$ -bisabolen ( $3.7 \pm 0.08\%$ ). Eterično ulje nadzemnih dijelova *Hymenocrater bituminosus* Fisch. se pokazalo kao snažni inhibitor ( $40.17 \pm 1.40 \text{ mmol ACE/g}$  uzorka), a kao glavni sastojci ulja su identificirani  $\alpha$ -pinen (18.2%),  $\beta$ -pinen (11.3%), *trans*-fitol (11.0%) i spatulenol (8.5%). Dobru inhibicijsku aktivnost je pokazalo i eterično ulje iz listova *Aegle marmelos* (L.) Corrêa ( $39.08 \text{ mmol ACE/g}$  uzorka) čiji su glavni sastojci bili limonen (74.9%),  $\beta$ -felandren (4.4%), *p*-cimen (4.2%), (*E*)- $\beta$ -ocimen (2.5%) i  $\beta$ -kariofilen (2.0%). Eterično ulje nadzemnih dijelova *Thymus spathulifolius* Hausskn. i Velen je također pokazalo značajnu aktivnost ( $IC_{50} = 1.08 \pm 0.05 \text{ mg/mL}$ ) u usporedbi s akarbozom ( $IC_{50} = 6.67 \text{ mg/mL}$ ). Glavni sastojci su bili timol (50.5%), borneol (16.7%) i karvakrol (7.7%). Također, eterično ulje iz *Centaurium erythrea* Rafn prikupljene u vegetativnoj fazi je pokazalo dobru inhibicijsku aktivnost s  $IC_{50} =$

$56.77 \pm 1.02 \mu\text{g/mL}$  u usporedbi s akarbozom ( $\text{IC}_{50} = 199.53 \pm 2.45 \mu\text{g/mL}$ ), a glavni sastojci su bili mentol (12.74%), karvakrol (11.60%) i trikozan (10.12%).

Od izoliranih hlapljivih spojeva, najbolju inhibicijsku aktivnost je imao *ar*-turmeron s  $\text{IC}_{50}$  vrijednosti  $0.28 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ , u usporedbi s akarbozom ( $\text{IC}_{50} = 18.12 \pm 1.23 \mu\text{g/mL}$ ). Dobru aktivnost su pokazali i (*R*)-(+)-limonen (21.3%), (*S*)-(-)-perilil alkohol (21.1%) i  $\alpha$ -terpineol (14.0%), u usporedbi s akarbozom (49.6%); gdje su izolirani spojevi testirani pri koncentraciji od 10 mM, dok je akarboza testirana pri koncentraciji 5  $\mu\text{M}$ .

Značajna inhibicijska aktivnost izdvojenih eteričnih ulja i izoliranih spojeva *in vitro* ukazuje na potrebu dodatnih istraživanja *in vivo*, kao i klinička i toksikološka ispitivanja kako bi se odredio njihov terapijski potencijal u liječenju DMT2. Međutim, prilikom usporedbe pregledanih rezultata potrebno je pripaziti na čimbenike zbog kojih se mogu međusobno razlikovati (izvor enzima, varijacije u korištenoj metodi). Stoga, ponovljivost rezultata je bitan čimbenik kako bi se mogla potvrditi njihova točnost. Također je potrebno utvrditi imaju li sastavnice eteričnih ulja međusobno sinergistički učinak na inhibiciju  $\alpha$ -glukozidaze ili sposobnost inhibicije primarno ovisi o udjelu glavnih sastojaka ulja. Time bi se moglo odrediti imaju li veći potencijal u terapiji DMT2 u obliku cjelovitog eteričnog ulja, ili kao izolirani spojevi iz istih.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Krasikov VV, Karelov DV, Firsov LM. alpha-Glucosidases. *Biochemistry Mosc* 2001 ožu;66(3):267-81. Dostupno na: <https://doi.org/10.1023/A:1010243611814>
2. Chiba S. Molecular mechanism in alpha-glucosidase and glucoamylase. *Biosci Biotechnol Biochem* 1997 kol;61(8):1233-9. Dostupno na: <https://doi.org/10.1271/bbb.61.1233>.
3. van der Ploeg AT, Reuser AJ. Pompe's disease. *Lancet* 2008 Oct 11;372(9646):1342-53. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61555-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61555-X)
4. PDB ID: 5NN3 Roig-Zamboni V, Cobucci-Ponzano B, Iacono R, Ferrara MC, Germany S, Bourne Y, i sur. Structure of human lysosomal acid  $\alpha$ -glucosidase-a guide for the treatment of Pompe disease. *Nat Commun.* 2017 lis;8(1):1111.
5. Munhoz ACM, Frode TS. Isolated Compounds from Natural Products with Potential Antidiabetic Activity - A Systematic Review. *Curr Diabetes Rev* 2018;14(1):36-106.
6. Reinehr T. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes* 2013 pros;4(6):270-81.
7. Naik SR, Kokil GR. Development and Discovery Avenues in Bioactive Natural Products for Glycemic Novel Therapeutics. U: *Studies in Natural Products Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2013. str. 431–66. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-62615-8.00012-6>
8. Hanefeld M, Schaper F. Acarbose: oral anti-diabetes drug with additional cardiovascular benefits. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008 velj;6(2):153-63. Dostupno na: <https://doi.org/10.1586/14779072.6.2.153>
9. Joshi SR, Standl E, Tong N, Shah P, Kalra S, Rathod R. Therapeutic potential of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in type 2 diabetes mellitus: an evidence-based review. *Expert Opin Pharmacother* 2015;16(13):1959-81. Dostupno na: <https://doi.org/10.1517/14656566.2015.1070827>
10. Yin Z, Zhang W, Feng F, Zhang Y, Kang W.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Sci Hum Wellness* 2014 ruj;3(3–4):136–74. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.11.003>
11. Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. U: *Plant Secondary Metabolites* [Internet]. Blackwell Publishing Ltd; str. 1–24. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1002/9780470988558.ch1>
12. Gunatilaka AL. Plant Natural Products. U: *Natural Products in Chemical Biology* [Internet]. John Wiley & Sons, Inc.; 2012. str. 1–29. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1002/9781118391815.ch1>
13. Rodríguez-Concepción M. Plant Isoprenoids: A General Overview. U: *Methods in Molecular Biology* [Internet]. Springer New York; 2014. str. 1–5. Dostupno na: [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-0606-2\\_1](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-0606-2_1)

14. Humphrey AJ, Beale MH. Terpenes. U: Plant Secondary Metabolites [Internet]. Blackwell Publishing Ltd; str. 47–101. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1002/9780470988558.ch3>
15. Qurrat-ul-Ain, Ashiq U, Jamal RA, Saleem M, Mahroof-Tahir M. Alpha-glucosidase and carbonic anhydrase inhibition studies of Pd(II)-hydrazide complexes. Arab J Chem. 2017 svi;10(4):488–99. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.02.024>
16. Tao Y, Zhang Y, Cheng Y, Wang Y. Rapid screening and identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR. Biomed Chromatogr 2013 velj;27(2):148-55. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/bmc.2761>
17. Fawzi Mahomoodally M, Mollica A, Stefanucci A, Zakariyyah Aumeeruddy M, Poorneeka R, Zengin G. Volatile components, pharmacological profile, and computational studies of essential oil from *Aegle marmelos* (Bael) leaves: A functional approach. Ind Crops Prod. 2018 pros;126:13–21. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.054>
18. Lekshmi PC, Arimboor R, Indulekha PS, Menon AN. Turmeric (*Curcuma longa* L.) volatile oil inhibits key enzymes linked to type 2 diabetes. Int J Food Sci Nutr. 2012 stu;63(7):832-4. Dostupno na: <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.607156>
19. Oboh G, Akinbola IA, Ademosun AO, Sanni DM, Odubanjo OV, Olasehinde TA, i sur. Essential oil from clove bud (*Eugenia aromatica* Kuntze) inhibit key enzymes relevant to the management of type-2 diabetes and some pro-oxidant induced lipid peroxidation in rats pancreas in vitro. J Oleo Sci. 2015;64(7):775-82. Dostupno na: <https://doi.org/10.5650/jos.ess14274>
20. Ceylan R, Zengin G, Uysal S, Ilhan V, Aktumsek A, Kandemir A, i sur. GC-MS analysis and in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of essential oil from aerial parts of endemic *Thymus spathulifolius* Hausskn. et Velen. J Enzyme Inhib Med Chem. 2016 pros;31(6):983-90. Dostupno na: <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1077822>
21. Tan XC, Chua KH, Ravishankar Ram M, Kuppusamy UR. Monoterpenes: Novel insights into their biological effects and roles on glucose uptake and lipid metabolism in 3T3-L1 adipocytes. Food Chem 2016 tra;196:242-50. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.042>
22. Majouli K, Besbes Hlila M, Hamdi A, Flamini G, Ben Jannet H, Kenani A. Antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibition by essential oils from *Hertia cheirifolia* (L.). Ind Crops Prod. 2016 tra;82:23–8. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.015>
23. Zengin G, Sarikurkcü C, Aktumsek A, Ceylan R. Antioxidant potential and inhibition of key enzymes linked to Alzheimer's diseases and diabetes mellitus by monoterpene-

rich essential oil from *Sideritis galatica* Bornm. endemic to Turkey. *Rec Nat Prod.* 2016 sij; 75:42-50

24. Jani NA, Sirat HM, Ahmad F, Ali NAM, Zainal MH. Chemical composition, antibacterial and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of the essential oils of *Neolitsea coccinea* (Lauraceae). *Nat Prod Commun* 2016 pros;11(12):1899-902.
25. Dang NH, Nhung PH, Mai Anh BT, Thu Thuy DT, Minh CV, Dat NT. Chemical composition and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of Vietnamese Citrus peels essential oils. *J Chem.* 2016;2016:1–5. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6787952>
26. Movahhedin N, Zengin G, Bahadori MB, Sarikurkcu C, Bahadori S, Dinparast L. *Ajuga chamaecistus* subsp. *scoparia* (Boiss.) Rech.f.: A new source of phytochemicals for antidiabetic, skin-care, and neuroprotective uses. *Ind Crops Prod.* 2016 pros;94:89–96. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.028>
27. Adefegha SA, Olasehinde TA, Oboh G. Essential oil composition, antioxidant, antidiabetic and antihypertensive properties of twospecies. *J Oleo Sci.* 2017;66(1):51–63. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.5650/jos.ess16029>
28. Bahadori S, Bahadori MB, Zengin G, Maggi F, Dinparast L, Aktumsek A. Chemical composition profile of the essential oil from *Hymenocrater bituminosus* and its health functionality. *Int J Food Prop.* 2017 srp;20(sup1):S972–80. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2017.1325901>
29. Ya'ni AA, Eldahshan OA, Hassan SA, Elwan ZA, Ibrahim HM. Antidiabetic effects of essential oils of some selected medicinal Lamiaceae plants from Yemen against  $\alpha$ -glucosidase enzyme. *J Phytochemistry Biochem.* 2018, 2:106
30. Mosbah H, Chahdoura H, Kammoun J, Hlila MB, Louati H, Hammami S, i sur. *Rhaponticum acaule* (L) DC essential oil: chemical composition, in vitro antioxidant and enzyme inhibition properties. *BMC Complement Altern Med.* 2018 ožu;18(1):79. DOI:10.1186/s12906-018-2145-5.
31. Qin Z, Feng K, Wang W, Wang W, Wang Y, Lu J, i sur. Comparative study on the essential oils of six Hawk tea (*Litsea coreana* Levl. var. *lanuginosa*) from China: Yields, chemical compositions and biological activities. *Ind Crops Prod.* 2018 stu;124:126–35. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.035>
32. Bouyahya A, Belmehdi O, El Jemli M, Marmouzi I, Bourais I, Abrini J, i ostali. Chemical variability of *Centaurium erythraea* essential oils at three developmental stages and investigation of their in vitro antioxidant, antidiabetic, dermatoprotective and antibacterial activities. *Ind Crops Prod.* 2019 lip;132:111–7. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.042>
33. Kirkan B, Sarikurkcu C, Amarowicz R. Composition, and antioxidant and enzyme-inhibition activities, of essential oils from *Satureja thymbra* and *Thymbra spicata* var. *spicata*. *Flavour Fragr J.* 2019 kol;34(6):436–42. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.3522>

34. Ahamad J, Uthirapathy S, Mohammed Ameen MS, Anwer ET. Essential oil composition and antidiabetic, anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. leaves from Erbil (Iraq). *J Essent Oil-Bear Plants*. 2019 stu;22(6):1544–53. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2019.1689179>
35. Hichri F, Omri A, Hossan ASM, Ben Jannet H. Alpha-glucosidase and amylase inhibitory effects of *Eruca vesicaria* subsp. *longirostris* essential oils: synthesis of new 1,2,4-triazole-thiol derivatives and 1,3,4-thiadiazole with potential inhibitory activity. *Pharm Biol* 2019 pros;57(1):564-70. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1642363>
36. Yagi S, Mohammed ABA, Tzanova T, Schohn H, Abdelgadir H, Stefanucci A, et al. Chemical profile, antiproliferative, antioxidant, and enzyme inhibition activities and docking studies of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. and *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. from Sudan. *J Food Biochem* 2020 velj;44(2):e13107. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13107>.



## **8. SAŽETAK**

Cilj ovog rada je pregledati literaturu provedenih istraživanja na temu eteričnih ulja i izoliranih hlapljivih spojeva u sastavu eteričnih ulja koji djeluju kao inhibitor na enzim  $\alpha$ -glukozidazu, čije djelovanje može imati učinak kod pacijenata koji boluju od dijabetesa tipa II. Predmet istraživanja su bila terpenima bogata eterična ulja, kao i izolirani terpenoidni spojevi. S ovim ciljem su pregledane dostupne knjige i internetske baze podataka (*Web of Science*, *PubMed*, *PubChem*, *PMC*, *Science Direct* i *RCSB Protein Data Bank*).  $\alpha$ -Glukozidaze imaju ulogu hidroliziranja kompleksnih ugljikohidrata u tankom crijevu čime se oslobađa  $\alpha$ -glukoza koja se zatim apsorbira u krv. Sintetski inhibitori enzima se koriste kao lijekovi, ali zbog učestalih nuspojava pri dugotrajnom korištenju, znanstvenici kontinuirano traže nove inhibitore, izolirane iz prirodnih izvora poput biljaka. Rezultati su pokazali da eterična ulja biljaka *Curcuma longa* L., *Rhaponticum acaule* (L.) DC., *Hymenocrater bituminosus* Fisch., *Aegle marmelos* (L.) Corrêa, *Thymus spathulifolius* Hausskn. i Velen i *Centaurium erythrea* Rafn imaju značajnu inhibicijsku aktivnost na enzim  $\alpha$ -glukozidazu. Jako malo čistih spojeva je testirano na inhibiciju ovog enzima. Od onih testiranih, najbolju inhibicijsku aktivnost su pokazali *ar*-turmeron, (*R*)-(+)-limonen, (*S*)-(-)-perilil alkohol i  $\alpha$ -terpineol.

## **9. SUMMARY**

The aim of this paper is to review studies conducted on the topic of essential oils and isolated volatile compounds in the composition of essential oils which act as inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase enzymes, whose action may have an effect in patients with type II diabetes mellitus. The subject of the study were terpene rich essential oils as well as isolated terpenoid compounds. To this end, available books and online databases (*Web of Science, PubMed, PubChem, PMC, Science Direct and RCSB Protein Data Bank*) have been reviewed.  $\alpha$ -Glucosidases have the role of hydrolyzing complex carbohydrates in the small intestine, thereby releasing  $\alpha$ -glucose which is then absorbed into the blood. Synthetic enzyme inhibitors are used as drugs, but because of the frequent side effects of long-term use, scientists are looking for new inhibitors, isolated from natural sources, such as plants. The results showed that the essential oils of the plants *Curcuma longa* L., *Rhaponticum acaule* (L.) DC., *Hymenocrater bituminosus* Fisch., *Aegle marmelos* (L.) Corrêa, *Thymus spathulifolius* Hausskn. and Velen and *Centaurium erythrea* Rafn had significant inhibitory activity on the enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Very few isolated compounds have been tested for inhibition of this enzyme. Of those tested, *ar*-turmerone, (*R*)-(+)-limonene, (*S*)-(-)-perillyl alcohol and  $\alpha$ -terpineol showed the best inhibitory activity.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**OSOBNI PODATCI:**

**Ime i prezime:** Tihomir Mračić

**Datum rođenja:** 10. svibnja 1994.

**Mjesto rođenja:** Zadar

**Državljanstvo:** hrvatsko

**Adresa stanovanja:** Stjepana Radića 23, Zadar

**E-mail:** tihomir.mracic@gmail.com

**OBRAZOVANJE:**

2013. – 2020. Medicinski fakultet i Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija

2009. – 2013. Prirodoslovna-matematička gimnazija Franje Petrića, Zadar

2001. – 2009. Osnovna škola Šime Budinića, Zadar

**STRUČNO OSPOSOBLJAVANJE:**

25. veljače – 30. kolovoz 2019.

Ljekarne Splitsko-dalmatinske županije; ljekarna „Grad“