

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JERNEJA MIKLAVEC  
MAGISTRSKA NALOGA  
ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2018

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JERNEJA MIKLAVEC

**ANALIZA ETERIČNIH OLJ IZBRANIH AVTOHTONIH VRST IZ ARIZONE, ZDA**

**ANALYSIS OF ESSENTIAL OILS OF AUTOCHTHONOUS PLANT SPECIES  
FROM ARIZONA, USA**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2018

Magistrsko naložko sem opravljala na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani na Katedri za farmacevtsko biologijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Nine Kočevare Glavač, mag. farm., in somentorstvom izr. prof. dr. Damjana Janeša, mag. farm.

### **Zahvala**

Iskreno se zahvaljujem mentorici izr. prof. dr. Nini Kočevare Glavač, mag. farm., za vso pomoč in nasvete pri pisanju magistrske naloge in somentorju izr. prof. dr. Damjanu Janešu, mag. farm., za pomoč pri izvajanju eksperimentalnega dela.

Zahvaljujem se tudi svoji družini, ki mi je tekom študija vedno stala ob strani in me podpirala.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem magistrsko naložko samostojno izdelala pod mentorstvom izr. prof. dr. Nine Kočevare Glavač, mag. farm., in somentorstvom izr. prof. dr. Damjana Janeša, mag. farm.

## KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
1.1	Eterična olja .....	1
1.1.1	Lastnosti, pridobivanje in uporaba eteričnih olj .....	1
1.2	Plinska kromatografija – masna spektrometrija (GC-MS) .....	2
1.2.1	Plinska kromatografija.....	2
1.2.2	Masna spektrometrija .....	3
1.3	Proučevane rastlinske vrste.....	3
1.3.1	Koloradska jelka ( <i>Abies concolor</i> (Gordon) Lindley ex Hildebrand) .....	3
1.3.2	Skalna jelka ( <i>Abies lasiocarpa</i> var. <i>arizonica</i> (Merriam) Lemmon, <i>Abies lasiocarpa</i> (Hooker) Nuttall var. <i>lasiocarpa</i> ).....	3
1.3.3	Praprotnolistna ambrozija ( <i>Ambrosia confertiflora</i> DC).....	4
1.3.4	Lawsonova pacipresa ( <i>Chamaecyparis lawsoniana</i> (A. Murray) Parl.) .....	4
1.3.5	<i>Croton linearis</i> Jacq. .....	4
1.3.6	Prava cipresa ( <i>Cupressus sempervirens</i> L.).....	4
1.3.7	<i>Ericameria paniculata</i> (A.Gray) Rydb.....	4
1.3.8	<i>Hyptis emoryi</i> Torr. .....	5
1.3.9	Srebrna smreka ( <i>Picea pungens</i> Engelm.).....	5
1.3.10	Pimentovec ( <i>Pimenta dioica</i> (L.) Merr.) .....	5
1.3.11	Koloradski pinjon ( <i>Pinus edulis</i> Engelm.) .....	5
1.3.12	Rumeni bor ( <i>Pinus ponderosa</i> Douglas ex C.Lawson) .....	6
1.3.13	Mehiški beli bor ( <i>Pinus strobus</i> Engelm.) .....	6
1.3.14	Duglazija ( <i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco).....	6
1.3.15	Navadni rožmarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	6
1.3.16	Muškatna kadulja ( <i>Salvia sclarea</i> L.).....	7
1.3.17	Vetiver ( <i>Vetiveria zizanioides</i> (L.) Nash).....	7
2	NAMEN DELA.....	8
3	MATERIALI IN METODE .....	9
3.1	Materiali.....	9
3.1.1	Vzorci in kemikalije .....	9
3.1.2	Aparatura in laboratorijska oprema .....	10
3.2	Metode .....	10
4	EKSPERIMENTALNI DEL .....	11

4.1	Priprava vzorcev .....	11
4.2	Potek analize .....	11
5	REZULTATI IN RAZPRAVA .....	12
5.1	Izbrane vrste <i>Abies</i> sp. ....	12
5.2	Praprotnolistna ambrozija ( <i>Ambrosia confertiflora</i> ).....	16
5.3	Lawsonova pacipresa ( <i>Chamaecyparis lawsoniana</i> ).....	17
5.4	<i>Croton linearis</i> .....	19
5.5	Prava cipresa ( <i>Cupressus sempervirens</i> ) .....	21
5.6	<i>Ericameria paniculata</i> .....	23
5.7	<i>Hyptis emoryi</i> .....	24
5.8	Srebrna smreka ( <i>Picea pungens</i> ) .....	26
5.9	Pimentovec ( <i>Pimenta dioica</i> ).....	27
5.10	Izbrane vrste <i>Pinus</i> sp. ....	29
5.11	Duglazija ( <i>Pseudotsuga menziesii</i> ) .....	32
5.12	Navadni rožmarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) .....	33
5.13	Muškatna kadulja ( <i>Salvia scarlea</i> ).....	35
5.14	Vetiver ( <i>Vetiveria zizanioides</i> ).....	38
5.15	Povzetek dokazanih učinkov proučevanih eteričnih olj in spojin.....	39
6	SKLEPI.....	44
7	LITERATURA .....	46
8	PRILOGE .....	53

## KAZALO SLIK

Slika 1: Pridobivanje eteričnega olja z metodo parne destilacije.....	1
Slika 2: Shema aparature GC-MS .....	2

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Seznam vzorcev eteričnih olj.....	9
Preglednica 2: Dokazana delovanja proučevanih eteričnih olj in po vsebnostih prevladujočih spojin. .....	41

## KAZALO PRILOG

Priloga I: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcih eteričnih olj rastlinskih vrst iz rodu <i>Abies</i> .....	53
Priloga II: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja praprotnolistne ambrozije ( <i>Ambrosia confertiflora</i> ).....	55
Priloga III: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja Lawsonove paciprese ( <i>Chamaecyparis lawsoniana</i> ).....	56
Priloga IV: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja <i>Croton linearis</i> .....	57
Priloga V: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja prave ciprese ( <i>Cupressus sempervirens</i> ).....	57
Priloga VI: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja <i>Ericameria paniculata</i> .....	58
Priloga VII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja <i>Hyptis emoryi</i> .....	59
Priloga VIII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja srebrne smreke ( <i>Picea pungens</i> ).....	60
Priloga IX: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja pimentovca ( <i>Pimenta dioica</i> ).....	60
Priloga X: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcih eteričnih olj rastlinskih vrst iz rodu <i>Pinus</i> .....	61
Priloga XI: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja duglazije ( <i>Pseudotsuga menziesii</i> ).....	63
Priloga XII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja navadnega rožmarina ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ).....	63
Priloga XIII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja muškatne kadulje ( <i>Salvia scarlea</i> ).....	64
Priloga XIV: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja vetiverja ( <i>Vetiveria zizanioides</i> ).....	65

## I. POVZETEK

Eterična olja so kompleksne zmesi hlapnih spojin, pridobljena iz rastlin. Vsaka rastlina ima svoje edinstveno eterično olje, katerega sestava je odvisna od njene vrste, razmer rasti, dela rastline in časa nabiranja rastlinskega materiala ter postopka pridobivanja. Njihova uporaba sega v daljno preteklost, kjer so že stare civilizacije uporabljale dišeče rastline za zdravljenje telesnih in duševnih težav. Kljub temu, da so natančni mehanizmi delovanja eteričnih olj še vedno nepoznani, je danes aromaterapija zelo priljubljena in razširjena.

V magistrskem delu smo z metodo plinske kromatografije, sklopljene z masno spektometrijo (GC-MS), analizirali vzorce eteričnih olj izbranih avtohtonih rastlinskih vrst iz Arizone, ZDA. Ugotavliali smo podobnosti in razlike v sestavi vzorcev rastlinskih vrst iz istega rodu in v vzorcih iste rastlinske vrste, pridobljenih iz različnih rastlinskih delov. S pregledom znanstvenih podatkovnih baz smo nato proučili delovanja posameznih eteričnih olj in njihovih komponent ter iskali povezave v delovanju.

Ugotovili smo, da je sestava analiziranih eteričnih olj zelo kompleksna, kar lahko podkrepimo s številčnostjo sestave. Vzorci so vsebovali tudi več kot 70 identificiranih spojin, poleg tega, pa je pri večini vzorcev (manjši) delež spojin ostal neidentificiran. Proučevana eterična olja večinoma vsebujejo štiri do pet spojin, ki so prisotna v deležih, večjih od 10 %, druge spojine pa se pojavljajo v manjših deležih, številne tudi v vsebnosti manj kot 0,5 % in so zelo raznolike.

Večina proučevanih eteričnih olj in njihovih komponent je do sedaj slabo raziskanih. Največ raziskav in dokazanih delovanj smo našli za eterično olje navadnega rožmarina. Njegovo delovanje je protitumorno, protimikrobeno, antihiperglikemično, antioksidativno, hepatoprotективno, antihiperoleterolemično in antihipotenzivno.

Zaradi slabo raziskanih eteričnih olj in njihovih komponent pri številnih vzorcih nismo našli nobene povezave med delovanjem posameznih spojin in delovanjem eteričnega olja. Delovanje posameznih spojin se lahko od delovanja eteričnega olja celo razlikuje, zato le na podlagi vsebnosti spojin v vzorcu ne moremo sklepati na delovanje celotnega eteričnega olja. Za boljše poznavanje delovanja eteričnih olj in njihovo terapevtsko uporabo so v prihodnosti nujne še nadaljnje raziskave.

## II. ABSTRACT

Essential oils are complex mixtures of volatile compounds produced in plants. Every plant has a unique essential oil that depends upon its variety, conditions of growth, part of a plant, collecting time and method of extraction. Their use is reaching to distant past, where old civilizations were using odorous plants for the treatment. Although the exact mechanisms of the effects of essential oils are unknown, aromatherapy is very popular and widespread today.

In the master thesis, we used gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) to quantitatively analyse the composition of essential oils of autochthonous plant species from Arizona, USA. We focused on similarities and differences in composition of samples from plant species of the same genus and of samples from the same plant species obtained from different plant parts. In scientific databases, we studied data on their function and mechanisms of action of individual compounds of essential oils.

We found out that the composition of the analysed essential oils is very complex, which can be supported by the large number of identified compounds. Most samples also contained compounds, which remained unidentified. Essential oils mostly contain four to five main compounds, which are present in the content larger than 10%. The remaining compounds are present in lower percentages, many in the content of less than 0,5%, and are very diverse.

Most of the studied essential oils and their compounds are poorly researched. The most extensive research was done using rosemary essential oil. It was proven to act antitumor, antimicrobial, antihyperglycemic, antioxidant, hepatoprotective, antihypercholesterolemic and antihypotensive.

Due to poorly researched data on the function of essential oils and their compounds, in many samples we found no connection between the biologic activities of individual compounds and essential oils. Furthermore, the biologic activity of individual compounds can even differ from the biologic activity of an essential oil. Therefore, we can not conclude the functioning of an essential oil solely based on the activity of individual compounds. In future, further research will be needed.

### III. SEZNAM OKRAJŠAV

GC	plinska kromatografija
MS	masna spektrometrija
GC-MS	plinska kromatografija, sklopljena z masno spektrometrijo
MIC	minimalna inhibitorna koncentracija
MRSA	na meticilin rezistentni <i>Staphylococcus aureus</i>
IL	interlevkin
DMSO	dimetil-sulfoksid
NMR	jedrska magnetna resonanca
LPS	lipopolisaharid
TNF- $\alpha$	dejavnik tumorske nekroze alfa
NO	dušikov oksid
SOD	superoksid-dismutaza
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
PGE2	prostaglandin E2
t-BHP	terc-butil-hidroperoksid
DNK	deoksiribonukleinska kislina
$\alpha$ -MSH	alfa melanocite stimulirajoči hormon

# 1 UVOD

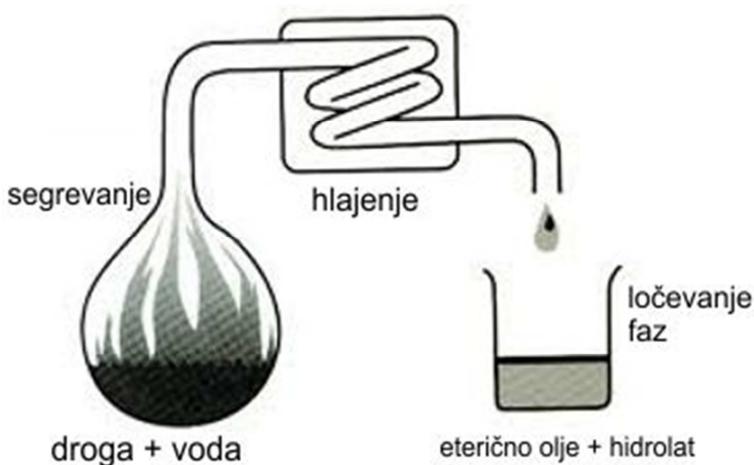
## 1.1 Eterična olja

Izraz »eteričen« pomeni hlapen, izhlapevajoč, nekaj, kar učinkuje zelo nežno, breztelesno. Staro ime za eterična olja je bilo esencialna olja, esenca je namreč izraz, ki pomeni vonj. V angleščini jih še danes imenujemo *essential oils*. Izraz »olje« pa izhaja iz vizualne podobnosti eteričnih olj s tekočimi trigliceridi. Eterična olja so sicer mastna na otip, vendar ime olja fitokemijsko ni pravilno, ker imajo drugačno kemijsko zgradbo (niso zmesi trigliceridov).

### 1.1.1 Lastnosti, pridobivanje in uporaba eteričnih olj

Eterična olja so zelo kompleksne zmesi hlapnih lipofilnih spojin iz skupin terpenov, terpenoidov in fenilpropanoidov. Imajo intenziven, za številne vrste specifičen vonj. Večinoma so brezbarvna ali rahlo rumenkasto obarvana, pri daljšem shranjevanju oziroma pod vplivom kisika, topote in svetlobe lahko pride do sprememb v sestavi, zato jih shranjujemo v temnih, dobro zaprtih stekleničkah<sup>(1)</sup>.

Hlapne spojine nastajajo v vseh rastlinskih organih, npr. v cvetu, listu, steblu, korenini, koreniki, plodu itd. Ista rastlinska vrsta lahko vsebuje hlapne spojine v več organih, pri tem pa je njihova sestava lahko drugačna. Eterična olja pridobivamo iz rastlin ali njihovih delov z destilacijo z vodno paro ali stiskanjem. Najbolj uporabljana je metoda destilacije z vodno paro, kjer kot produkt dobimo eterično olje, ki ga ločimo od aromatične vode – hidrolata (slika 1). Metoda stiskanja je sicer preprosta, vendar je primerna le za mehke rastlinske droge z veliko vsebnostjo eteričnega olja (npr. oplodja citrusov)<sup>(2)</sup>.



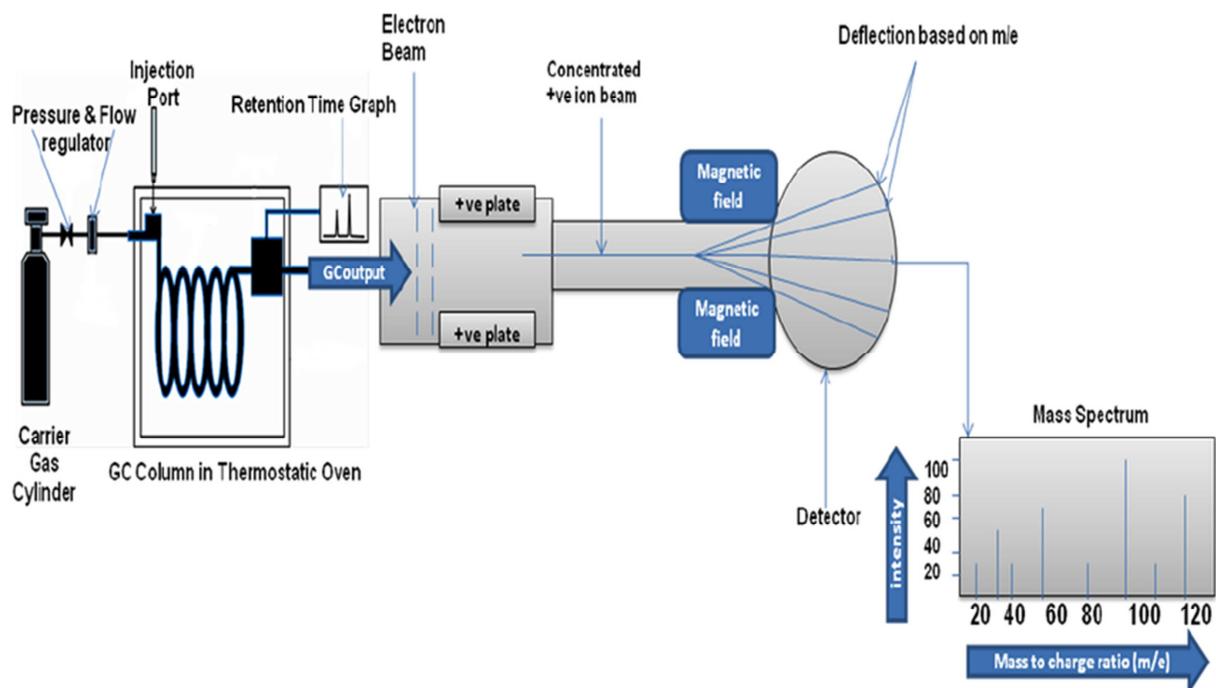
Slika 1: Pridobivanje eteričnega olja z metodo parne destilacije: pod vplivom segrevanja hlapne spojine iz rastlinske droge skupaj z vodno paro hlapijo. Sledi ohlajanje (kondenzacija), produkt je vodna (hidrolat) in oljna faza (eterično olje), ki ju ločimo.

Pri sobni temperaturi so eterična olja navadno tekoča, imajo manjšo gostoto kot voda, topna so v etanolu in lipofilnih topilih, v vodi pa je njihova topnost slaba<sup>(3)</sup>. Ker gre za kompleksne zmesi spojin, za katere je značilno tudi sinergistično delovanje, se farmakodinamika eteričnega olja lahko razlikuje od farmakodinamike rastlinske droge, iz katere ga pridobimo. Uporabljamo jih v farmacevtske namene, v prehrambni in kozmetični industriji ter parfumeriji, zlasti pa je v porastu njihova uporaba v aromaterapiji<sup>(4)</sup>.

Vsebnost hlapnih spojin oziroma eteričnih olj v rastlinah je navadno zelo majhna (najpogosteje manj kot 1 %). Kakovost in sestavo najpogosteje ugotavljamo s plinsko kromatografijo in masno spektrometrijo<sup>(4)</sup>.

## 1.2 Plinska kromatografija – masna spektrometrija (GC-MS)

Plinska kromatografija z masno spektrometrijo oziroma GC-MS (*GC – gas chromatography, MS – mass spectrometry*; slika 2) je sklopljena analizna metoda, pri kateri izkoriščamo prednosti plinske kromatografije in masne spektrometrije. S plinsko kromatografijo skušamo doseči čim boljše ločevanje spojin v vzorcu, z masno spektrometrijo pa te kvalitativno in kvantitativno ovrednotimo<sup>(5)</sup>. Je ena ključnih analiznih metod za proučevanje sestave eteričnih olj.



Slika 2: Shema aparature GC-MS

### 1.2.1 Plinska kromatografija

Je metoda ločevanja spojin, predpogoj za njeno uporabo je, da so spojine hlapne in termostabilne. Temperatura ločevanja je navadno zelo visoka, tudi do 250 °C, zato je pomembno, da spojine pri tolikšni temperaturi ne razpadajo. Plinski kromatograf je sestavljen iz vira mobilne faze (nosilni plin), injektorja za vnos vzorca, kolone in detektorja. Ločevanje poteka na osnovi porazdeljevanja snovi med mobilno in stacionarno

fazo. Močneje kot spojine interagirajo s stacionarno fazo, več časa potrebujejo za prehod skozi kolono. Po prehodu kolone, posamezne ločene spojine vodimo v masni spektrometer<sup>5</sup>.

### 1.2.2 Masna spektrometrija

Uporabimo jo za kvalitativno in kvantitativno identifikacijo s plinsko kromatografijo ločenih spojin. Nujna je njihova ionizacija, saj metoda temelji na merjenju razmerja med maso in nabojem ionov v vakuumu. Masni spektrometer je sestavljen iz ionskega izvora, analizatorja in detektorja. Po opravljeni analizi dobimo masni spekter (vsaka spojina (molekula) ima svoj značilni vrh), ki ga primerjamo z referenčnim masnim spektrom iz knjižnice podatkov. V analizi eteričnih olj je primarni cilj identificirati čim več vrhov in ugotoviti čim večji delež sestave eteričnega olja<sup>5</sup>.

## 1.3 Proučevane rastlinske vrste

Proučevali smo rastlinske vrste, ki so v Sloveniji malo poznane. Gre za izbrane avtohtone rastlinske vrste iz Arizone v ZDA. V nadaljevanju jih bomo na kratko predstavili.

### 1.3.1 Koloradska jelka (*Abies concolor* (Gordon) Lindley ex Hildebrand)

To zimzeleno iglasto drevo v višino doseže 25 do 60 m in raste več kot 300 let. Domorodno je v gorah zahodne Severne Amerike, kjer se naravno pojavlja na višinah od 900 do 3400 m. Iglice so modrosive barve, sploščene, dolge 2,5 do 6 cm in široke približno 2 mm. Izraz *concolor* v latinščini pomeni »vse ene barve«, kar se nanaša na dejstvo, da sta obe zgornji in spodnji iglični površini enake barve. Storži so sprva zeleni, v zrelosti rjavi ter sedeči na vejah in obrnjeni navzgor<sup>6</sup>. Koloradska jelka je priljubljena zlasti v industriji božičnih dreves in kot gradbeni material za oblikovanje. V ta namena jih komercialno gojijo in sekajo<sup>7</sup>. V tradicionalni medicini jo uporablajo dermalno kot antiseptik, v kopelih za lajšanje revmatizma in pri zdravljenju pljučnih težav<sup>8</sup>.

### 1.3.2 Skalna jelka (*Abies lasiocarpa* var. *arizonica* (Merriam) Lemmon, *Abies lasiocarpa* (Hooker) Nuttall var. *lasiocarpa*)

Na osnovi morfoloških razlik ločimo dve varieteti skalne jelke: *arizonica* in *lasiocarpa*, domorodni v Kanadi in ZDA. Pojavljata se na visokih nadmorskih višinah, *lasiocarpa* navadno na 1100 do 2300 m, *arizonica* na 2400 do 3400 m. Pogosto uspevajo na drevesni meji. Drevesa so zimzeleni iglavci, srednje rasti (18 do 30 m, najvišji do 40 m). Njihova sekundarna rast je zelo počasna: 150 do 200 let stara drevesa v premeru dosežejo le 25 do 50 cm. Iglice so dolge do 3 cm in sploščene, srebrnosive barve, spiralno razporejene in privihane navzgor. S puljenjem iglic lahko ločimo med varietetami: pri *lasiocarpa* vidimo rdeč periderm. Storži so pokončni, 6 do 12 cm veliki, sprva temne vijoličaste barve, ko dozorijo so rjavi<sup>7</sup>.

### **1.3.3 Praprotnolistna ambrozija (*Ambrosia confertiflora* DC)**

Rastlina je trajna zel, visoka 20 do 80 cm. Uspeva na pobočjih, ob cestah, včasih kot plevel na poljih, na nadmorski višini 305 do 1981 m. Stebla so pokončna in spiralasto olistana s pecljatimi, 6 do 17 cm dolgimi, dva- do trikrat deljenimi, ozko ovalnimi, bledo zelenimi listi. Cvetovi so rumena klasasta socvetja, ki cvetijo od marca do oktobra. V Grčiji je veljala za hrano bogov. Izraz *confertiflora* se nanaša na cvetove, pomeni »prenatrpan« (⁶).

### **1.3.4 Lawsonova pacipresa (*Chamaecyparis lawsoniana* (A. Murray) Parl.)**

Uvrščamo jo v družino cipresovk (Cupressaceae) – vednozelenih iglavcev z luskastimi oziroma igličastimi listi, rod pacipresa. Lawsonova pacipresa izhaja iz zahodnega dela ZDA. Uspeva na nadmorski višini 0 do 1500 m, v višino zraste do 50 m, v širino do 3 m. Cvetovi so na isti rastlini ločeni: moški in ženski. Moška socvetja (2 do 3 mm) so storžasta in podolgovata, rožnate barve, ženska prav tako storžasta, okrogla, modrozelene barve. Plodovi so okrogli, oleseneli, rjavi storži (⁷).

Cvetni prah različnih rodov cipresovk je med seboj morfološko podoben in ima velik alergeni potencial, zlasti na področjih, kjer so te rastline naravno razširjene oziroma pogosto sajene. V Sloveniji je Lawsonova pacipresa eno izmed najpogosteje sajenih okrasnih dreves (⁹).

### **1.3.5 *Croton linearis* Jacq.**

Rastlina je trajnica, zimzeleni grm višine do 2 m. Raste na obalnih območjih, pogosto je enake širine kot višine. Listi so vednozeleni, dolgi do 8 cm, ozki, podolgovati, usnjati, na zgornji strani temnozelene barve, na spodnji strani srebrni, nameščeni spiralno. Cvetovi so bele barve (¹⁰).

V Sloveniji za to rastlino nimamo botaničnega imena.

### **1.3.6 Prava cipresa (*Cupressus sempervirens* L.)**

Že izraz *sempervirens* pove, da gre za »vednozeleno« drevo, ki ga uvrščamo v družino cipresovk. Prihaja iz Severne Amerike, uspeva na najrazličnejših podlagah, od morske obale do 700 do 800 m nadmorske višine. Zraste do 30 m visoko in doseže do 1000 let starosti. Listi so luskasti, temnozeleni, ovalni, majhni in nasprotni. Cvetovi so dveh vrst: moški in ženski. Moški po dozorenju sprostijo rumeni pelod, ženski se razvijejo v približno 3 cm velike storže, ki so sprva modrozeleni, kasneje pa olesenijo in postanejo rjavi (⁷). Simbolno cipreso povezujemo z obupom, žalovanjem in smrtjo, zato je zasadjena skoraj na vsakem pokopališču (¹¹).

### **1.3.7 *Ericameria paniculata* (A. Gray) Rydb.**

Botanično uvrščamo ta večletni puščavski grm v družino nebinovk. Domoroden je v kamnitih puščavskih predelih jugozahodnega dela ZDA, na nadmorski višini 400 do 1600 m. V višino zraste 50 do 200 cm, steba so pokončna, razvezjana in zelena, s starostjo pogosto postanejo smolasta in počrnela zaradi glivičnih okužb. Cveti pozno poleti ali

jeseni, v socvetjih z majhnimi, rumenimi cvetnimi koški (<sup>12</sup>). Rastlina ima v Ameriki številna domača imena, najpogosteje uporabljeni sta *desert rabbitbrush* in *Mojave rabbitbrush*, pri nas pa za to rastlino nimamo slovenskega botaničnega imena.

### 1.3.8 *Hyptis emoryi* Torr.

*Hyptis* je rod cvetočih rastlin iz družine usnatic (Lamiaceae). Široko je razširjen v tropskih predelih Severne in Južne Amerike. *Hyptis emoryi* je aromatični grmiček, ki lahko zraste v višino do 3 m. Listi so ovalne oblike, dlakavi, srebrnozelene barve, z narezanimi robovi, na steblu nameščeni nasprotno. Cvetovi so belo-vijoličaste barve, razporejeni vzdolž glavnega steba in stranskih vej. S svojo aromatičnostjo privabljajo čebele (<sup>6</sup>). V angleščini rastlino najpogosteje imenujemo *desert lavender*, v Sloveniji pa za to rastlino nimamo botaničnega imena.

### 1.3.9 Srebrna smreka (*Picea pungens* Engelm.)

Smreka (*Picea* sp.) je rod v družini borovk (Pinaceae). Srebrna smreka je vednozeleno iglasto drevo, domorodno v skalnatih gorovjih ZDA: njena naravna rastišča se raztezajo na nadmorskih višinah 1800 do 3000 m. Zelo pogosto jo gojijo kot okrasno drevo in v industriji božičnih dreves, zato jo najdemo na številnih krajih, ki presegajo njeno naravno območje. Na naravnih rastiščih zraste v višino do 50 m, listi so bodeče iglice, dolge do 3 cm, modrozelene do sivozelene barve. Storži so rjavi, viseči in dolgi 6 do 12 cm (<sup>6</sup>). V Koloradu in Utahu je srebrna smreka državni simbol (<sup>13</sup>).

### 1.3.10 Pimentovec (*Pimenta dioica* (L.) Merr.)

Pimentovec je do 10 metrov visoko zimzeleno tropsko drevo iz družine mirtovk (Myrtaceae). Uspeva v toplem in vlažnem tropskem ali subtropskem podnebju. Poseben je zaradi aromatičnih listov in plodov, ki jih kot začimbo uporabljam v kulinariki. Posušeni nezreli plodovi so po obliku in velikosti podobni plodovom pravega poprovca (*Piper nigrum*), lahko jih uporabljam cele ali zmlete. Po vonju in okusu je kot zmes nekaterih tropskih začimb: cimeta, muškatnega oreščka, črnega popra in klinčkov. Piment kot začimbo zato imenujemo tudi »*allspice*«, kar v prevodu pomeni »vsezačimba« (<sup>14</sup>).

### 1.3.11 Koloradski pinjon (*Pinus edulis* Engelm.)

Je majhno igličasto drevo, ki v višino zraste do 15 m, njegova rastišča so na gorskih pobočjih na nadmorski višini 1500 do 2100 m. Sodi v družino borovk (Pinaceae), rod borovcev (*Pinus* sp.). Njegovo latinsko ime je iz dveh besed: *pinus* je klasično latinsko ime za borovce, izraz *edulis* pa pomeni »užiten«. Domoroden je v ZDA, kjer so ga raziskali tudi v etnobotaniki: čaj iz iglic uporabljam kot ekspektorant in zdravilo pri tuberkulozi, prehlade so zdravili z inhaliranjem dima začganih iglic, uporabljali pa so ga tudi simbolno v raznih obredih. V ameriški zvezni državi Nova Mehika je koloradski pinjon državni simbol (<sup>6</sup>).

### **1.3.12 Rumeni bor (*Pinus ponderosa* Douglas ex C. Lawson)**

Rumeni bor je mogočen iglavec, ki v višino sega od 30 do 72 m. Že samo ime kaže na to, da gre za bor (*pinus*), izraz *ponderosa* pa pomeni »težek, masiven«. Domoroden je v Severni Ameriki, raste na odprtih, suhih gorskih pobočjih, na nadmorski višini 1500 do 2700 m. Ima značilno oranžnorjavno lubje, razslojeno v luskaste plošče. Iglice so temnozelene barve, 7 do 25 cm dolge, v skupkih po dva do pet. Je državni simbol Montane<sup>(6)</sup>.

### **1.3.13 Mehiški beli bor (*Pinus strobiformis* Engelm.)**

Mehiški beli bor sodi med srednje velike iglavce, ki v višino dosežejo do 30 m. Avtohton je v Severni Ameriki in Mehiki, njegova naravna rastišča so na nadmorski višini 1900 do 3000 m, kjer skupaj z drugimi avtohtonimi iglavci uspeva na skalnatih pobočjih. Iglice so temnozelene barve, prožne in rahlo zavihane navzgor. V posameznem skupku je po pet iglic, dolgih 4 do 9 cm. Storži so navadno veliki 10 do 20 cm, redko se pojavijo tudi večji. Po obliku so ravni do rahlo zavihani, s številnimi semenskimi luskami rumenorjave barve. Izraz *strobiformis* prihaja iz grške besede *strobilos*, kar pomeni »zasukan« in se najverjetneje nanaša na zasukano obliko storžev<sup>(6)</sup>.

### **1.3.14 Duglazija (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco)**

Duglazija je iglasto drevo iz družine borovk (Pinaceae). V Ameriki jo splošno poznajo pod imenom *Douglas fir*: poimenovali so jo po enem največjih škotskih botanikov, Davidu Douglasu, ki je prvi poročal o naravi te rastlinske vrste, izraz *fir* pa v angleščini pomeni »jelka«, duglazija je v preteklosti namreč sodila v isti rod kot jelka. Danes sodi v rod duglazij (*Pseudotsuga* sp.). Njeno znanstveno ime, *Pseudotsuga menziesii*, izvira iz grške besede *pséudes*, kar pomeni »lažen« in *tsuga*, zaradi podobnosti s tem rodom iglavcev. Beseda *menziesii* izhaja iz imena botanika Archibalda Menziesa, ki je leta 1791 drevo prvi dokumentiral. Duglazija je eno največjih dreves na Zemlji, saj lahko zraste v višino tudi do 90 m. Iglice so mehke in kratke (do 3 cm), rumenozelene do temnozelene. Storži so jajčaste oblike, rdečerjavi, obrnjeni navzdol, vsaka semenska luska ima tridelno krilce, ki je daljše od semena<sup>(6)</sup>.

### **1.3.15 Navadni rožmarin (*Rosmarinus officinalis* L.)**

Navadni rožmarin je vednozeleni grm iz družine ustnatic (Lamiaceae). Zaradi njegove aromatičnosti in močnega vonja ga najpogosteje uporabljamo v prehrambni industriji, kot začimbo. V kozmetični industriji se njegovo eterično olje kot ena najstarejših kozmetičnih sestavin pojavlja v toaletnih in kolonjskih vodah. Na področju farmacije ima navadni rožmarin monografijo Evropske agencije za zdravila, v kateri so ga opredelili kot tradicionalno zdravilo rastlinskega izvora, kar pomeni, da njegovi učinkovitost in uporaba temeljita na dolgotrajnih izkušnjah. Monografija navaja štiri terapevtske uporabe: simptomatsko zdravljenje dispepsijske in blaženje krčev v gastrointestinalnem traktu (peroralna uporaba eteričnega olja) ter podporno zdravljenje blagih mišičnih bolečin in motenj v cirkulaciji (dermalna uporaba eteričnega olja)<sup>(15)</sup>.

### **1.3.16 Muškatna kadulja (*Salvia sclarea* L.)**

Rastlina je večletnica nižje rasti, s kosmatimi listi in drobnimi modrovijoličastimi cvetovi v socvetjih. Tako kot druge rastline iz družine ustnatic je tudi muškatna kadulja zelo aromatična in pogosto uporabljana v aromaterapiji. V ljudski medicini jo uporabljamamo pri težavah menstrualnega cikla: za blaženje menstrualnih krčev in pri dismenoreji (<sup>16</sup>).

### **1.3.17 Vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash)**

Vetiver je snopasta trava iz družine trav (Poaceae). Avtohtona je v tropskih in subtropskih predelih južne Azije, vendar so jo načrtno sadili tudi v toplejših predelih Amerike. Raste v snopih, steblo z rijavim razcvetom lahko doseže višino 3 m. Listi so ozki, ostri in dolgi tudi do 1,5 m. Posebnost so korenine, ki rastejo 2 do 4 m globoko, zato je rastlina sposobna preživeti številne naravne katastrofe, kot so požar, poplava, huda zmrzal in hud veter. Iz korenin pridobivamo eterično olje, ki je nepogrešljiva komponenta v številnih parfumih (<sup>6</sup>).

## **2 NAMEN DELA**

Magistrska naloga bo sestavljena iz dveh delov. V prvem delu bomo z metodo plinske kromatografije z masno spektrometrijo (GC-MS) kvalitativno in kvantitativno ovrednotili vzorce eteričnih olj izbranih avtohtonih rastlinskih vrst iz Arizone. Na podlagi dobljenih podatkov o sestavi in deležih posameznih spojin v vzorcih bomo ugotavljali podobnosti in razlike v sestavi eteričnih olj rastlinskih vrst iz istega rodu ter v eteričnih oljih iste rastlinske vrste, pridobljenih iz različnih rastlinskih delov.

Drugi del bo teoretičen pregled že obstoječih literturnih podatkov iz dostopnih raziskav, v katerih so proučevali delovanje analiziranih vrst eteričnih olj. Iz znanstvenih podatkovnih baz (ScienceDirect in PubMed) bomo zbrali rezultate *in vitro*, *in vivo* in kliničnih raziskav, in sicer za proučevana eterična olja kot tudi posamezne spojine, ki jih ta eterična olja vsebujejo.

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 Materiali

##### 3.1.1 Vzorci in kemikalije

Vzorci, ki smo jih analizirali, so eterična olja izbranih rastlinskih vrst. Skupno smo analizirali 20 vzorcev, ki smo jih dobili od proizvajalca Phibee Aromatics (Sedona, Arizona). Seznam analiziranih vzorcev eteričnih olj rastlin predstavljamo v preglednici 1.

Pri pripravi vzorcev smo kot topilo uporabili *n*-heksan (SupraSolv, za GC/MS, Merck, Nemčija).

**Preglednica 1: Seznam vzorcev eteričnih olj**

Latinsko ime	Slovensko ime	Rastlinski del	Izvor
<i>Abies concolor</i>	koloradska jelka	veja	Arizona
<i>Abies lasiocarpa</i> var. <i>arizonica</i>	skalna jelka	veja	Arizona
<i>Abies lasiocarpa</i> var. <i>lasiocarpa</i>	skalna jelka	veja	Arizona
<i>Ambrosia confertiflora</i>	praprotnolistna ambrozija	zel	Arizona
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Lawsonova pacipresa	veja	Arizona
<i>Croton linearis</i>	/	list	Jamajka
<i>Cupressus sempervirens</i>	prava cipresa	veja	Arizona
<i>Ericameria paniculata</i>	/	zel	Arizona
<i>Hyptis emoryi</i>	/	zel	Arizona
<i>Picea pungens</i>	srebrna smreka	veja	Arizona
<i>Pimenta dioica</i>	pimentovec	list	Jamajka
<i>Pinus edulis</i>	koloradski pinjon	storž	Arizona
<i>Pinus edulis</i>	koloradski pinjon	veja	Arizona
<i>Pinus ponderosa</i>	rumeni bor	veja	Arizona
<i>Pinus strobiformis</i>	mehiški beli bor	storž	Arizona
<i>Pinus strobiformis</i>	mehiški beli bor	veja	Arizona
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Duglazija	veja	Arizona
<i>Rosmarinus officinalis</i>	navadni rožmarin	list	Arizona
<i>Salvia scarlea</i>	muškatna kadulja	zel	Arizona

<i>Vetiveria zizanioides</i>	Vetiver	korenina	Jamajka
------------------------------	---------	----------	---------

### 3.1.2 Aparatura in laboratorijska oprema

Aparatura, s katero smo analizirali vzorce eteričnih olj, je plinski kromatograf, sklopljen z masnim detektorjem (GC-MS).

Podatki o aparaturi:

- sistem: GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu Corporation, Japonska),
- kolona: nepolarna kapilarna, Rx-5Sil MS,  $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm}$ ,  $\text{df} = 0,25\text{ }\mu\text{m}$ , SF: 1,4-bis(dimetilsiloski)fenilendimetilpolisilosan (Restek, ZDA),
- računalniški program: GCMS Solution 4.2 (Shimadzu Corporation, Japonska)
- podatkovni knjižnici GC-MS: NIST 14 in FFNSC 3 (obe Shimadzu Corporation, Japonska)

Laboratorijska oprema: analizna pipeta , steklene viale s pokrovčki za GC-MS.

### 3.2 Metode

Analizo vzorcev eteričnih olj smo opravili z metodo plinske kromatografije, sklopljene z masno spektrometrijo (GC-MS). S pomočjo računalniške podpore (programov in podatkovnih knjižnic) smo podatke obdelali in vrednotili.

Pri teoretičnem pregledu literarnih podatkov o delovanju posameznih eteričnih olj in njihovih spojin smo uporabili raziskave iz znanstvenih podatkovnih baz (Science Direct in PubMed).

## 4 EKSPERIMENTALNI DEL

### 4.1 Priprava vzorcev

Vzorce eteričnih olj smo redčili s heksanom, v razmerju 1 : 99 (v/v). Za vsak vzorec smo v vialo odpipetirali 10 µL izbranega eteričnega olja in 990 µL heksana. Skupni volumen posameznega vzorca je bil 1000 µL, koncentracija vzorcev je bila 10 µL/mL.

### 4.2 Potek analize

Pripravljene vzorce smo vstavili v računalniško vodeno aparaturo GC-MS. Volumen injiciranja posameznega vzorca je bil 1 µL, celoten čas analize posameznega vzorca pa 60,0 min. Naredili smo po eno analizo za vsak vzorec.

Kromatografske razmere GC-MS:

- nosilni plin: helij,
- pretok plina: 1 mL/min (linearna hitrost),
- način injiciranja: »split« 1 : 100,
- temperaturni program: 50 °C (5 min), 50→250 °C (3 °C/min), 250 °C (5 min),
- temperatura injektorja: 250 °C,
- temperatura ionskega izvora: 200 °C,
- temperatura vmesnika: 250 °C,
- napetost na detektorju: 1 kV,
- način ionizacije: EI,
- energija ionizacije: -70 eV,
- frekvenca zajemanja podatkov: 5 Hz,
- območje merjenja relativne molekulske mase (m/z): 40–400,
- začetek snemanja pri 3,0 min,
- vklop filimenta pri 2,8 min.

Dobljene analizne podatke smo uredili s pomočjo računalniškega programa, s pomočjo podatkovnih knjižnic MS pa identificirali spojine v vzorcih.

Kot rezultat analize smo za vsak vzorec eteričnega olja dobili podatke o kvalitativni in kvantitativni sestavi.

## 5 REZULTATI IN RAZPRAVA

Za vsak analizirani vzorec smo v preglednicah v prilogah (priloge I do XIV) zbrali podatke o kvalitativni (ime spojin) in kvantitativni (delež oziroma vsebnost spojin) sestavi eteričnih olj. Vsebnosti spojin smo podali kot relativno površino v odstotkih, izračunano po naslednji enačbi:

$$\text{Relativna površina (\%)} = \frac{\text{površina pod krivuljo vrha}}{\text{površina pod vsemi krivuljami vrhov}} \times 100$$

Pri eteričnih oljih rastlinskih vrst iz istega rodu (*Abies* in *Pinus*) smo ovrednotili podobnosti in razlike v kemijski sestavi posameznih vrst. Kemijsko raznolikost smo ovrednotili tudi za vzorce eteričnih olj iste rastlinske vrste, pridobljenih iz različnih rastlinskih delov.

Iz znanstvenih podatkovnih baz smo, na podlagi dostopnih *in vivo*, *in vitro* ter kliničnih raziskav, zbrali in proučili podatke o delovanju eteričnih olj in vodilnih spojin. Delovanje posameznih najbolj zastopanih kemijskih spojin v eteričnem olju smo primerjali oziroma skušali povezati z delovanjem celotnega eteričnega olja.

### 5.1 Izbrane vrste *Abies* sp.

Jelka (*Abies* sp.) je rod iz družine borovk (Pinaceae), za katero je splošno značilno, da v sestavi eteričnih olj prevladujejo spojine iz družine terpenov. Najbolj značilne spojine so  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, limonen, kamfen in bornilacetat. Sestava analiziranih eteričnih olj koloradske jelke (*Abies concolor*) in skalne jelke (*Abies lasiocarpa* var. *arizonica* in *Abies lasiocarpa* var. *lasiocarpa*) je prikazana v prilogi I.

Vodilni spojini v vzorcu koloradske jelke sta  $\beta$ -pinen (42,6 %) in  $\alpha$ -pinen (17,1 %). Sledijo bornilacetat (9,36 %),  $\beta$ -felandren (6,11 %), kamfen (4,74 %), limonen (4,42 %), citronelilacetat (2,83 %),  $\Delta$ -3-karen (2,64 %) in mircen (2,16 %), ostale spojine (po številu skupno 36) pa so prisotne v manj kot 1 %. Tudi v vzorcih skalne jelke (obe varieteti) se v največjih deležih pojavljajo zgoraj naštete spojine, vendar v drugačnem zaporedju deležev. V obeh vzorcih (var. *arizonica* in *lasiocarpa*) je največ bornilacetata (33,7 in 35,8 %), sledi  $\beta$ -pinen z večjo razliko v vsebnostih (22,5 in 16,3 %) in nato kamfen (16,9 in 15,5 %). Do večje razlike prihaja tudi v vsebnostih  $\alpha$ -pinena in limonena: var. *arizonica* vsebuje več  $\alpha$ -pinena (11,6 %) kot limonena (5,39 %), var. *lasiocarpa* pa ravno obratno – večja je vsebnost limonena (12,9 %) v primerjavi z vsebnostjo  $\alpha$ -pinena (7,13 %). Sledi  $\beta$ -felandren v vsebnosti 3,72 % (var. *arizonica*) oziroma 4,32 % (var. *lasiocarpa*). V vzorcih skalne jelke se v razponu 1,43 do 1,52 % pojavlja triciklen. Druge identificirane spojine (skupno 25 (var. *arizonica*) in 32 (var. *lasiocarpa*)) so v vzorcih prisotne v vsebnostih, manjših od 1 %.

Povzamemo lahko, da se kot prevladujoče spojine v analiziranih vzorcih eteričnih olj rastlin iz rodu jelk, sicer v spremenljivih deležih, pojavlja šest značilnih spojin ( $\alpha$ - in  $\beta$ -

pinen, bornilacetat,  $\beta$ -felandren, kamfen in limonen). Te spojine predstavljajo skupni delež 84,3 % vseh identificiranih spojin v eteričnem olju koloradske jelke oz. 93,8 in 92,0 % v eteričnima oljema skalne jelke (var. *arizonica* in var. *lasiocarpa*). Zanimivo je, da je sestava eteričnega olja koloradske jelke kompleksnejša. Vsebuje namreč veliko spojin, ki se pojavljajo v majhnih deležih (pod 0,5 % ali celo pod 0,1 %) in skupno predstavljajo kar približno 10 % celotne sestave.

Sestavi vzorcev obeh varietet skalne jelke v deležih spojin, ki količinsko prevladujejo, dobro sovpadata. Izjemi sta  $\alpha$ -pinen (v var. *arizonica* ga je 1,6-krat več kot v var. *lasiocarpa*) in limonen (več ga je v var. *lasiocarpa* kot v var. *arizonica*). Čeprav gre za vzorce iste rastlinske vrste, je zanimivo, da se le ti razlikujejo v identificiranih spojinah, ki predstavljajo manjši delež sestave. V vzorcu skalne jelke var. *arizonica* smo identificirali 32 spojin, od tega je 8 spojin (z odstotkom vsebnosti, manjšim od 0,16 %) prisotnih le v tem vzorcu, ne pa tudi v vzorcu var. *lasiocarpa*. Te spojine so: karvakrilmetileter, izopulegilneoacetat, (*Z*)-pinokarvilacetat,  $\alpha$ -longipinen, sibiren, longifolen,  $\Delta$ -kadinen in kadin-4-en-10-ol. Več spojin, skupaj 39, smo identificirali v vzorcu skalne jelke var. *lasiocarpa*. Od tega se jih 14 pojavlja samo pri tej varieteti, ne pa tudi pri prvi. Najbolj izstopata timilmetileter v vsebnosti 0,88 % in citronelilacetat v vsebnosti 0,4 %. Druge spojine (heks-(3*Z*)-enol,  $\alpha$ -terpinen, fenhon, ment-2-en-1-ol in njegov izomer, terpinen-4-ol, fenchilacetat, citronelol, (*E*)-geranilacetat,  $\alpha$ -gvajen, (*E*)-nerolidol in  $\alpha$ -bisabolol) so prisotne v manjših odstotkih vsebnosti (pod 0,11 %).

### **Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnega olja koloradske jelke (*A. concolor*)**

Raziskav, ki bi proučevale sestavo ter delovanje eteričnega olja koloradske jelke, pridobljenega iz veje, v literaturi ni. Do sedaj so izvedli le raziskavo *in vitro* (leta 2017), v kateri so proučevali eterični olji, pridobljeni iz semena in storža, ter njune protimikrobnne lastnosti in toksičnost za kožne celice. Uporabili so bakterije *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae*, za vrednotenje toksičnosti pa človeške mikrovaskularne dermalne endotelne celice HMEC-1 in človeške kožne fibroblaste CRL-1474. Uporabljene koncentracije eteričnih olj so bile med 11,5 in 32,5  $\mu$ l/ml. Ugotovili so, da eterični olji, pridobljeni iz semena in storža koloradske jelke, izkazujeta protimikroben delovanje proti testiranim bakterijam. Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) so bile med 26 in 30  $\mu$ l/ml. Pri teh koncentracijah pa je eterično olje delovalo toksično na testirane celične kulture. Koncentracije eteričnih olj med 0 in 0,075  $\mu$ l/ml niso izkazovale toksičnosti. Raziskovalci zaključujejo, da je dermalna uporaba eteričnega olja v majhnih koncentracijah (0 do 0,075  $\mu$ l/ml) varna in ima potencial kot dodatek k zdravilom in kozmetiki z blagim protimikrobnim delovanjem<sup>(17)</sup>.

### **Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnega olja skalne jelke (*A. lasiocarpa* var. *arizonica*, *A. lasiocarpa* var. *lasiocarpa*)**

Raziskav, ki bi proučevale sestavo in/ali delovanje eteričnega olja skalne jelke in njenih varietet, do sedaj še niso naredili. Rezultat naše analize je tako prva raziskava, v kateri smo identificirali spojine ter ugotovili njihove vsebnosti.

## Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Pri pregledu delovanja posameznih spojin smo se osredotočili na šest značilnih spojin, ki se pojavljajo v vzorcih iz rodu jelk. Te spojine ( $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, bornilacetat, kamfen, limonen in  $\beta$ -felandren) so bile v analiziranih vzorcih prisotne v deležih, večjih od 4 %.

**$\alpha$ -Pinen:** Po 90-minutni inkubaciji pri 30 °C je v raziskavi *in vitro* deloval proti *Saccharomyces cerevisiae*. S povečevanjem koncentracije je zaviral njihovo rast in razmnoževanje. Domnevajo, da je citotoksično delovanje povezano z indukcijo oksidativnega stresa v celicah<sup>(18)</sup>. Pozitivni enantiomer  $\alpha$ -pinena je deloval protimikrobnno proti *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhizopus oryzae* in meticilin rezistentnem *Staphylococcus aureus* (MRSA)<sup>(19)</sup> ter *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* in *Aspergillus niger*<sup>(20)</sup>. V raziskavah *in vitro* so proučevali tudi antioksidativno in protivnetno delovanje spojine.  $\alpha$ -Pinen je imel pomembno vlogo pri zaščiti intestinalnih epitelnih celic (IEC-6) pred oksidativnim stresom, povzročenim z aspirinom. Ob hkratni aplikaciji aspirina in  $\alpha$ -pinena je bila raven glutationa povečana, zmanjšalo pa se je nastajanje radikalov<sup>(21)</sup>. Antioksidativni učinek  $\alpha$ -pinena, so dokazali tudi z metodo DPPH (metoda z radikalom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilom), v raziskavi *in vitro*<sup>(22)</sup>. Protivnetno delovanje so dokazali preko genske regulacije transkripcijskega faktorja NF- $\kappa$ B (zmanjšano izražanje genov, ki povzročajo vnetje)<sup>(23)</sup>. V raziskavi *in vivo* na miših so odkrili, da peroralna aplikacija  $\alpha$ -pinena zmanjša nastanek poškodb želodčne sluznice, povzročenih z etanolom, in tako deluje zaščitno na sluznico želodca<sup>(24)</sup>. Antinociceptivni učinek  $\alpha$ -pinena so raziskovalci dokazali z raziskavo *in vivo*, v kateri so mišim spojino aplicirali intraperitonealno.  $\alpha$ -Pinen je zvišal prag zaznave bolečine<sup>(25)</sup>.

**$\beta$ -Pinen:** Raziskave *in vitro* dokazujo protimikrobnii učinek  $\beta$ -pinena. Pozitivni enantiomer  $\beta$ -pinena je po 4-urni inkubaciji deloval mikrobicidno proti *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhizopus oryzae* in meticilin rezistentnem *Staphylococcus aureus* (MRSA)<sup>(19)</sup>. V kombinaciji z linaloolom je  $\beta$ -pinen deloval antidepresivno. Raziskavo so izvedli na miših, ki so jim intraperitonealno aplicirali obe spojini. Domnevni mehanizem je vpletanje v monoaminergični sistem, natančneje interakcija s postsinaptičnimi serotonininskimi receptorji (5-HT1A)<sup>(26)</sup>. Antioksidativni učinek  $\beta$ -pinena so dokazali z metodo DPPH v raziskavi *in vitro*<sup>(22)</sup>.

**Bornilacetat:** Protivnetno delovanje bornilacetata so dokazali v dveh raziskavah *in vitro*. Raziskava, ki so jo izvedli na celicah človeških hondrocitov, dokazuje protivnetni učinek bornilacetata preko povečanega izražanja IL-11<sup>(27)</sup>. V delu raziskave, ki je potekala *in vivo*, so mišim intraperitonealno aplicirali bornilacetat (25, 50 in 100 mg/kg) in merili

nastanek vnetnih citokinov. Nastanek vnetnih citokinov so merili tudi *in vitro*. V obeh delih raziskave so dokazali, da bornilacetat zmanjšuje ravni vnetnih citokinov<sup>(28)</sup>.

**Kamfen:** Kamfen je v raziskavi *in vitro* deloval citoprotektivno in antioksidativno na makrofage, v katerih so s t-BHP (terc-butilhidroperoksidom) inducirali oksidativni stres<sup>(29)</sup>. Dokazali so tudi hipolipidemični učinek na podganah pri intraperitonealni aplikaciji. Učinek je bil neodvisen od aktivnosti encima HMG-CoA reduktaze<sup>(30)</sup>. Povzročil je apoptozo melanomskih celic, v poskusu *in vivo* na miših je zmanjšal velikost tumorja, kar so raziskovalci prepoznali kot potencial za protitumorno delovanje<sup>(31)</sup>.

**Limonen:** Z namenom ugotavljanja antihiperalgejskega učinka so naredili dve raziskavi *in vivo*. Prvo so izvedli na miših, pri katerih so predhodno inducirali hiperalgezijo z gp120 (glikoproteinom, ki je odgovoren za sproščanje vnetnih citokinov). Limonen je, po peroralni aplikaciji, zmanjšal mehansko hiperalgezijo<sup>(32)</sup>. Tak učinek so opazili tudi na podganah, ki so peroralno prejemale 10 mg/kg limonena<sup>(33)</sup>. V raziskavi *in vivo* so na podganah odkrili antidiabetično delovanje. 28-dnevna peroralna aplikacija limonena je pri diabetičnih podganah povzročila znižanje ravni glukoze v krvi ter znižanje vrednosti jetrnih encimov in lipidov<sup>(34)</sup>. Na celičnih kulturah osteoblastov je limonen preprečil tvorbo proteinskih aduktov, induciranih z metilglioksalom, preprečil je porast vnetnih citokinov in pojav oksidativnega stresa. Raziskovalci zaključujejo, da ima spojina potencial pri preprečevanju razvoja diabetične osteopatije<sup>(35)</sup>. Ugotovili so, da ima limonen kot inhibitor glikacije proteinov potencial tudi pri preprečevanju nastanka sekundarnih zapletov sladkorne bolezni (nevropatiji, nefropatiji, retinopatiji). Limonen (100 µM) je ob prisotnosti uree (2 M), ki pospešuje glikacijo proteinov, inhibiral nastanek glikiranega proteina (fruktozamina) za 66 %<sup>(36)</sup>. Limonenu so v raziskavi *in vivo* na podganah dokazali holeretični učinek. Odmerek 4,39 mg/kg (apliciran v duodenum podgane) je statistično značilno povečal izločanje žolčnih kislin in zmanjšal nastanek holesterola<sup>(37)</sup>.

**β-Felandren:** V raziskavi *in vivo* so na miših dokazali, da izpostavljenost β-felandrenu v velikih odmerkih (2850 mg/kg, peroralno) povzroča toksičnost (poškodbe na genetskem nivoju)<sup>(38)</sup>.

Eterična olja proučevanih rastlinskih vrst iz rodu *Abies* so, glede na število narejenih raziskav tako na področju sestave kot tudi na področju delovanja, trenutno zelo slabo raziskana. Delovanje posameznih spojin in celotnega eteričnega olja zato težko primerjamo oziroma vrednotimo njihovo skladnost. S tega vidika lahko izpostavimo edino eterično olje koloradske jelke in njegovo protimikrobnو delovanje<sup>(17)</sup>. Skladno s tem delujeta tudi spojini α-pinen in β-pinen<sup>(19, 20)</sup>, ki sta po vsebnosti v vzorcih med vodilnimi, zato lahko povzamemo, da sta najverjetnejše odgovorni za protimikrobnо delovanje eteričnega olja. Glede na podatke iz raziskav se minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) α-pinena in β-pinena gibljejo med 6,25 µg/ml in 117 µg/ml (proti *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhizopus oryzae* in MRSA), minimalne inhibitorne koncentracije eteričnega olja pa med 26 µl/ml in 30 µl/ml (proti *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*,

*Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae*). Kot splošen zaključek (nimamo namreč vrednosti MIC za enake vrste mikroorganizmov) lahko povzamemo, da ima eterično olje boljše protimikrobne lastnosti kot izolirana  $\alpha$ - in  $\beta$ -pinen, kar je posledica sinergističnega delovanja. Glede na dokazano protivnetno delovanje spojin  $\alpha$ -pinena<sup>(23)</sup> in bornilacetata<sup>(27,28)</sup> ter njuno vsebnost v vzorcih lahko za eterični olji koloradske in skalne jelke pričakujemo tudi protivnetno delovanje. Delovanje eteričnih olj proučevanih jekl bi lahko bilo tudi antioksidativno (dokazan učinek za spojine  $\alpha$ -pinen<sup>(21,22)</sup>,  $\beta$ -pinen<sup>(22)</sup>, kamfen<sup>(29)</sup> in limonen<sup>(35)</sup>).

## 5.2 Praprotnolistna ambrozija (*Ambrosia confertiflora*)

V literaturnih podatkih ni bilo nobene raziskave o sestavi proučevanega eteričnega olja. V naši raziskavi tako prvič poročamo o njegovi sestavi. Podatki o vsebnosti spojin v analiziranem vzorcu eteričnega olja so predstavljeni v prilogi II. Identificirali smo 70 različnih spojin, kar kaže na zelo kompleksno sestavo tega eteričnega olja. Spojina, ki prevladuje, je izomer  $\gamma$ -murolena. Njegova vsebnost je 42,5 %. S padajočimi vsebnostmi sledijo naslednje spojine: (*E*)-karionilen (10,1 %), biciklogermakren (9,53%), limonen (6,53 %),  $\gamma$ -kurkumen (2,21 %) in (*E*)- $\beta$ -ocimen (2,08 %). V vsebnosti več kot 1,0 % so v vzorcu prisotni še  $\delta$ -kadinen,  $\alpha$ -humulen,  $\alpha$ -(*E,E*)-farnezen,  $\beta$ -evdezmol,  $\gamma$ -amorfen in borneol. Do sedaj naštete spojine predstavljajo skupni delež 82,0 %. Drugi delež predstavljajo spojine, ki so v vzorcu zastopane v manjših deležih: 40 spojin je prisotnih v deležih, manjših od 1,0 %, v deležu, manjšem od 0,1 %, pa smo identificirali še dodatnih 18 spojin.

### Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnega olja praprotnolistne ambrozije (*A. confertiflora*)

#### Raziskave *in vitro*

Raziskav, ki bi proučevale delovanje eteričnega olja, do sedaj še niso izvedli. V literaturi sta dostopni le dve raziskavi *in vitro*, ki pa se nanašata na ekstrakte te rastline.

V raziskavi protibakterijskega delovanja proti *Helicobacter pylori* so ekstrakt pripravili tako, da so posušeno rastlinsko drogo (zel) pri sobni temperaturi ekstrahirali z metanolom (1 : 10, w/v). Razredčili so ga z DMSO, končna koncentracija ekstrakta je bila 10 mg rastlinske droge/ml. Po 24-urni inkubaciji je ekstrakt deloval baktericidno proti *H. pylori*, minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) je bila manjša od 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Raziskovalci zaključujejo, da bi praprotnolistna ambrozija lahko imela pomembno vlogo pri zdravljenju gastrointestinalnih bolezni, povzročenih s to bakterijo<sup>(39)</sup>. Baktericidno delovanje proti *Mycobacterium tuberculosis* so dokazovali v novi raziskavi, kjer so iz ekstrakta (pripravili so ga z diklorometanom in nato izvedli kromatografsko ločitev) izolirali dve spojini. Njuni identiteti so ugotovili z metodo NMR. Ugotovili so, da sta najbolj aktivni spojini reinozin ter santamarin, z vrednostimi MIC med 16 in 128  $\mu\text{g}/\text{ml}$ <sup>(40)</sup>.

## Pregled literturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Osredotočili smo se na spojine, ki jih eterično olje praprotnolistne ambrozije vsebuje največ (nad 2 %) in predstavljajo večino sestave. To so  $\gamma$ -murolen, (E)-kariofilen, biciklogermakren, limonen,  $\gamma$ -kurkumen in (E)- $\beta$ -ocimen. Delovanj vodilnih spojin  $\gamma$ -murolena,  $\gamma$ -kurkumena in (E)- $\beta$ -ocimena v dostopni literaturi do sedaj še niso raziskovali.

**(E)-Kariofilen:** V raziskavi *in vitro* in *in vivo*, prvo so izvedli na človeških endotelnih celicah in drugo na miših, je spojina izkazovala zaviralni učinek na indukcijo molekul VCAM-1 in ICAM-1, povzročeno s TNF- $\alpha$ . Sklepajo, da ima protivnetni učinek potencial pri zaviranju razvoja ateroskleroze (<sup>41</sup>). Dokazali so tudi, da ima (E)-kariofilen vlogo pri regulaciji sproščanja inzulina. Na  $\beta$ -celicah trebušne slinavke je v koncentracijah med 0,1 in 1  $\mu\text{M}$ , v odvisnosti od odmerka, stimuliral sproščanje inzulina (<sup>42</sup>). Po peroralmem odmerku je na miših izkazoval protibolečinsko (antinociceptivno) delovanje (<sup>43</sup>). Z raziskavo *in vivo* na miših, ki so jim predhodno s pentilenetetrazolom povzročili epileptični napad, so vrednotili antikonvulzivni učinek (E)-kariofilena. Odmerek 100 mg/kg je pri miših podaljšal latentno dobo (fazo brez napadov) (<sup>44</sup>).

**Biciklogermakren:** Spojina je v raziskavi, ki so jo izvajali na žuželkah *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* in *Anopheles subpictus*, izkazovala zaviralni učinek na razvoj larv. Dokazali so tudi larvicidni učinek (<sup>45</sup>).

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32,33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

Povezav med delovanjem eteričnega olja in posameznih spojin nismo našli. Glede na zbrane podatke sklepamo, da bi se v nadalnjih raziskavah za obetavne lahko izkazali naslednji učinki eteričnega olja: protivnetni, protibolečinski in protimikrobnii. Za protivnetni in antinociceptivni učinek bi lahko bila odgovorna (E)-kariofilen (<sup>41,43</sup>) in limonen (<sup>32,33,35</sup>), za protimikrobnii pa biciklogermakren (<sup>45</sup>). Limonen ima dokazano antidiabetično delovanje (<sup>34</sup>), na zniževanje ravni sladkorja v krvi pa ugodno vpliva tudi (E)-kariofilen, saj stimulira sproščanje inzulina (<sup>42</sup>).

## 5.3 Lawsonova pacipresa (*Chamaecyparis lawsoniana*)

Priloga III prikazuje sestavo analiziranega vzorca eteričnega olja Lawsonove paciprese. Identificirali smo 68 spojin, kar skupno predstavlja približno 98 % celotnega eteričnega olja. Najbolj zastopana spojina je kadin-4-en-10-ol, njena vsebnost v vzorcu je 14,5 %. Sledijo  $\delta$ -kadinol v vsebnosti 10,4 %, T-murolol v vsebnosti 9,43%,  $\alpha$ -terpineol v vsebnosti 8,66 %, epi- $\alpha$ -kadinol v vsebnosti 7,10 % in  $\gamma$ -kadinol v vsebnosti 5,99 %. Z deležem sestave, manjšim od 5 %, sledijo naslednje spojine: citronelilacetat s 4,37 %,  $\alpha$ -murolen s 3,48 %,  $\alpha$ -murolol s 3,13 %, citronelol z 2,93 %,  $\gamma$ -murolen z 2,75 %,  $\alpha$ -pinen z 2,14 % in (E)-nerolidol z 2,00 %.  $\beta$ -Selinol, intermedeol, borneol,  $\alpha$ -selinen,  $\alpha$ -terpinilacetat, epikubenol in mirtenilacetat se pojavljajo v vsebnostih med 1 in 2 %.

Povzamemo lahko, da je sestava vzorca kompleksna, eterično olje ne vsebuje spojine ali nekaj spojin, ki bi prevladovale v večjih, nekaj desetodstotnih deležih, pač pa je prisotnih šest spojin v vsebnosti med 5 in 15 % ter sedem spojin v vsebnosti med 2 in 5 %, in 55 spojin v manjših vsebnostih.

### **Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja Lawsonove paciprese (*C. lawsoniana*)**

V raziskavi *in vitro* so dokazovali protibakterijsko in protiglivno delovanje. Uporabili so bakterije *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* in *Micrococcus luteus* ter glivo *Candida albicans*. Po 24-urni inkubaciji bakterij z 10 µl eteričnega olja (pridobljenega iz mladih stebel in listov) so delovanje vrednotili z merjenjem premera zaviralne cone rasti. *C. albicans* so inkubirali 48 ur. Dokazali so, da eterično olje deluje zaviralno na rast in razmnoževanje proučevanih mikroorganizmov<sup>(46)</sup>. Z ugotavljanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) so dokazali tudi, da eterično olje Lawsonove paciprese, pridobljeno iz nezrelih storžev, deluje protibakterijsko na večkratno odporne seve *S. aureus*. Vrednosti MIC so bile med 4 in 128 µg/ml<sup>(47)</sup>.

*In vivo* so s poskusi na miših in zajcih vrednotili dermalno toksičnost eteričnega olja Lawsonove paciprese. Mišim so dermalno aplicirali v olivnem olju razredčeno eterično olje, pri zajcih pa so uporabili nerazredčeno eterično olje. Zaključili so, da majhne koncentracije eteričnega olja (med 0,5 in 5 %) nimajo toksičnega učinka<sup>(48)</sup>.

### **Pregled literarnih podatkov o delovanju posameznih spojin**

Osredotočili smo se na spojine, ki so v vzorcu eteričnega olja Lawsonove paciprese prisotne v vsebnostih, večjih od 2,9 %, in predstavljajo večino sestave. Za vodilno spojino kadin-4-en-10-ol (14,5 %) delovanja do sedaj še niso raziskovali, prav tako ne delovanj T-murolola (9,43 %) in epi-α-kadinola (7,10 %).

**Δ-Kadinen:** Na celičnih linijah človeških rakavih celic jajčnikov so raziskovalci dokazali, da spojina deluje protirakavo. Razmnoževanje rakavih celic zavira preko mehanizmov posredovanja apoptoze, aktivacije kaspaz, vpletanja v strukturo jedrskih membran in zastajanja celičnega cikla<sup>(49)</sup>. Dokazali so tudi akaricidno delovanje (delovanje proti pršicam) proti *Psoroptes cuniculi*<sup>(50)</sup>.

**α-Terpineol:** V raziskavi *in vitro* je α-terpineol zmanjšal z lipopolisaharidom (pridobljenim iz *Porphyromonas gingivalis*, 1 µg/ml) inducirano nastajanje vnetnih citokinov v makrofagih in s tem izrazil protivnetno delovanje<sup>(51)</sup>. Protibakterijsko je deloval na bakterije *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* in *Escherichia coli*. Za dane bakterije so bile vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij (MIC) 0,50, 0,25, 0,50 in 0,75 % (v/v, α-terpineol, razredčen v Tween 80)<sup>(52)</sup>. V raziskavi *in vitro* so z ugotavljanjem MIC in minimalne fungicidne koncentracije (MFC) dokazali

njegovo protiglivno delovanje proti *Geotrichum citri-aurantii*. MIC je bila 2,00 µl/ml, MFC pa 4,00 µl/ml (<sup>53</sup>). *In vivo* je intravenska aplikacija spojine na podganah povzročila hipotenziven učinek. Domnevni mehanizem je sproščanje NO in aktivacija NO-GMPc poti, ki povzroča vazodilatacijo in s tem znižanje krvnega tlaka (<sup>54</sup>). Po peroralni aplikaciji α-terpineola podganam, v odmerkih 10, 30 in 50 mg/kg, je spojina, v primerjavi s kontrolno skupino (voda), zmanjšala nastanek želodčnih razjed, povzročenih z etanolom, za 66,7, 81,0 in 94,1 %. Dokazali so gastroprotективni učinek (<sup>55</sup>).

**Citronelilacetat:** Peroralna aplikacija citronelilacetata je na mišjih modelih akutne nocicepcije, inducirane z ocetno kislino, formalinom in kapsaicinom, povzročila izrazito zmanjšanje bolečine. Spojina deluje antinociceptivno (<sup>56</sup>).

**Citronelol:** V raziskavi *in vitro* so raziskovalci dokazali močno protigličično delovanje spojine proti *Trichophyton rubrum* (<sup>57</sup>). Z raziskavo na podganah, ki so jim diabetes inducirali s streptozocinom, so dokazali antidiabetični učinek spojine. Po 30-dnevnom prejemanju peroralnih odmerkov citronelola (50 mg/kg) so pri podganah zabeležili znatno znižanje ravni glukoze v krvi in glikiranega hemoglobina (HbA1c). Spojina je izboljšala periferno porabo glukoze (<sup>58</sup>).

Zaradi slabo raziskanega delovanja eteričnega olja in njegovih vodilnih spojin nismo našli nobene povezave med delovanjem eteričnega olja in delovanjem posameznih spojin. Sklepamo lahko le, da bi za protimikrobnno delovanje eteričnega olja (<sup>46, 47</sup>) lahko bila odgovorna spojina α-terpineol, ki deluje dokazano protimikrobnno (<sup>52, 53</sup>), vendar moramo poudariti, da so v raziskavah o delovanju eteričnega olja preizkušali drugačne bakterije kot v raziskavah o delovanju spojine. Δ-Kadinol deluje protirakovo (<sup>49</sup>) in akaricidno (<sup>50</sup>). Antinociceptivni učinek ima spojina citronelilacetat (<sup>56</sup>). Citronelol in α-terpineol bi lahko skupaj delovala ugodno na preprečevanje srčno-žilnih zapletov: α-terpineol ima namreč protivnetni (<sup>51</sup>) in hipotenzivni (<sup>54</sup>) učinek, citronelol pa z zniževanjem ravni glukoze v krvi deluje antidiabetično (<sup>58</sup>).

#### 5.4 *Croton linearis*

Sestava analiziranega vzorca je prikazana v prilogi IV. Identificirali smo 39 spojin, kar skupaj predstavlja 99,7 % vsebnosti celotnega vzorca. Spojina, ki je je v vzorcu največ, je sabinen, z vsebnostjo 33,5 %. Druge spojine, ki se pojavljajo v vsebnostih, manjših od 10 % in večjih od 4 %, so: limonen (9,28 %), α-pinol (9,22 %), γ-terpinol (7,11 %), evkaliptol (7,03 %) in *p*-cimen (4,37 %). Sledijo α-tujen, germakren D, terpinolen, mircen, α-felandren in bornilacetat. Njihova vsebnost se giblje med 3,82 % in 2,65 %. Vsebnost, večjo od 1 %, imajo še naslednje spojine: kamfen, (*E*)-karifilen, terpinen-4-ol in β-pinol. Vse druge spojine so v vzorcu zastopane v deležih, manjših od 1 %.

#### Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja *Croton linearis*

Proučevana rastlinska vrsta je manj poznana, njenih bioloških učinkov znanstveniki še niso raziskovali. V podatkovnih bazah smo dobili le eno raziskavo *in vitro*, v kateri so

raziskovali insekticidno delovanje. Uporabili so insekte *Cylas formicarius elegantulus*. V nadaljevanju so iz diklorometanskih ekstraktov rastline izolirali odgovorno spojino in z NMR ugotovili njeno strukturo. Ugotovili so, da je za insekticidno delovanje odgovoren še neidentificiran monoterpen z molekulsko formulo C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub><sup>(59)</sup>.

### Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Pregledali smo literaturne podatke za spojine, ki v vzorcu eteričnega olja *Croton linearis* prevladujejo (njihove vsebnosti so večje od 4 %). To so sabinen, limonen, α-pinjen, γ-terpinen, evkaliptol in p-cimen.

**Sabinen:** V raziskavi *in vitro* je sabinen povečal učinek antibiotikov aminoglikozidov proti bakterijam *Pseudomonas aeruginosa* in *Staphylococcus aureus*. Dokazali so sinergistični učinek sabinena v kombinaciji z aminoglikozidi, medtem ko sabinen sam ni izkazoval protibakterijskega delovanja. Domnevajo, da je spojina potencialni modulator bakterijske rezistence<sup>(60)</sup>. *In silico* so z računalniškim modeliranjem skušali ovrednotiti protimikrobnno delovanje spojine proti *Salmonella typhimurium*. Za tarčno molekulo so uporabili 3D strukturo L-asparaginaze tega mikroorganizma, kot ligand pa sabinen. S sidranjem molekul so ugotovili, da sabinen izkazuje boljše prileganje kot antibiotik ciprofloksacin, zato zaključujejo, da ima sabinen potencial pri zdravljenju okužb, povzročenih s *S. typhimurium*<sup>(61)</sup>.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno<sup>(32,33)</sup>, antidiabetično<sup>(34)</sup>, protivnetno<sup>(35)</sup>, holeretično<sup>(37)</sup> in antioksidativno<sup>(35)</sup> delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov<sup>(36)</sup>. Povzetki raziskav so na str. 15.

**α-Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobnno<sup>(18,19,20)</sup>, antioksidativno<sup>(21, 22)</sup>, protivnetno<sup>(23)</sup>, gastroprotективno<sup>(24)</sup> in antinociceptivno<sup>(25)</sup> delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**γ-Terpinen:** γ-Terpinen je v raziskavi *in vitro* zaustavil rast in razvoj *C. albicans*. Minimalna fungicidna koncentracija je bila 16 mg/ml<sup>(62)</sup>. Ugotovili so, da pri zdravljenju ustnih okužb deluje sinergistično v kombinaciji s tetraciklini<sup>(63)</sup>. *In vivo* je po peroralnem odmerku deloval protivnetno – povzročil je zmanjšanje edema in vnetnih citokinov pri miših<sup>(64)</sup>. Sposobnost γ-terpinena za zmanjšanje bolečine (antinociceptivno delovanje) so ugotavljalci z raziskavo na miših. Učinek je domnevno posledica vpletanja spojine v holinergični in opioidni sistem<sup>(65)</sup>.

**Evkaliptol (1,8-cineol):** *In vitro* so znanstveniki z ugotavljanjem minimalne inhibitorne koncentracije dokazali protibakterijsko delovanje spojine na mikroorganizme *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Staphylococcus aureus*<sup>(66)</sup>. V klinični raziskavi so pacienti z bronhialno astmo (na redni terapiji z glukokortikoidi) 12 tednov prejemali peroralne odmerke evkaliptola. Sočasno zdravljenje z evkaliptolom je pri pacientih zmanjšalo potrebo po zdravljenju z glukokortikoidi za 36 %. Znanstveniki zaključujejo, da ima spojina potencial pri sočasnem zdravljenju astme z glukokortikoidi, saj zmanjša

potrebo po teh učinkovinah in s tem neželene učinke<sup>(67)</sup>). Na celičnih kulturah limfocitov in monocitov je evkaliptol zmanjšal nastajanje vnetnih citokinov<sup>(68)</sup>. Zmanjšano nastajanje IL-6 je povzročil tudi v raziskavi *in vivo* na miših, ki so bile predhodno izpostavljene cigaretnemu dimu. Miši so odmerke prejemale z inhalacijo. Izkazali so se tudi antioksidativni učinki<sup>(69)</sup>.

**p-Cimen:** Po intraperitonealni aplikaciji je *p*-cimen pri miših povzročil zmanjšano nastajanje TNF-α, migracijo levkocitov in zmanjšano sproščanje NO. Z vpletanjem v opioidni sistem in regulacijo nastajanja nekaterih provnetnih citokinov, je spojina izkazovala antihiperalgezijski in protivnetni učinek<sup>(70)</sup>. Zdravljenje miši z intraperitonealnimi odmerki je zmanjšalo pojav lipidne peroksidacije, povečana je bila aktivnost encimov superoksid-dismutaze in katalaze. Dokazali so antioksidativno delovanje<sup>(71)</sup>. Na fibrosarkomskih celicah (HT-1080) so znanstveniki raziskovali *in vitro* protitumorno delovanje. Dokazali so, da *p*-cimen v celicah zmanjša razmerje izražanja MMP-9/TIMP-1<sup>(72)</sup>. *In vivo* so s poskusom na miših raziskali antidiabetični učinek spojine. Miši so hranili s hrano z veliko vsebnostjo maščob, poleg tega pa so peroralno prejemale odmerek *p*-cimena (20 mg/kg). Ugotovili so, da je *p*-cimen statistično značilno zmanjšal raven glukoze v krvi<sup>(73)</sup>.

Povezav med delovanjem eteričnega olja in posameznih spojin nismo našli. Glede na širok nabor delovanja spojin, vodilnih po vsebnosti, predvidevamo, da bi eterično olje lahko izkazovalo več učinkov. Za protimikrobeno delovanje bi lahko bilo odgovornih več spojin: sabinen<sup>(60, 61)</sup>, α-pinen<sup>(19, 20)</sup>, γ-terpinen<sup>(62)</sup> in evkaliptol<sup>(66)</sup>. Zmanjšanje bolečine povzročajo α-pinen<sup>(25)</sup>, limonen<sup>(32, 33)</sup>, γ-terpinen<sup>(65)</sup> in *p*-cimen<sup>(70)</sup>. Protivnetni učinki so izraženi pri α-pinenu<sup>(23)</sup>, γ-terpinenu<sup>(64)</sup>, evkaliptolu<sup>(68, 69)</sup> in *p*-cimenu<sup>(70)</sup>, antioksidativno delovanje pa pripisujemo limonenu<sup>(35)</sup>, α-pinenu<sup>(21)</sup>, evkaliptolu<sup>(69)</sup> in *p*-cimenu<sup>(71)</sup>. Limonen deluje še antidiabetično<sup>(34)</sup> in holeretično<sup>(37)</sup>, *p*-cimen antidiabetično<sup>(73)</sup> in protitumorno<sup>(72)</sup>, α-pinen pa gastropotektivno<sup>(24)</sup>.

## 5.5 Prava cipresa (*Cupressus sempervirens*)

Za eterično olje prave ciprese sta značilni dve vodilni spojini: Δ-3-karen (22 %) in α-pinen (20 %). Eterično olje lista, pridobljeno z destilacijo z vodno paro, vsebuje še terpinolen (6,3 %), cedrol (5,4 %), kamfen (3,6 %), sabinen (2,8 %), kadinen (1,7 %) ter mircen in α-terpinen (skupaj 1,1 %)<sup>(74)</sup>. Vsebnosti spojin se v literaturnih virih sicer razlikujejo – v raziskavi, opravljeni leta 2014, so avtorji ugotovili večjo vsebnost α-pinena (48,6 %). Poleg Δ-3-karena (22,1 %) so bile v vzorcu, z deležem večjim od 2 %, prisotne še spojine limonen (4,6 %), α-terpinolen (4,5 %), mircen (4,1 %), α-cedrol (3,5 %), β-pinjen (2,5 %) in sabinen (2,0 %)<sup>(75)</sup>.

Sestava analiziranega vzorca, pridobljenega iz veje, je prikazana v prilogi V. Po vsebnosti sta vodilni spojini v vzorcu α-pinen in Δ-3-karen. Vsebnost α-pinena je 56,1 %, Δ-3-karena pa 20,1 %. Sledijo terpinolen v vsebnosti 3,84 %, germakren D v vsebnosti 2,95 %, limonen v vsebnosti 2,73 % in mircen v vsebnosti 2,22 %. V vsebnostih, manjših od 2 %,

sledita  $\alpha$ -terpinilacetat (1,90 %) in  $\beta$ -pinen (1,65 %). Identificirali smo še 32 drugih spojin, ki so v vzorcu prisotne v manjši meri (pod 1 %, številne tudi pod 0,1 %).

Analizirani vzorec, v primerjavi z literurnimi podatki o vsebnostih posameznih spojin, najbolj odstopa v vsebnosti  $\alpha$ -pinena (56,1 %) in odsotnosti cedrola. Vsebnost  $\Delta$ -3-karena (20,1 %) je primerljiva. Do odstopanj prihaja še v vsebnostih kamfena in sabinena (po podatkih naše analize je njuna vsebnost manjša).

### **Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja *Cupressus sempervirens***

Eterično olje je zaviralo rast in razvoj bakterij *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* in *Micrococcus flavus*, minimalne inhibitorne koncentracije so bile med 62,5 in 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>76</sup>). Dokazali so, da petdnevna izpostavljenost insektov (*Sitophilus zeamais* in *Tribolium confusum*) koncentracijam eteričnega olja 0,78 in 1,56  $\mu\text{l}/\text{cm}^2$  povzroči 100-odstotno smrtnost insektov <sup>77</sup>). Antioksidativno delovanje <sup>76, 78, 79</sup> eteričnega olja bi lahko, skupaj z inhibicijo acetilholin-esteraze, imelo potencial pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni <sup>79</sup>). Na človeških rakavih celičnih linijah je metanolni ekstrakt prave ciprese izkazoval citotoksičen učinek. IC<sub>50</sub> (koncentracija, pri kateri so dosegli 50 % inhibicije rasti in razmnoževanja celičnih linij) je bila med 10,1 in 16,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>76</sup>.

*In vivo* so raziskovalci na podganah proučevali zaščitno delovanje eteričnega olja pri razjedah na želodcu. Preko sposobnosti uravnavanja izražanja genov in stopnje aktivnosti encimov, vključenih v antioksidativno zaščito, je eterično olje izkazovalo antiulcerogeno delovanje <sup>80</sup>).

### **Pregled literarnih podatkov o delovanju posameznih spojin**

Pregledali smo literurne podatke za spojine, ki so v vzorcu prisotne v vsebnostih, večjih od 2 %. To so  $\alpha$ -pinen,  $\Delta$ -3-karen, terpinolen, germakren D, limonen in mircen. Delovanja spojine germakren D v dostopni literaturi do sedaj še niso raziskovali.

**$\alpha$ -Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobno <sup>(18, 19, 20)</sup>, antioksidativno <sup>(21, 22)</sup>, protivnetno <sup>(23)</sup>, gastroprotективno <sup>(24)</sup> in antinociceptivno <sup>(25)</sup> delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**$\Delta$ -3-Karen:** *In vivo* so raziskovalci, s poskusi na prašičih, ugotovili, da spojina povzroča bronhokonstrikcijo. Živali so bile izpostavljene zraku, v katerem je bila koncentracija spojine 600 (27 °C) ali 3000 (37 °C)  $\text{mg}/\text{m}^3$ . Vdihovanje spojine je že pri koncentraciji 600  $\text{mg}/\text{m}^3$  povzročilo zožanje dihalnih poti in posledično slabši pretok zraka skozi pljuča. Z večanjem odmerka se je učinek povečeval <sup>(81)</sup>.

**Terpinolen:** Na človeških limfocitnih kulturah, pridobljenih iz periferne krvi, so žeeli raziskovalci *in vitro* dokazati antioksidativni učinek spojine. Po 24-urni inkubaciji so

ugotovili, da koncentracije, manjše od 150 mg/l, nimajo toksičnega učinka na limfocite, ob tem pa izkazujejo dobre antioksidativne učinke. Skupna antioksidativna kapaciteta (TAC) je bila povečana (<sup>82</sup>).

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32,33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**Mircen:** Z metodo DPPH so *in vitro* vrednotili antioksidativni učinek mircena. Pri koncentraciji 85 mg/ml je mircen izkazoval 50-odstotni delež učinka (IC50). V raziskavi so testirali tudi protimikrobnno delovanje proti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* in *Candida parapsilosis*, vendar je bil učinek zelo šibek (<sup>83</sup>). Mircen je v *in vitro* raziskavi na celicah hondrocytov zmanjšal izražanje genov, odgovornih za vnetje (<sup>84</sup>). Antioksidativni učinek so dokazali tudi v raziskavi *in vivo* na miših z ishemično poškodbo srca. Ugotovili so, da intraperitonealna aplikacija spojine, s povečanjem aktivnosti encimskih sistemov (glutationa, superoksid-dismutaze), varuje srčno tkivo pred oksidativnim stresom in histološkimi poškodbami tkiva (<sup>85</sup>).

Največ povezav med delovanjem eteričnega olja in posameznih spojin smo našli za antioksidativni in protimikrobnii učinek. Za antioksidativni učinek bi lahko bilo odgovornih več spojin:  $\alpha$ -pinen, terpinolen, limonen in mircen (<sup>21,82,35,83</sup>), protimikrobnno delovanje pa lahko pripisemo  $\alpha$ -pinenu (<sup>19,20</sup>). Zanimiva je tudi povezava glede zaščitnega delovanja  $\alpha$ -pinena in eteričnega olja na sluznico želodca. Obe raziskavi, ki potrjujeta antiulcerogeno delovanje  $\alpha$ -pinena in eteričnega olja, sta *in vivo*, na miših oz. podganah. Sklepamo lahko, da je za omenjeno delovanje odgovoren  $\alpha$ -pinen (<sup>24</sup>). Za naslednja delovanja nismo našli povezav med posameznimi spojinami in eteričnim oljem: protivnetni učinek izkazujejo mircen (<sup>84</sup>), limonen (<sup>35</sup>) in  $\alpha$ -pinen (<sup>23</sup>),  $\alpha$ -pinen deluje še antinociceptivno (<sup>25</sup>), bronhokonstriktorno je deloval  $\Delta$ -3-karen (<sup>81</sup>).

## 5.6 *Ericameria paniculata*

V podatkovnih bazah raziskav o analizi danega eteričnega olja ni, zato je naša analiza prva raziskava, v kateri poročamo o njegovi sestavi. Rezultati sestave vzorca so prikazani v prilogi VI. V vzorcu smo identificirali 72 spojin, kar kaže na zelo kompleksno sestavo eteričnega olja. V največjem deležu je zastopana spojina limonen (26,9 %). Z razmeroma velikimi deleži sledijo  $\alpha$ -pinen v vsebnosti 13,3 %,  $\beta$ -pinen v vsebnosti 12,9 % in sabinen v vsebnosti 10,5 %. V manjši vsebnosti so prisotni germakren D (4,32 %), terpinen-4-ol (2,25 %) in bornilacetat (2,13 %). *p*-Cimen, mirtenal, mircen,  $\gamma$ -terpinen, (*E*)-pinokarveol in  $\beta$ -(*E*)-ocimen so v vzorcu prisotni v razponu med 1,43 in 1,9 %. Vseh drugih 59 spojin je prisotnih v deležih, manjših od 1 %.

## Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja *Ericameria paniculata*

*In vitro, in vivo* in klinične raziskave o delovanju eteričnega olja še niso bile narejene.

### Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Pregledali smo literaturne podatke za spojine, ki so v vzorcu prisotne v deležih, večjih od 2 %. To so limonen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen, germakren D, terpinen-4-ol in bornilacetat. Delovanja spojine germakren D v dostopni literaturi do sedaj še niso raziskovali.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32, 33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**$\alpha$ -Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobnno (<sup>18, 19, 20</sup>), antioksidativno (<sup>21, 22</sup>), protivnetno (<sup>23</sup>), gastroprotективno (<sup>24</sup>) in antinociceptivno (<sup>25</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**$\beta$ -Pinen:**  $\beta$ -pinen je v raziskavah deloval protimikrobnno (<sup>19</sup>), v kombinaciji z linaloolom antidepresivno (<sup>26</sup>) in antioksidativno (<sup>22</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Sabinen:** Dokazali so sinergistični učinek sabinena v kombinaciji z aminoglikozidi (<sup>60</sup>) in njegovo protimikrobnno delovanje (<sup>61</sup>). Povzetki raziskav so na str. 20.

**Terpinen-4-ol:** V raziskavi *in vitro* je spojina po 24-urni inkubaciji na kolorektalnih raka celičnih linijah inducirala apoptozo le teh. Zdrave celice so ostale nepoškodovane. Raziskovalci zaključujejo, da ima spojina potencial pri razvoju zdravil pri terapiji kolorektalnega raka (<sup>86</sup>). Terpinen-4-ol je po inkubaciji z monociti zmanjšal nastanek vnetnih mediatorjev (IL-8, IL-1b, TNFa, PGE2) (<sup>87</sup>). V odvisnosti od odmerka je na podganah, po intravenski aplikaciji, povzročil znižanje krvnega tlaka (<sup>88</sup>). Protiglivno delovanje spojine proti *Candida albicans* so raziskovalci dokazali *in vitro* (z ugotavljanjem minimalne inhibitorne koncentracije) in *in vivo* (z vaginalno aplikacijo spojine pri podganah z vaginalno infekcijo) (<sup>89</sup>).

**Bornilacetat:** Dokazali so, da ima bornilacetat protivnetno delovanje (<sup>27, 28</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

Ker delovanja eteričnega olja spojine še niso raziskali, povezav med delovanjem le tega in posameznih spojin nimamo. Glede na podatke o delovanju spojin sklepamo, da bi eterično olje lahko izkazovalo protimikrobnno delovanje, zlasti proti *Candida albicans*. Zanj bi bilo lahko odgovornih več spojin:  $\alpha$ -pinen (<sup>19, 20</sup>),  $\beta$ -pinen (<sup>19</sup>), sabinen (<sup>61</sup>) in terpinen-4-ol (<sup>89</sup>). Limonen deluje antidiabetično (<sup>34</sup>), holeretično (<sup>37</sup>), antioksidativno (<sup>35</sup>) in antihiperalgezivno (<sup>32</sup>),  $\beta$ -pinen pa antidepresivno (<sup>26</sup>). Terpinen-4-ol bi v eteričnem olju lahko izkazoval še protirakovo (<sup>86</sup>), protivnetno (<sup>87</sup>) in antihipertenzivno (<sup>88</sup>) delovanje.

### 5.7 *Hyptis emoryi*

Sestave eteričnega olja v dostopni literaturi do sedaj še niso raziskovali. V prilogi VII podajamo rezultate o sestavi analiziranega vzorca. Gre za zelo kompleksno sestavo, saj

smo v vzorcu identificirali 84 različnih spojin. Od tega jih je kar 67 prisotnih v vsebnosti, manjši od 1 %, vendar skupaj predstavlajo 19,3 % celotnega vzorca. V največjem deležu je v vzorcu prisoten  $\alpha$ -pinen (23,6 %), sledita limonen (14,7 %) in  $\beta$ -pinen (13,8 %). Sabinen je v vzorcu v vsebnosti 3,94 %, *p*-cimen v vsebnosti 3,65 %, spatulenol v vsebnosti 2,99 % in  $\alpha$ -tujen v vsebnosti 2,77 %. Spojine, ki so v vzorcu prisotne v vsebnostih med 1 in 2 %, so: kafra, bornilacetat,  $\alpha$ -kopaen, linalool,  $\beta$ -selinen,  $\delta$ -amorfen, kariofilenoksid, viridifloren, mirtenal in (*E*)-pinokarveol. Druge identificirane spojine so zastopane v deležih, manjših od 1 %.

### Pregled literturnih podatkov o delovanju eteričnega olja *Hyptis emoryi*

Raziskav, ki bi se neposredno nanašale na eterično olje rastline, ni. Prav tako ni veliko raziskav, ki bi raziskovale delovanje ekstraktov te rastline. V podatkovnih bazah je moč dobiti dve raziskavi, obe se nanašata na ekstrakt, pridobljen s kloroformom. V prvi so identificirali spojino, ki naj bi bila odgovorna za protitumorno delovanje ekstrakta, to je betulinska kislina<sup>90</sup>). Protitumorno delovanje ekstrakta so v drugi raziskavi proučevali *in vivo*. Podganam, ki so predstavljale tumorski model, so 15 dni intramuskularno aplicirali 400 ali 600 mg/kg ekstrakta. Odmerka sta inhibirala rast tumorja (Walkerjev karcinom SWA16) za 53 oz. 64 %<sup>91</sup>).

### Pregled literturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Za spojine, ki so v vzorcu prisotne v vsebnostih, večjih od 2 %, smo poiskali literaturne podatke o delovanju. To so  $\alpha$ -pinen, limonen,  $\beta$ -pinen, sabinen, *p*-cimen, spatulenol in  $\alpha$ -tujen. Za spojino  $\alpha$ -tujen delovanja do sedaj še niso raziskovali.

**$\alpha$ -Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobeno<sup>(18, 19, 20)</sup>, antioksidativno<sup>(21, 22)</sup>, protivnetno<sup>(23)</sup>, gastroprotективno<sup>(24)</sup> in antinociceptivno<sup>(25)</sup> delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno<sup>(32, 33)</sup>, antidiabetično<sup>(34)</sup>, protivnetno<sup>(35)</sup>, holeretično<sup>(37)</sup> in antioksidativno<sup>(35)</sup> delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov<sup>(36)</sup>. Povzetki raziskav so na str. 15.

**$\beta$ -Pinen:**  $\beta$ -Pinen je v raziskavah deloval protimikrobeno<sup>(19)</sup>, v kombinaciji z linaloolom antidepresivno<sup>(26)</sup> in antioksidativno<sup>(22)</sup>. Povzetki raziskav so na str. 14.

**Sabinen:** Dokazali so sinergistični učinek sabinena v kombinaciji z aminoglikozidi<sup>(60)</sup> in njegovo protimikrobeno delovanje<sup>(61)</sup>. Povzetki raziskav so na str. 20.

***p*-Cimen:** Spojini so dokazali antihiperalgejski in protivnetni učinek<sup>(70)</sup> ter antioksidativno<sup>(71)</sup>, antidiabetično<sup>(73)</sup> in protitumorno<sup>(72)</sup> delovanje. Povzetki raziskav so na str. 21.

**Spatulenol:** Z metodo DPPH so ugotovili, da ima spojina antioksidativni učinek, zmanjšala je rast in razvoj bakterij *Mycobacterium tuberculosis* (minimalna inhibitorna koncentracija je bila 231,9 µg/ml), pri miših je po peroralni aplikaciji zmanjšala nastanek vnetnih mediatorjev in edema, na človeške ovarijske tumorske celice je z inhibicijo rasti le teh delovala protitumorno (⁹²).

Zanesljivih povezav med delovanjem posameznih spojin in eteričnega olja, zaradi pomanjkanja raziskav, ki bi se nanašale na eterično olje, ne moremo najti. Ker je ekstrakt deloval protitumorno, bi se lahko ta učinek izrazil tudi pri eteričnem olju, saj so protitumorno delovanje dokazali za dve spojini: *p*-cimen (⁷²) in spatulenol (⁹²). Druge po vsebnosti vodilne spojine bi lahko prispevale k protimikrobnem delovanju ( $\alpha$ -pinen (¹⁹, ²⁰),  $\beta$ -pinen (¹⁹), sabinen (⁶¹) in spatulenol (⁹²)) eteričnega olja. Spatulenol ima še antioksidativno in protivnetno delovanje (⁹²), prav tako *p*-cimen (⁷⁰, ⁷¹), ki poleg tega deluje še antihiperalgezivno (⁷⁰) in antidiabetično (⁷³). Limonen deluje antidiabetično (³⁴), holeretično (³⁷) in antihiperalgezivno (³²).

## 5.8 Srebrna smreka (*Picea pungens*)

Eterično olje srebrne smreke (*Picea pungens*), glede na literaturne podatke, vsebuje največ limonena,  $\beta$ -pinena in  $\alpha$ -pinena. Podatki se nanašajo na eterično olje, pridobljeno iz semena in storža (⁹³). Pri analizi vzorca eteričnega olja srebrne smreke, pridobljenega iz veje, smo ugotovili (priloga VIII), da prihaja do razlik. Analizirani vzorec je vseboval največ limonena (29,0 %),  $\alpha$ -pinena (15,5 %), nato pa bornilacetata (11,6 %). Kamfen se je v vzorcu pojavil v vsebnosti 9,53 %,  $\Delta$ -3-karen v vsebnosti 6,57 %, mircen v vsebnosti 5,83 %, kafra v vsebnosti 5,03 %, šele nato je sledil  $\beta$ -pinen z vsebnostjo 3,87 %. 2,04 % je bilo evkaliptola. Z deleži med 1 in 2 % so bile v vzorcu prisotne še naslednje spojine: kamfenzidrat, terpinolen, borneol in triciklen. Najbolj izstopa vsebnost  $\beta$ -pinena. Tega je v analiziranem vzorcu precej manj, hkrati pa so v večjem deležu prisotne spojine bornilacetat, kamfen,  $\Delta$ -3-karen, mircen in kafra. V literaturnih podatkih se te spojine pojavijo v vsebnostih, manjših od 1 % (⁹³). Sklepamo lahko, da je vzrok za razliko v sestavi v različnem rastlinskem delu, iz katerega je bilo eterično olje pridobljeno.

## Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnega olja srebrne smreke (*Picea pungens*)

*In vitro* so raziskovalci dokazali protibakterijsko delovanje eteričnega olja proti bakterijam *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae*. Po 24-urni inkubaciji so bile vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij med 12 in 20 µl/ml. Najbolj učinkovito je eterično olje delovalo proti *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae* (⁹³). *In vitro* so raziskovalci odkrili tudi nevroprotективni učinek eteričnega olja. Mehanizem delovanja je preko inhibicije encima holinesteraze in antioksidativnih lastnosti, zato raziskovalci zaključujejo, da ima eterično olje potencial pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni (⁷⁹).

## Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Za spojine, ki so v vzorcu prisotne v vsebnostih, večjih od 2 % (limonen,  $\alpha$ -pinen, bornilacetat, kamfen,  $\Delta$ -3-karen, mircen, kafra,  $\beta$ -pinen in evkaliptol), smo poiskali literaturne podatke o delovanju.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32,33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**$\alpha$ -Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobnno (<sup>18,19,20</sup>), antioksidativno (<sup>21, 22</sup>), protivnetno (<sup>23</sup>), gastroprotективno (<sup>24</sup>) in antinociceptivno (<sup>25</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**Bornilacetat:** Dokazali so, da ima bornilacetat protivnetno delovanje (<sup>27, 28</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Kamfen:** Delovanje kamfena je protitumorno (<sup>31</sup>), antioksidativno in citoprotективno (<sup>29</sup>). Dokazali so tudi hipolipidemični učinek spojine (<sup>30</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**$\Delta$ -3-Karen:** V raziskavi so ugotovili, da spojina povzroča bronhokonstrikcijo (<sup>81</sup>). Povzetek raziskave je na str. 22.

**Mircen:** Mircen ima dokazano antioksidativno (<sup>83,85</sup>) in protivnetno (<sup>84</sup>) delovanje, njegovo protimikrobnno delovanje (<sup>83</sup>) je šibko. Povzetki raziskav so na str. 23.

**Kafra:** Kafra je v raziskavi *in vitro* zavrla rast in razvoj *C. albicans* (<sup>94</sup>).

**$\beta$ -Pinen:**  $\beta$ -Pinen je v raziskavah deloval protimikrobnno (<sup>19</sup>), v kombinaciji z linaloolom antidepresivno (<sup>26</sup>) in antioksidativno (<sup>22</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Evkaliptol (1,8-cineol):** Evkaliptol deluje dokazano protibakterijsko (<sup>66</sup>), protivnetno (<sup>68,69</sup>) in antioksidativno (<sup>69</sup>). Pri sočasnem zdravljenju astme z glukokortikoidi zmanjša potrebo po danih zdravilih in s tem neželene učinke (<sup>67</sup>). Povzetki raziskav so na str. 20.

$\alpha$ -Pinen in  $\beta$ -pinen imata dokazano protimikrobnno delovanje (<sup>19,20</sup>), protimikrobnno deluje tudi evkaliptol (<sup>66</sup>), kar je skladno z delovanjem eteričnega olja (<sup>93</sup>). Šibko protimikrobnno delovanje izkazuje tudi mircen (<sup>83</sup>). Kafra deluje protiglivno proti *Candida albicans* (<sup>94</sup>). Za antioksidativno delovanje eteričnega olja bi lahko bile odgovorne spojine  $\alpha$ -pinen (<sup>21</sup>), kamfen (<sup>29</sup>), mircen (<sup>83,85</sup>) in evkaliptol (<sup>69</sup>).

## 5.9 Pimentovec (*Pimenta dioica*)

Za eterično olje pimentovca je najbolj značilna spojina evgenol. Ta predstavlja večinski delež sestave, navadno je prisotna v vsebnosti, večji od 50 % (<sup>74</sup>). V analiziranem vzorcu eteričnega olja pimentovca, pridobljenega iz lista rastline, smo identificirali 38 spojin. Sestava vzorca je prikazana v prilogi IX. Največjo vsebnost v vzorcu ima pričakovano spojina evgenol. Njena vsebnost je 84,6 %. Sledi (*E*)-kariofilen v vsebnosti 6,11 % ter

evkaliptol v vsebnosti 2,59 % in  $\alpha$ -humulen v vsebnosti 1,82 %. Druge identificirane spojine so prisotne v vsebnostih, manjših od 1 %.

### **Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnega olja pimentovca (*Pimenta dioica*)**

Po pregledu podatkovnih baz smo našli le raziskave *in vitro*, ki proučujejo antioksidativno in protimikrobnno delovanje eteričnega olja. Eterično olje, pridobljeno iz lista rastline, se je izkazalo kot učinkovito pri odstranjevanju superoksidnega aniona in radikala DPPH. Vrednosti IC<sub>50</sub> so bile 36,67 µg/ml in 5,75 µg/ml. Raziskovalci zaključujejo, da ima eterično olje potencial kot naravni vir antioksidantov <sup>95</sup>). Na bakterijah *Escherichia coli* in *Propionibacterium acnes* je eterično olje delovalo protibakterijsko. Ugotovili so minimalne inhibitorne koncentracije, ki so bile med 2 in 8 mg/ml. Na kulturah *Aspergillus niger* in *Candida albicans* so opazili zmanjšano rast in razvoj, delovanje je bilo protiglivno. Eterično olje je v kombinaciji z antibiotikom gentamicinom, z izboljšanjem spektra aktivnosti antibiotika, povečalo njegov učinek. Antibiotik je postal občutljiv tudi na seva *Escherichia coli* in *Staphylococcus epidermidis* <sup>96</sup>). Dokazali so tudi protiglivno delovanje proti *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus flavus* in *Aspergillus fumigatus*. Koncentracije, ki so zavrele rast in razvoj teh mikroorganizmov, so bile med 0,5 in 0,7 µl/ml. Zaključujejo, da je eterično olje po učinkovitosti primerljivo z najbolj pogosto uporabljenimi sinteznimi fungicidi za zdravljenje glivičnih bolezni (mikoz) <sup>97</sup>).

### **Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin**

Za spojine, ki so v vzorcu eteričnega olja pimentovca prisotne v vsebnostih, večjih od 1 %, smo pregledali literaturne podatke o delovanju. To so evgenol, (E)-karofilén, evkaliptol in  $\alpha$ -humulen.

**Evgenol:** *In vitro* so raziskovalci ugotovili minimalno inhibitorno koncentracijo (MIC) spojine proti *Acinetobacter baumannii* ter vrednotili vpliv spojine na kolonizacijo te bakterije na človeških keratinocitih. Evgenol je v raziskavi zavrl rast in razvoj mikroorganizma, izkazal se je protimikroben učinek z vrednostjo MIC 4 mM. Prav tako je na celicah keratinocitov zmanjšal adhezijo bakterije in s tem tvorbo biofilma. Raziskovalci zaključujejo, da ima spojina potencial pri zdravljenju ran, okuženih z *Acinetobacter baumannii* <sup>98</sup>). *In vivo* zdravljenje miši z emulzijo evgenola v odmerku 75 mg/kg se je izkazalo kot učinkovito pri zdravljenju lišmanioz. Miši so bile okužene z lišmanijo *Leishmania donovani* <sup>99</sup>).

**(E)-Kariofilén:** Spojina ima protivnetni <sup>41</sup> in antikonvulzivni <sup>44</sup> učinek, deluje tudi antinociceptivno <sup>43</sup>). Dokazano stimulira sproščanje inzulina <sup>42</sup>). Povzetki raziskav so na str. 17.

**Evkaliptol (1,8-cineol):** Evkaliptol deluje dokazano protibakterijsko<sup>(66)</sup>, protivnetno<sup>(68, 69)</sup> in antioksidativno<sup>(69)</sup>. Pri sočasnem zdravljenju astme z glukokortikoidi zmanjša potrebo po danih zdravilih in s tem neželene učinke<sup>(67)</sup>. Povzetki raziskav so na str. 20.

**$\alpha$ -Humulen:** S poskusom na miših, ki so  $\alpha$ -humulen prejemale peroralno ali z inhalacijo, so dokazali protivnetni učinek spojine. Pri alergijskem vnetju dihalnih poti je spojina zmanjšala raven vnetnih dejavnikov (levkocitov, levkotriena B4, IL-5)<sup>(100)</sup>. *In vitro* je spojina delovala protirakavo, pri koncentraciji 32  $\mu\text{g}/\text{ml}$  je zaustavila rast 50 % rakavih celic (MCF-7). V kombinaciji z  $\beta$ -kariofilenom je bil učinek še močnejši, prišlo je do 75-odstotne inhibicije rasti testiranih rakavih celic<sup>(101)</sup>.

Evgenol in evkaliptol delujeta dokazano protimikrobeno<sup>(66, 98)</sup>, zato bi lahko bila odgovorna za protimikrobeno delovanje eteričnega olja<sup>(96)</sup>. Antioksidativno delovanje ima dokazano le spojina evkaliptol<sup>(69)</sup>. Sklepamo, da prispeva k antioksidativnemu učinku eteričnega olja<sup>(95)</sup>. Drugi dve proučevani spojini ne delujeta skladno z eteričnim oljem. (*E*)-Kariofilen ima protivnetno<sup>(41)</sup>, protbolečinsko<sup>(43)</sup> in antikonvulzivno<sup>(44)</sup> delovanje, stimulira pa tudi izločanje inzulina<sup>(42)</sup>. Protivnetno delovanje ima tudi spojina  $\alpha$ -humulen<sup>(100)</sup>, ki poleg omenjenega učinka izkazuje še protirakavo delovanje<sup>(101)</sup>.

## 5.10 Izbrane vrste *Pinus* sp.

Analizirali smo po dva vzorca koloradskega pinjona (*Pinus edulis*) in mehiškega belega bora (*Pinus strobus*). Pri obeh rastlinskih vrstah so en vzorec pridobili iz storža, drugega pa iz veje rastline. Vzorec rumenega bora (*Pinus ponderosa*) so pridobili iz veje. Podatki o vsebnosti spojin v analiziranih vzorcih so prikazani v prilogi X. V vzorcih koloradskega pinjona in mehiškega belega bora sta prevladujoči spojini  $\alpha$ -pinen z vsebnostmi od 18,3 do 64,3 % in  $\beta$ -pinen z vsebnostmi od 6,26 do 47,0 %, v vzorcu rumenega bora pa vodilnemu  $\alpha$ -pinenu z vsebnostjo 29,7 %, sledi  $\Delta$ -3-karen v vsebnosti 16,5 %.  $\Delta$ -3-Karen je v drugih vzorcih prisoten v razponu med 0,970 in 7,34 %. V vseh vzorcih je prisoten tudi mircen z vsebnostjo od 1,69 do 6,16 %. Do velikih razlik v vsebnosti prihaja pri limonenu, saj je v vzorcih prisoten v razponu med 0,990 in 20,1 %. Sledijo bornilacetat od 0,630 do 6,20 %, germakren D od 0,06 do 3,70 %, kamfen od 0,610 do 3,21 % in terpinolen od 0,100 do 2,25 %. V vzorcu koloradskega pinjona, pridobljenem iz storža, sta v deležih, večjih od 2 %, prisotna še etiloktanoat (3,20 %) in  $\beta$ -burbonen (2,58 %), v vzorcu, pridobljenem iz veje, pa  $\beta$ -felandren (5,76 %) in  $\Delta$ -kadinen (2,14 %). (*E*)-Kariofilen je v vzorcu rumenega bora prisoten v vsebnosti 3,69 %. Vzorec mehiškega belega bora, pridobljen iz storža, vsebuje 4,82 % sabinena, vzorec iz veje pa 3,72 %  $\beta$ -felandrena in 2,04 % timilmetiletra. Vse druge identificirane spojine so v vzorcih prisotne v deležih, manjših od 2 %, in so številne.

Glede na vsebnost vodilnih dveh spojin najbolj izstopa vzorec mehiškega belega bora, pridobljen iz veje. Je edini vzorec, ki vsebuje precej več  $\beta$ -pinena kot  $\alpha$ -pinena. Zanimiva je tudi primerjava vzorcev glede na vsebnost  $\beta$ -felandrena: izstopata vzorca koloradskega pinjona in mehiškega belega bora, oba pridobljena iz veje, ki ga vsebujeta 5,76 % oz. 3,72 %, medtem ko ga je v vzorcu koloradskega pinjona, iz storža, le 0,660 %, v drugih dveh

vzorcih pa ga nismo zaznali. Vzorec storža mehiškega belega bora izstopa po vsebnosti sabinena (4,82 %), vzorec rumenega bora pa po vsebnosti (*E*-kariofilena (3,69 %). Glede na identificirane spojine smo ugotovili, da se analizirani vzorci iste rastlinske vrste, pridobljeni iz različnega rastlinskega dela (veja/storž), močno razlikujejo v sestavi spojin z deležem, manjšim od 1 %.

### **Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnih olj koloradskega pinjona (*Pinus edulis*), rumenega bora (*Pinus ponderosa*) in mehiškega belega bora (*Pinus strobiiformis*)**

Delovanje eteričnega olja koloradskega pijona (*Pinus edulis*) in mehiškega belega bora (*Pinus strobiiformis*) do sedaj še ni bilo raziskano. Po pregledu podatkovnih baz nismo našli nobene raziskave, ki bi se nanašala na delovanje.

V raziskavi *in vitro* so raziskovalci ugotovili, da eterično olje rumenega bora (*Pinus ponderosa*) deluje protiglivno proti *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani* in *Fusarium poae*, saj je preprečilo rast testiranih gliv (<sup>102</sup>). *In vivo* so s poskusom na miših in podganah vrednotili antiestrogeno delovanje. Miši so odmerke prejemale peroralno, podgane pa subkutano. Povprečna masa maternice je bila, v primerjavi s kontrolno skupino, pri testiranih skupinah miši in podgan zmanjšana (<sup>103</sup>).

### **Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin**

Za spojine, ki so v vzorcu prisotne v deležih, večjih od 2 %, smo pregledali literaturne podatke o delovanju. Našli smo podatke za α-pinjen, β-pinjen, Δ-3-karen, limonen, mircen, bornilacetat, terpinolen, β-felandren, Δ-kadinen, (*E*)-kariofilen, kamfen, sabinen in timilmetileter. Delovanj spojin germakrena D, etiloktanoata in β-burbonena do sedaj še niso raziskovali.

**α-Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobeno (<sup>18, 19, 20</sup>), antioksidativno (<sup>21, 22</sup>), protivnetno (<sup>23</sup>), gastroprotективno (<sup>24</sup>) in antinociceptivno (<sup>25</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**β-Pinen:** β-Pinen je v raziskavah deloval protimikrobeno (<sup>19</sup>), v kombinaciji z linaloolom antidepresivno (<sup>26</sup>) in antioksidativno (<sup>22</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Δ-3-Karen:** V raziskavi so ugotovili, da spojina povzroča bronhokonstrikcijo (<sup>81</sup>). Povzetek raziskave je na str. 22.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32, 33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**Mircen:** Mircen ima dokazano antioksidativno (<sup>83, 85</sup>) in protivnetno (<sup>84</sup>) delovanje, njegovo protimikrobnlo delovanje (<sup>83</sup>) je šibko. Povzetki raziskav so na str. 23.

**Bornilacetat:** Dokazali so, da ima bornilacetat protivnetno delovanje (<sup>27, 28</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Terpinolen:** Spojina izkazuje antioksidativni učinek (<sup>82</sup>). Povzetek raziskave je na str. 22-23.

**β-Felandren:** V raziskavi *in vivo* so na miših dokazali, da izpostavljenost β-felandrenu v velikih odmerkih (2850 mg/kg, peroralno) povzroča toksičnost (poškodbe na genetskem nivoju) (<sup>38</sup>).

**Δ-Kadinen:** Spojina ima dokazano protirakavo (<sup>49</sup>) in akaricidno (<sup>50</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 18.

**(E)-Kariofilen:** Spojina ima protivnetni (<sup>41</sup>) in antikonvulzivni (<sup>44</sup>) učinek, deluje tudi antinociceptivno (<sup>43</sup>). Dokazano stimulira sproščanje inzulina (<sup>42</sup>). Povzetki raziskav so na str. 17.

**Kamfen:** Delovanje kamfena je protitumorno (<sup>31</sup>), antioksidativno in citoprotektivno (<sup>29</sup>). Dokazali so tudi hipolipidemični učinek spojine (<sup>30</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**Sabinen:** Dokazali so sinergistični učinek sabinena v kombinaciji z aminoglikozidi (<sup>60</sup>) in njegovo protimikrobnlo delovanje (<sup>61</sup>). Povzetki raziskav so na str. 20.

**Timilmetileter:** Spojina je izkazovala močno intracelularno antioksidativno sposobnost proti oksidativnemu stresu, povzročenemu s Cu<sup>2+</sup>. Uporabili so metodo DCFH-DA. Obseg intracelularnega oksidativnega stresa je bil pri celicah, predhodno tretiranih s timilmetiletrom (10–50 μM), zmanjšan. Učinek je bil odvisen od odmerka, ker spojina *in vitro* ni izkazovala antioksidativnih lastnosti, domnevajo, da sta za intracelularno aktivnosti ključna dober prehod spojine čez celične membrane in pretvorba v timol (<sup>104</sup>).

Povezav med delovanjem eteričnih olj in posameznih spojin, nismo našli. Glavni problem je neraziskanost delovanja eteričnih olj. Edini dokazani delovanji eteričnega olja rumenega bora sta antiestrogeno (<sup>103</sup>) in protiglivno (<sup>102</sup>) proti *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani* in *Fusarium poae*, vendar nobena od proučevanih posameznih spojin nima dokazanega skladnega delovanja. V vzorcih eteričnih olj prevladujoči spojini (α- in β-pinene), imata več različnih dokazanih delovanj. Protimikrobnlo (<sup>18, 19, 20</sup>) je skupno obema, poleg tega pa ima α-pinene še antioksidativno (<sup>21</sup>), antinociceptivno (<sup>25</sup>), protivnetno (<sup>21, 23</sup>) in gastoprotektivno (<sup>24</sup>) delovanje. Antioksidativno delujejo še limonen (<sup>35</sup>), kamfen (<sup>29</sup>), mircen (<sup>83, 85</sup>), terpinolen (<sup>82</sup>) in timilmetileter (<sup>104</sup>), protivnetno pa limonen (<sup>35</sup>), bornilacetat (<sup>27, 28</sup>) in (E)-kariofilen (<sup>41</sup>). Δ-kadinene ima dokazano protirakavo (<sup>49</sup>) delovanje. Antidiabetično delovanje limonena (<sup>34</sup>) bi lahko bilo v kombinaciji z (E)-kariofilenom še povečano, saj ta dokazano stimulira sproščanje inzulina iz β-celic trebušne slinavke (<sup>42</sup>).

## 5.11 Duglazija (*Pseudotsuga menziesii*)

V vzorcu eteričnega olja duglazije smo identificirali 37 spojin. Spojine in njihove vsebnosti v vzorcu so prikazane v prilogi XI. Z največjim deležem vsebnosti je v vzorcu prisoten bornilacetat (26,0 %), sledi kamfen (23,8 %) in nato  $\alpha$ -pinen (18,2 %). Limonen je v vzorcu v vsebnosti 9,67 %,  $\beta$ -pinen pa v vsebnosti 7,96 %. Med drugimi, po vsebnosti pomembnimi spojinami z deleži, večjimi od 1 %, so še: triciklen (3,32 %), santen (2,10 %), mircen (1,68 %),  $\Delta$ -3-karen (1,30 %) in borneol (1,17 %). Vse druge identificirane spojine so v vzorcu prisotne v deležih, manjših od 1 %.

### Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja duglazije (*Pseudotsuga menziesii*)

Eterično olje je v raziskavi *in vitro* delovalo protibakterijsko proti *Actinomyces bovis*. Raziskovalci so ugotovili minimalno inhibitorno koncentracijo 0,075 mg/ml (<sup>105</sup>).

### Pregled literarnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Za spojine, ki se v vzorcu eteričnega olja duglazije pojavljajo v deležih, večjih od 2 %, smo pregledali literarne podatke o delovanju. Raziskave smo našli za bornilacetat, kamfen,  $\alpha$ -pinen, limonen in  $\beta$ -pinen, delovanja triciklena in santena pa do sedaj še niso raziskovali.

**Bornilacetat:** Dokazali so, da ima bornilacetat protivnetno delovanje (<sup>27, 28</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Kamfen:** Delovanje kamfena je protitumorno (<sup>31</sup>), antioksidativno in citoprotektivno (<sup>29</sup>). Dokazali so tudi hipolipidemični učinek spojine (<sup>30</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**$\alpha$ -Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobeno (<sup>18, 19, 20</sup>), antioksidativno (<sup>21, 22</sup>), protivnetno (<sup>23</sup>), gastropotekativno (<sup>24</sup>) in antinociceptivno (<sup>25</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32, 33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**$\beta$ -Pinen:**  $\beta$ -Pinen je v raziskavah deloval protimikrobeno (<sup>19</sup>), v kombinaciji z linaloolom antidepresivno (<sup>26</sup>) in antioksidativno (<sup>22</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

Za nobeno od vodilnih proučevanih spojin nismo našli dokazanega specifičnega protibakterijskega delovanja proti *Actinomyces bovis*, zato nimamo neposredne primerjave med delovanjem eteričnega olja in posameznimi spojinami. Spojini  $\alpha$ -pinen in  $\beta$ -pinen imata sicer dokazan protimikrobeni učinek (<sup>18, 19, 20</sup>). Pri drugih spojinah ujemanja z delovanjem eteričnega olja nismo našli. Bornilacetat ima dokazano protivnetno delovanje

(<sup>27,28</sup>), kamfen pa antioksidativno (<sup>26</sup>), hipolipidemično (<sup>30</sup>) in protitumorno (<sup>31</sup>). Limonenu so v dosedanjih raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32,33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in protivnetno ter antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje.

## 5.12 Navadni rožmarin (*Rosmarinus officinalis*)

Podatki o sestavi analiziranega vzorca so prikazani v prilogi XII. Prevladujoča spojina v vzorcu je  $\alpha$ -pinen, z vsebnostjo 36,2 %, sledi pa ji evkaliptol (1,8-cineol) z vsebnostjo 23,8 %. Sledijo spojine, ki se v vzorcu pojavljajo v manjših deležih: kamfen (4,32 %), limonen (3,88 %), verbenon (3,07 %), borneol (2,87 %),  $\beta$ -pinen (2,24 %), kafra (2,19 %), (*E*)-kariofilen (2,19 %) ter linalool (2,00 %). Med pomembnejšimi spojinami po vsebnosti (večji od 1,5 %) sta v vzorcu prisotna še *p*-cimen (1,65 %) in mircen (1,55%). Druge identificirane spojine so v vzorcu prisotne v vsebnostih, manjših od 1,5 %.

Glede na rezultate analiz, pridobljene v magistrski nalogi, v kateri je avtorica analizirala eterična olja rožmarina iz različnih držav, ločimo tri kemotipe eteričnega olja rožmarina: španski, francoski in tunizijski (<sup>106</sup>). Naš vzorec ima največje ujemanje s francoskim kemotipom, za katerega je značilen verbenon. Vsebnost le tega je sicer v našem vzorcu nekoliko manjša (3,07 %, v francoskem pa 8,06 %). Prav tako je za dani kemotip značilen geraniol, ki se v vsebnosti 1,41 % pojavlja tudi v našem vzorcu. Glede na referenčni francoski vzorec (<sup>106</sup>) po vsebnosti v našem vzorcu najbolj odstopa evkaliptol (1,8-cineol). Njegova vsebnost je približno šestkrat večja (23,8 %) kot v francoskem (4,21 %). Več je tudi  $\beta$ -pinena (2,24 %, v francoskem pa 1,07 %) in (*E*)-kariofilena (2,19 %, v francoskem pa 0,280 %). Kamfena (4,32 %) je v primerjavi s francoskim vzorcem (6,34 %) manj.

## Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis*)

### Raziskave *in vitro/in vivo*

*In vitro* so raziskovalci raziskovali protitumorno delovanje. Po 72-urni inkubaciji je bila proliferacija rakavih celic občutno zmanjšana, prišlo je tudi do zmanjšane fosforilacije (in s tem aktivnosti) nekaterih encimov, ki uravnavajo celično rast. Koncentracija ekstrakta 2,5  $\mu$ g/ml je v primerjavi s kontrolno skupino zaustavila rast in razmnoževanje rakavih celic za  $84 \pm 7.1\%$  (<sup>107</sup>). Na *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* in *Aspergillus niger* so dokazali protimikrobnii učinek. Raziskovalci zaključujejo, da bi eterično olje rožmarina lahko bilo pomembno naravno protimikrobnno sredstvo v prehrambni in farmacevtski industriji (<sup>20</sup>).

*In vivo* so na podganah, ki so eterično olje prejemale intraperitonealno v odmerku 30 mg/kg, dokazali učinek pri hiperglikemiji, povzročeni z aloksanom. Hkrati je eterično olje s svojim antioksidativnim delovanjem delovalo zaščitno pred oksidativnim stresom v jetrih in ledvicah podgane (<sup>108</sup>). Šibek antihiperglikemični učinek so opazili v še eni raziskavi na

podganah, kjer so ugotavljeni učinek eteričnega olja na ravni holesterola v krvi. Intraperitonealno prejemanje eteričnega olja v odmerku 2,5 g/kg je povzročilo znižanje vrednosti celotnega holesterola v krvi (<sup>109</sup>). Na podganah so dokazali tudi hepatoprotективni učinek. Ugotavljeni so stopnjo poškodb DNK v primarnih hepatocitih po izpostavitvi različnim agensom, ki povzročajo oksidativni stres. Po 14 dneh prejemanja eteričnega olja se je stopnja poškodb hepatocitov zmanjšala (<sup>110</sup>).

### *Klinične raziskave*

Raziskovalci so dokazali antihipotenziven učinek eteričnega olja. Raziskava je potekala na 32 pacientih z diagnosticirano primarno hipotenzijo 68 tednov. Prvih 12 tednov so prejemali placebo, nato 44 tednov odmerke eteričnega olja rožmarina, zadnjih 12 tednov pa spet placebo. Odmerke so prejemali peroralno, po 1 ml na vsakih 8 ur. Izid, ki so ga spremljali, je bil krvni tlak. Zdravljenje z odmerki eteričnega olja rožmarina je pri pacientih povzročilo za 21,76 % večje vrednosti krvnega tlaka (sistoličnega in diastoličnega) v primerjavi z vrednostmi pred zdravljenjem. Tudi v tednih po končanem zdravljenju so vrednosti krvnega tlaka ostale večje, v povprečju za 3,7 % (<sup>111</sup>).

## **Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin**

V literaturnih virih smo pregledali raziskave, ki se nanašajo na delovanje spojin, ki so v vzorcu prisotne v vsebnostih, večjih od 2 % (α-pinen, evkaliptol, kamfen, limonen, verbenon, borneol, β-pinen, kafra, (E)-karifilen in linalool).

**α-Pinen:** Spojina ima dokazano protimikrobnno (<sup>18, 19, 20</sup>), antioksidativno (<sup>21, 22</sup>), protivnetno (<sup>23</sup>), gastroprotективno (<sup>24</sup>) in antinociceptivno (<sup>25</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 14.

**Evkaliptol (1,8-cineol):** Evkaliptol deluje dokazano protibakterijsko (<sup>66</sup>), protivnetno (<sup>68, 69</sup>) in antioksidativno (<sup>69</sup>). Pri sočasnem zdravljenju astme z glukokortikoidi zmanjša potrebo po danih zdravilih in s tem neželene učinke (<sup>67</sup>). Povzetki raziskav so na str. 20.

**Kamfen:** Delovanje kamfena je protitumorno (<sup>31</sup>), antioksidativno in citoprotektivno (<sup>26</sup>). Dokazali so tudi hipolipidemični učinek spojine (<sup>30</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**Limonen:** Spojini so v raziskavah dokazali antihiperalgezivno (<sup>32, 33</sup>), antidiabetično (<sup>34</sup>), protivnetno (<sup>35</sup>), holeretično (<sup>37</sup>) in antioksidativno (<sup>35</sup>) delovanje. Dokazali so tudi, da inhibira glikacijo proteinov (<sup>36</sup>). Povzetki raziskav so na str. 15.

**Verbenon:** V raziskavi *in vitro* je verbenon z zmernim delovanjem proti *Listeria monocytogenes* izkazoval protibakterijski učinek (<sup>112</sup>).

**Borneol:** Na podganah, ki so 28 dni peroralno prejemale odmerke borneola, je spojina izkazovala antiglikemični, antihiperlipidemični in antioksidativni učinek (<sup>113</sup>). Po peroralni aplikaciji je pri podganah induciralo jetrne encime. Izražanje in aktivnost encima CYP2B, sta bila značilno povečana (<sup>114</sup>). Na miših je povzročil antihiperalgezivni učinek.

Raziskovalci zaključujejo, da ima spojina potencial pri zdravljenju kronične bolečine (<sup>115</sup>). *In vitro* je na celicah nevronov izkazoval zaščitni učinek zaradi antioksidativnih lastnosti spojine (<sup>116</sup>). Dokazali so tudi protiglivno delovanje spojine proti *Candida albicans*, *in vitro*. *In vivo* je v kombinaciji z antimikrobnimi učinkovinami izkazoval sinergističen učinek (<sup>117</sup>).

**β-Pinen:** β-Pinen je v raziskavah deloval protimikrobno (<sup>19</sup>), v kombinaciji z linaloolom antidepresivno (<sup>26</sup>) in antioksidativno (<sup>22</sup>). Povzetki raziskav so na str. 14.

**Kafra:** Kafra je v raziskavi *in vitro* zavrla rast in razvoj *Candida albicans* (<sup>94</sup>).

**(E)-Kariofilen:** Spojina ima protivnetni (<sup>41</sup>) in antikonvulzivni (<sup>44</sup>) učinek, deluje tudi antinociceptivno (<sup>43</sup>). Dokazano stimulira sproščanje inzulina (<sup>42</sup>). Povzetki raziskav so na str. 17.

**Linalool:** Na podganah so raziskovalci žeeli dokazati protivnetno delovanje. Spremljali so zmanjšanje edema, povzočenega s karagenanom. Ugotovili so, da linalool izkazuje protivnetne učinke, ki so neodvisni od odmerka (<sup>118</sup>). V raziskavi na miših je linalool v kombinaciji z β-pinom deloval antidepresivno. Mišim so odmerke obeh spojin aplicirali intraperitonealno (100 mg/kg vsake spojine). Spojini sta v primerjavi s kontrolno spojino značilno zmanjšali čas imobilnosti miši (metoda FST). Mehanizem delovanja je vpletanje spojin v serotoninergični sistem (interakcija s postsinaptičnimi receptorji 5-HT1A (<sup>26</sup>)).

Našli smo kar nekaj povezav med delovanjem eteričnega olja in delovanjem posameznih spojin. Za protimikrobno delovanje (<sup>20</sup>) eteričnega olja bi lahko bilo odgovornih več spojin, sklepamo pa, da v največji meri α-pin je evkaliptol (1,8-cineol). Spojini namreč v vzorcu predstavljata velik delež sestave, njuno protimikrobno delovanje pa so dokazali v isti raziskavi kot protimikrobno delovanje eteričnega olja (<sup>20</sup>). Protimikrobno je deloval tudi β-pin (<sup>19</sup>), verbenon je deloval protibakterijsko proti *Listeria monocytogenes* (<sup>112</sup>), borneol in kafra pa protiglivno proti *Candida albicans* (<sup>117, 94</sup>). Za eterično olje so dokazali, da, med drugim, znižuje ravni glukoze in holesterola v krvi (<sup>108, 109</sup>). Podobne učinke so dokazali pri spojinah limonenu (antidiabetični in hipolipidemični učinek (<sup>34</sup>), holeretični učinek (<sup>37</sup>)), kamfenu (hipolipidemični učinek (<sup>30</sup>)) in borneolu (antiglikemični in antihiperlipidemični učinek (<sup>113</sup>)). Kamfen deluje protitumorno (<sup>31</sup>), kar se sklada z delovanjem eteričnega olja (<sup>107</sup>). Antioksidativno delovanje (<sup>108, 110</sup>) eteričnega olja bi lahko pripisali α-pinenu (<sup>21</sup>), evkaliptolu (<sup>69</sup>), kamfenu (<sup>26</sup>), limonenu (<sup>35</sup>) in borneolu (<sup>113</sup>). Na antioksidativnem učinku temelji tudi hepatoprotективno delovanje eteričnega olja (<sup>110</sup>), zato bi lahko imele te spojine tudi ugoden učinek na jetra. Limonen in borneol imata izražen še antihiperalgezijski (<sup>32, 33, 115</sup>), linalool pa antidepresivni (<sup>26</sup>) učinek, vendar povezav z delovanjem eteričnega olja nismo našli.

## 5.13 Muškatna kadulja (*Salvia sclarea*)

Za eterično olje muškatne kadulje sta najbolj značilni spojini linalilacetat in linalool. Njuna vsebnost se navadno giblje med 45 in 75 % (linalilacetat) ter 9 in 25 % (linalool). Druge pomembne značilne spojine, ki se pojavljajo v eteričnem olju, so germakren D (0,4 do 5

%),  $\alpha$ -terpineol (0,2 do 4,5 %), (*E*)-kariofilen (0,7 do 2,5 %) ter geraniol (0,2 do 2,5 %) (74).

Sestava analiziranega vzorca eteričnega olja muškatne kadulje je prikazana v prilogi XIII. Identificirali smo 23 spojin. Pričakovano je v vzorcu v največji vsebnosti prisoten linalilacetat. Njegova vsebnost je 79,3 %. Sledi linalool v vsebnosti 10,5 %. Germakren D je v vzorcu v vsebnosti 2,52 %,  $\alpha$ -terpineol v vsebnosti 1,40 % in (*E*)-geranilacetat v vsebnosti 1,39 %. Vse druge identificirane spojine so v vzorcu prisotne v vsebnostih, manjših od 1 %.

V večini spojin se analizirani vzorec dobro ujema z literurnimi podatki. Do večjih odstopanj prihaja pri vsebnostih  $\beta$ -kariofilena, geraniola in (*E*)-geranilacetata. (*E*)-Kariofilena je v analiziranem vzorcu manj (le 0,45 %). Geraniola v vzorcu nismo identificirali, je pa prisoten (*E*)-geranilacetat.

### **Pregled literarnih podatkov o delovanju eteričnega olja muškatne kadulje (*Salvia scarlea*)**

V raziskavi *in vitro* je eterično olje muškatne kadulje delovalo baktericidno in bakteriostazno. Učinka so dokazali na bakterijah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilus*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* in *Pseudomonas aeruginosa*. Mehanizem delovanja je poškodba celičnih membran in sprememba v prepustnosti celičnih membran bakterij (119). Na mišjih jetrnih celicah so raziskovalci ugotovili hepatoprotективno delovanje eteričnega olja. Učinek je bil odvisen od odmerka. Pri največjem odmerku (100 µg eteričnega olja na 30 g telesne mase miši) so imeli hepatociti normalno strukturo, odsotna sta bila tudi vnetje in nekroza celic. V isti raziskavi so opazili tudi citotoksično (IC<sub>50</sub> vrednost je bila 80.69 ± 0.01 µg/ml) in apoptočno delovanje (120).

*In vivo* so na podganah raziskovali antidepresivno delovanje eteričnega olja. Čas imobilnosti podgan pri preizkusu prisilnega plavanja je bil pri podganah, ki so odmerke eteričnega olja dobivale intraperitonealno ali z inhalacijo, značilno zmanjšan. Raziskovalci zaključujejo, da ima eterično olje potencial pri zdravljenju depresije (121). Z raziskavo *in vivo*, v kateri so raziskovalci zdravili podgane, izpostavljene stresu, so dokazali ugodni učinek eteričnega olja na srčno-žilni sistem. Podgane so odmerke prejemale intraperitonealno, v koncentracijah 5, 10 in 20 % (v/v). Krvni tlak, srčna frekvenca in raven kortikosterona so bili značilno zmanjšani (122).

### **Pregled literarnih podatkov o delovanju posameznih spojin**

Za spojine linalilacetat, linalool,  $\alpha$ -terpineol, germakren D in (*E*)-geranilacetat, ki so v vzorcu v vsebnostih večjih od 1 %, ter (*E*)-kariofilen, smo pregledali literurne podatke o delovanju. Germakrenu D in (*E*)-geranilacetatu delovanja do sedaj še niso raziskovali.

**Linalilacetat in linalool:** V raziskavi *in vivo* so raziskovalci dokazali, da linalilacetat odpravi celične poškodbe in popravi srčno-žilne spremembe, povzočene z nikotinom. Podganam, ki so odmerke linalilacetata prejemale intraperitonealno, so merili srčno frekvenco, krvni tlak, aktivnost encima laktat-dehidrogenaze (LDH), kontraktilnost žilja ter vrednosti dušikovega oksida (NO). Vrednosti vseh merjenih parametrov so bile značilno zmanjšane, zato raziskovalci zaključujejo, da spojina deluje zaščitno na žilje in srce (<sup>123</sup>). Na podganah so raziskovalci žeeli dokazati protivnetno delovanje. Spremljali so zmanjšanje edema, povzočenega s karagenanom. Ugotovili so, da linalilacetat izkazuje protivnetne učinke, ki so neodvisni od odmerka. Podoben učinek so dokazali tudi za linalool (<sup>118</sup>). V raziskavi na miših, je linalool v kombinaciji z β-pineno, deloval antidepresivno. Mišim so odmerke obeh spojin aplicirali intraperitonealno (100 mg/kg vsake spojine). Spojini sta v primerjavi s kontrolno spojino značilno zmanjšali čas imobilnosti miši (metoda FST). Mehanizem delovanja je vpletanje spojin v serotoninergični sistem (interakcija s postsinaptičnimi receptorji 5-HT1A (<sup>26</sup>)). Pri ljudeh, ki so bili podvrženi operaciji kolorektalnega raka, so po kasnejši odstranitvi urinarnega katetra dokazali, da je linalilacetat učinkovit pri lajšanju bolečine. Rezultate so vrednotili z vprašnikom bolečine (lestvica VAS) in z vprašnikom, ki meri simptome spodnjega urinarnega trakta (LUTS). Po inhalaciji linalilacetata so bile vrednosti značilno zmanjšane (<sup>124</sup>). Linalilacetat (350 µM) je v kombinaciji z limonenom (750 µM) deloval citotoksično na celice nevroblastoma (SH-SY5Y). Preživetje celic je bilo zmanjšano zaradi apoptoze in nekroze (<sup>125</sup>).

**α-Terpineol:** V raziskavah so α-terpineolu dokazali protivnetno (<sup>51</sup>), hipotenzivno (<sup>54</sup>), gastoprotektivno (<sup>55</sup>), protiglivno (<sup>53</sup>) in protibakterijsko (<sup>52</sup>) delovanje. Povzetki raziskav so na str. 18.

**(E)-Kariofilen:** Spojina ima protivnetni (<sup>41</sup>) in antikonvulzivni (<sup>44</sup>) učinek, deluje tudi antinociceptivno (<sup>43</sup>). Dokazano stimulira sproščanje inzulina (<sup>42</sup>). Povzetki raziskav so na str. 17.

Med delovanjem eteričnega olja in delovanjem posameznih spojin smo našli nekaj povezav. Sklepamo lahko, da je za zaščitno delovanje eteričnega olja na srčno-žilni sistem (<sup>122</sup>) v največji meri odgovoren linalilacetat. Dokazano namreč znižuje krvni tlak ter srčno frekvenco (<sup>123</sup>). Hipotenzivni učinek ima tudi α-terpineol (<sup>54</sup>). Ugoden vpliv na razvoj srčno-žilnih bolezni bi lahko imel tudi (E)-kariofilen, saj stimulira sproščanje inzulina in s tem uravnava vrednosti sladkorja v krvi (<sup>42</sup>). Vlogo pri hepatoprotektivnem delovanju eteričnega olja (<sup>120</sup>) bi lahko imele spojine linalilacetat in linalool (<sup>118</sup>) ter α-terpineol (<sup>51</sup>) in (E)-kariofilen (<sup>41</sup>), ki delujejo dokazano protivnetno. Linalilacetat (<sup>124</sup>) in β-kariofilen (<sup>43</sup>) imata dokazano še protiblečinsko delovanje. Za antidepresivno (<sup>121</sup>) delovanje eteričnega olja bi lahko bil odgovoren linalool, saj v kombinaciji z β-pineno (ta je v deležu 0,05 % prisoten tudi v našem vzorcu), deluje dokazano antidepresivno (<sup>26</sup>). Za protibakterijsko (<sup>119</sup>) delovanje eteričnega olja nismo našli spojin, ki bi izkazovale enak učinek.

## 5.14 Vetiver (*Vetiveria zizanioides*)

Za eterično olje vetiverja so, glede na literaturne podatke, značilne naslednje spojine: (*E*)-izovalencenol (11 %), kušimol (9,1 %),  $\alpha$ -vetivon (5,6 %),  $\beta$ -vetivon (3,9 %), vetiselinol (3,6 %), (*Z*)-6-evdesmen-12-ol (3,2 %) in  $\alpha$ -izonootkatol (3,2 %). Vsebuje tudi številne značilne spojine, katerih vsebnosti so med 1 in 2 %. To so:  $\alpha$ -kadinol, spirovetiva-3,7(11)-dien-12-ol,  $\beta$ -vetivenen,  $\alpha$ -amorfen, (*Z*)-6-evdezmen-11-ol, ciklokopakamfanol B, zizanojska kislina, ciklokopakamfanol A in (*E*)-izovalencenal (<sup>74</sup>).

Sestava analiziranega vzorca je prikazana v prilogi XIV. V največji vsebnosti je v vzorcu prisoten kušimol (15,5 %), sledi mu izomer izovalencenola (9,89 %).  $\gamma$ -Kostol je prisoten v vsebnosti 5,79 %, izomer epikubenola v vsebnosti 5,52 %, vetiselinol v vsebnosti 4,84 %. Sledita  $\alpha$ -vetivon in  $\beta$ -vetivon, v vsebnostih 3,35 % ter 3,25 %. Vsebnost kadin-4-en-10-ola je 3,20 %, evdez-7(11)-en-4-ola pa 2,19 %. Z deležem med 1 in 2 % so v vzorcu prisotne še spojine epi-zizanon (1,63 %),  $\beta$ -epi-bisabolol (1,18 %), kušimon (1,12 %) in  $\beta$ -vetivenen (1,11 %).

Pričakovano sta v analiziranem vzorcu po vsebnosti vodilni spojini kušimol in izomer izovalencenola. Kušimol je sicer prisoten v nekoliko večjem deležu. Vsebnost  $\beta$ -vetivona dobro sovpada z literaturnimi podatki, delež  $\alpha$ -vetivona pa je v analiziranem vzorcu manjši. Zanimivo je, da v vzorcu nismo identificirali (*Z*)-6-evdesmen-12-ola in  $\alpha$ -izonootkatola. Analizirani vzorec odstopa tudi v vsebnosti  $\gamma$ -kostola (5,79 %), ki ga v literaturnih podatkih ne zasledimo. Vzorec se razlikuje tudi v spojinah, ki so prisotne v manjših deležih (med 1 in 2 %).

### Pregled literaturnih podatkov o delovanju eteričnega olja vetiverja (*Vetiveria zizanioides*)

*In vivo* so z raziskavo na podganah ugotovili, da eterično olje vetiverja povečuje budnost. Podgane so bile izpostavljene enourni inhalaciji eteričnega olja, ki je zmanjšala čas faze globokega spanca in povečala budnost podgan (<sup>126</sup>). V raziskavah na miših, ki so odmerke prejemale peroralno, so raziskovalci dokazali antikonvulzivno (<sup>127</sup>) (blaženje krčev) in anksiolizno (<sup>128</sup>) (blaženje strahu) delovanje, vendar so uporabili etanolni ekstrakt vetiverja.

Z raziskavo, ki je potekala *in vitro*, na melanomskih celicah, so ugotovili, da eterično olje izkazuje močno antioksidativno aktivnost pri procesu lipidne peroksidacije in zmanjšuje nastajanje melanina v melanomskih celicah, stimuliranih z alfa melanocite stimulirajočim hormonom ( $\alpha$ -MSH) (<sup>129</sup>). Eterično olje vetiverja je izkazovalo aktivnost proti bakterijam *Staphylococcus Aureus* in *Escherichia Coli* (<sup>130</sup>). Protimikrobeno delovanje, zlasti proti *Candida albicans*, so dokazali tudi za metanolni ekstrakt vetiverja (<sup>131</sup>). Etanolni ekstrakt je, z zaviranjem razvoja in rasti bakterije *Mycobacterium tuberculosis*, izkazoval potencialno antituberkulozno aktivnost (<sup>132</sup>).

## Pregled literaturnih podatkov o delovanju posameznih spojin

Literaturne podatke o delovanju smo našli le za vodilni spojini kušimol in  $\beta$ -vetivenen; slednji je v vzorcu prisoten v deležu, manjšem od 2 %. Za vse preostale spojine, ki so v vzorcu v deležih, večjih od 2 %, to so izovalencenol,  $\gamma$ -kostol, izomer epikubenola, vetiselinol,  $\alpha$ -vetivon,  $\beta$ -vetivon, kadin-4-en-10-ol in evdezm-7(11)-en-4-ol, delovanja do sedaj še niso raziskovali.

**Kušimol:** Z ugotavljanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) spojine so raziskovalci dokazali, da spojina izkazuje zmerno aktivnost proti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Rhizopus* sp., *Candida albicans*, *Microsporum canis* in *Microsporum gypseum*. Vrednosti MIC so bile med 250 in 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (<sup>131</sup>).

**$\beta$ -Vetivenen:** Z metodo DPPH so ugotovili, da  $\beta$ -vetivenen deluje antioksidativno (<sup>133</sup>).

Zaradi pomanjkanja raziskav o delovanju posameznih spojin je povezave med delovanjem eteričnega olja in posameznih spojin težko najti. Za protimikrobnno delovanje proti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Rhizopus* sp., *Candida albicans*, *Microsporum canis* in *Microsporum gypseum* bi lahko bila odgovorna spojina kušimol (<sup>131</sup>), antioksidativno delovanje eteričnega olja (<sup>129</sup>) pa lahko pripisemo spojini  $\beta$ -vetivenenu (<sup>133</sup>).

## 5.15 Povzetek dokazanih učinkov proučevanih eteričnih olj in spojin

V preglednici 2 predstavljamo povzetek dokazanih učinkov proučevanih eteričnih olj in spojin, ki jih ta eterična olja vsebujejo v največjih deležih, ter smo jih podrobnejše opisali v posameznih podpoglavljih.

Sestava eteričnega olja, pridobljenega iz iste rastlinske vrste, je lahko zelo raznolika. Razlike v sestavi so povezane z geografskimi področji, na katerih dana vrsta uspeva, s starostjo rastline, rastlinskim delom, iz katerega je eterično olje pridobljeno (npr. veja, listi, stebla), časom nabiranja rastline in metodo pridobivanja (<sup>46</sup>).

Za določena eterična olja poznamo značilne spojine, ki se pojavljajo v njihovi sestavi, vendar večine spojin zaradi variabilnosti njihove vsebnosti ne moremo uporabiti kot kmetotaksonomske označevalce (to so značilne spojine, ki se pojavijo le pri določeni vrsti). Številne spojine se pojavljajo v eteričnih oljih več (različnih) rastlinskih vrst. Kot primer lahko navedemo spojino  $\alpha$ -pinen, ki se je v vsebnosti, večji od 2 %, pojavila v 14 (od skupno 20) analiziranih vzorcih.

V skladu z literaturnimi podatki, posamezne spojine lahko dokazano delujejo podobno kot eterična olja, katerih del so, vendar smo v naši raziskavi pokazali, da večina proučevanih spojin izraža še drugačna delovanja, ki jih za eterična olja (še) niso dokazali. Zanimiv je primer protivnetnega delovanja spojin. V preglednici 2 je jasno razvidno, da imajo številne proučevane spojine dokazan protivnetni učinek, vendar nobeno od proučevanih eteričnih olj ne deluje dokazano protivnetno. Poleg tega se delovanja eteričnih olj pogosto

razlikujejo od delovanj posameznih spojin. Primer je eterično olja vetiverja, ki deluje dokazano antikonvulzivno, čeprav nobena od posameznih spojin eteričnega olja nima dokazanega antikonvulzivnega učinka.

Povzamemo lahko, da na podlagi dokazanega delovanja spojin ne moremo sklepati na delovanje eteričnega olja in obratno. Pomemben prvi razlog za slednjo trditev je, da imamo za povezave med delovanji spojin in eteričnih olj na voljo premalo raziskav. Hkrati pa moramo izpostaviti še ugotovitev, da moramo na delovanje eteričnega olja gledati kot na celoto, in sicer zaradi pojava sinergističnega delovanja kemijskih spojin. To ugotovitev lahko podkrepimo z vzorcem eteričnega olja koloradske jelke, za katerega smo ugotovili, da je protimikrobnna aktivnost celotnega eteričnega olja (minimalne inhibitorne koncentracije so bile med 26 µl/ml in 30 µl/ml<sup>(17)</sup>) močnejša od protimikrobnih aktivnosti posameznih spojin v eteričnem olju ( $\alpha$ -pinena in  $\beta$ -pinena, minimalne inhibitorne koncentracije so bile med 6,25 µg/ml in 117 µg/ml<sup>(19, 20)</sup>).

Preglednica 2: Dokazana delovanja proučevanih eteričnih olj in po vsebnostih prevladujočih spojin.

		Protomikrobrovno <sup>1</sup>	Antioksidativno <sup>1</sup>	Protitumorno <sup>1</sup>	Antihiperglykemično in antihiperlipidemično <sup>2</sup>	Antidepresivno <sup>2</sup>	Antikonvulzivno <sup>2</sup>	Protivnetno <sup>1</sup>
<b>Eterično olje koloradske jelke</b>		+	-	-	-	-	-	-
Spojine	$\alpha$ -pinen	+	+	-	-	-	-	+
	$\beta$ -pinen	+	+	-	-	+	-	-
	bornilacetat	-	-	-	-	-	-	+
	kamfen	-	+	+	+ (hipolipidemično)	-	-	-
	limonen	-	+	-	+	-	-	+
	$\beta$ -felandren	-	-	-	-	-	-	-
<b>Eterično olje Lawsonove paciprese</b>		+	-	-	-	-	-	-
Spojine	$\Delta$ -kadinen	-	-	+	-	-	-	-
	$\alpha$ -terpineol	+	-	-	-	-	-	+
	citroneacetat	-	-	-	-	-	-	-
	citroneol	-	-	-	+ (antihiperglykemično)	-	-	-
<b>Eterično olje Croton linearis</b>		-	-	-	-	-	-	-
Spojine	sabinen	+	-	-	-	-	-	-
	limonen	-	+	-	+	-	-	+
	$\alpha$ -pinen	+	+	-	-	-	-	+
	$\gamma$ -terpinen	+	-	-	-	-	-	+
	evkaliptol	+	+	-	-	-	-	+
	p-cimen	-	+	+	+	-	-	+
<b>Eterično olje prave ciprese</b>		+	+	-	-	-	-	-
Spojine	$\alpha$ -pinen	+	+	-	-	-	-	+
	$\Delta$ -3-karen	-	-	-	-	-	-	-
	terpinolen	-	+	-	-	-	-	-
	mircen	-	+	-	-	-	-	-
	limonen	-	+	-	+	-	-	+
<b>Eterično olje srebrne smreke</b>		+	+	-	-	-	-	

Spojine	limonen	-	+	-	+	-	-	+
	$\alpha$ -pinen	+	+	-	-	-	-	+
	bornilacetat	-	-	-	-	-	-	+
	kamfen	-	+	+	+ (hipolipidemično)	-	-	-
	$\Delta$ -3-karen	-	-	-	-	-	-	-
	mircen	-	+	-	-	-	-	-
	kafra	+	-	-	-	-	-	-
	$\beta$ -pinen	+	+	-	-	+	-	-
	evkaliptol	+	+	-	-	-	-	+
	<b>Eterično olje pimentovca</b>	+	+	-	-	-	-	-
Spojine	evgenol	+	-	-	-	-	-	-
	(E)-kariofilen	-	-	-	+ <sup>1</sup> (povećuje izločanje inzulina)	-	+	+ <sup>1,2</sup>
	evkaliptol	+	+	-	-	-	-	+
	$\alpha$ -humulen	-	-	+	-	-	-	+ <sup>2</sup>
<b>Eterično olje rumenega bora</b>		+	-	-	-	-	-	-
Spojine	$\alpha$ -pinen	+	+	-	-	-	-	+
	$\beta$ -pinen	+	+	-	-	+	-	-
	$\Delta$ -3-karen	-	-	-	-	-	-	-
	limonen	-	+	-	+	-	-	+
	mircen	-	+	-	-	-	-	-
	bornilacetat	-	-	-	-	-	-	+
	terpinolen	-	+	-	-	-	-	-
	$\beta$ -felandren	-	-	-	-	-	-	-
	$\Delta$ -kadinen	-	-	+	-	-	-	-
	(E)-kariofilen	-	-	-	+ <sup>1</sup> (povećuje izločanje inzulina)	-	+	+ <sup>1,2</sup>
	kamfen	-	+	+	+ (hipolipidemično)	-	-	-
	sabinen	+	-	-	-	-	-	-
<b>Eterično olje duglazije</b>		+	-	-	-	-	-	-
Spojine	bornilacetat	-	-	-	-	-	-	+
	kamfen	-	+	+	+ (hipolipidemično)	-	-	-
	$\alpha$ -pinen	+	+	-	-	-	-	+
	limonen	-	+	-	+	-	-	+

	β-pinен	+	+	-	-	+	-	-
<b>Eterično olje navadnega rožmarina</b>		+	+	+	+	-	-	-
Spojine	α-pinen	+	+	-	-	-	-	+
	evkaliptol	+	+	-	-	-	-	+
	kamfen	-	+	+	+ (hipolipidemično)	-	-	-
	limonen	-	+	-	+	-	-	+
	verbenon	+	-	-	-	-	-	-
	borneol	+	+	-	+	-	-	-
	β-pinen	+	+	-	-	+	-	-
	kafra	+	-	-	-	-	-	-
	(E)-kariofilen	-	-	-	+ <sup>1</sup> (povečuje izločanje inzulina)	-	+	+ <sup>1,2</sup>
<b>Eterično olje muškatne kadulje</b>	linalool	-	-	-	-	+	-	+ <sup>2</sup>
		+	-	-	-	+	-	-
Spojine	linalilacetat	-	-	+	-	-	-	+ <sup>2</sup>
	linalool	-	-	-	-	+	-	+ <sup>2</sup>
	α-terpineol	+	-	-	-	-	-	+
	(E)-kariofilen	-	-	-	+ <sup>1</sup> (povečuje izločanje inzulina)	-	+	+ <sup>1,2</sup>
<b>Eterično olje vetiverja</b>		+	+	-	-	-	+	-
Spojine	kušimol	+	-	-	-	-	-	-
	β-vetivenen	-	+	-	-	-	-	-
<b>Eterično olje skalne jelke, praprotnolistne ambrozije, koloradskega pinjona, mehiškega belega bora, <i>Ericameria paniculata</i> in <i>Hyptis emoryi</i></b>		Raziskav o delovanju eteričnih olj še niso naredili.						

<sup>1</sup>Raziskava *in vitro*

<sup>2</sup>Raziskava *in vivo*

<sup>3</sup>Klinična raziskava

## 6 SKLEPI

V okviru magistrske naloge smo z metodo GC-MS analizirali vzorce eteričnih olj izbranih avtohtonih rastlinskih vrst iz Arizone, ZDA. Na podlagi dobljenih podatkov o sestavi smo primerjali eterična olja rastlinskih vrst iz istega rodu in eterična olja iste rastlinske vrste, pridobljena iz različnih rastlinskih delov, ter podatke analize primerjali z literurnimi podatki o sestavi posameznih eteričnih olj. Potrdili smo, da so eterična olja zelo kompleksne zmesi, saj posamezni vzorci vsebujejo tudi več kot 80 identificiranih spojin. Kompleksnost sestave dodatno potrjujejo tudi spojine, ki so ostale neidentificirane in so bile prisotne v vzorcih. Od identificiranih spojin je navadno štiri do pet vodilnih, ki se v vzorcih pojavljajo v vsebnostih, večjih od 10 %, vse druge pa so prisotne v manjših deležih. Številne spojine so prisotne v deležih, manjših od 0,5 %.

Za vzorce eteričnih olj rastlinskih vrst iz istega rodu smo ugotovili, da se na vodilnih mestih glede na vsebnost pojavljajo enake spojine. Do razlik prihaja v njihovih koncentracijah. Večje razlike v sestavi se pojavljajo pri spojinah, ki so v vzorcih prisotne v manjših vsebnostih. Sestava le teh se lahko močno razlikuje. Eterična olja iste rastlinske vrste, pridobljena iz različnih rastlinskih delov, se razlikujejo zlasti v sestavi spojin z deleži, manjšimi od 10 %.

S sistematičnim pregledom znanstvenih podatkovnih baz (ScienceDirect, PubMed) smo skušali pridobiti čim več podatkov o raziskavah delovanja *in vitro*, *in vivo* in kliničnega delovanja, ki se nanašajo na delovanja eteričnih olj in posameznih spojin. Pri pregledu delovanja posameznih spojin smo se osredotočili na tiste, ki jih eterična olja vsebujejo največ. Ugotovili smo, da so proučevana eterična olja in njihove spojine večinoma slabo raziskani, zato težko povezujemo delovanje posameznih spojin z delovanjem celotnega eteričnega olja.

Največ raziskav smo našli za eterično olje navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis*) in muškatne kadulje (*Salvia scarlea*). Obe rastlini sta iz družine ustnatic (Lamiaceae) in sta razširjeni tudi v Sredozemlju, kjer ju zelo pogosto gojijo. Poleg tega smo za eterično olje navadnega rožmarina ugotovili največ različnih delovanj: protitumorno, protimikrobeno, antihiperglikemično, antioksidativno, hepatoprotektivno, antihiperholisterolemično in antihipotenzivno.

Delovanje drugih proučevanih eteričnih olj je v splošnem zelo slabo raziskano, zato povezovanje delovanja posameznih spojin z delovanjem eteričnega olja ni zanesljivo. Največ povezav smo našli pri eteričnem olju navadnega rožmarina. Ugotovili smo, da bi za protimikrobeno in antioksidativno delovanje lahko bili odgovorni spojini  $\alpha$ -pinen in 1,8-cineol, za protitumorno delovanje kamfen, za zniževanje ravni glukoze in holesterola v krvi pa bi lahko bile odgovorne spojine limonen, kamfen in borneol. Spojina, ki se je najpogosteje pojavljala v vzorcih (čeprav gre za tako različne rastlinske vrste), je bil  $\alpha$ -pinen. Ker ima med vsemi identificiranimi spojinami  $\alpha$ -pinen največ dokazanih učinkov, ki

se ujemajo z dokazanimi delovanji eteričnih olj, smo mu pripisali številne povezave. Njegovo delovanje je dokazano protimikrobnno, protivnetno, antioksidativno, antinociceptivno in gastroprotektivno.

Ugotovili smo, da imajo posamezne spojine lahko podobno delovanje kot eterična olja, katerih del so, vendar večina proučevanih spojin, pri katerih so na voljo *in vitro/in vivo* ali klinični podatki, izraža še drugačna delovanja, ki jih pri eteričnih oljih nismo našli. Tudi delovanja eteričnih olj se glede na *in vitro/in vivo* in klinične podatke pogosto razlikujejo od delovanj posameznih spojin. Le na podlagi vsebnosti posameznih spojin v eteričnem olju torej ne moremo z gotovostjo sklepati na delovanje eteričnega olja kot celote. Določena kemijska spojina sicer lahko farmakološko deluje na tkiva, organe in s tem na primer na hormonski in živčni sistem, vendar sklepamo, da k delovanju celotnega eteričnega olja pripomore sinergija vseh kemijskih spojin v določenem eteričnem olju. Vsekakor pa so za boljše poznavanje delovanja eteričnih olj in njihovo terapevtsko uporabo nujne še nadaljnje *in vitro, in vivo* ter klinične raziskave.

## 7 LITERATURA

1. Galle-Toplak K. Zdravilne rastline na Slovenskem. *Mlad Knj Ljubljana*. 2000;23-24.
2. Cook C, Lanaras T. Essential Oils: Isolation, Production and Uses. *Ref Modul Food Sci Encycl Food Heal*. 2016;552-557.
3. Buchbauer G, Wallner IM. Essential Oils: Properties, Composition and Health Effects. *Ref Modul Food Sci Encycl Food Heal*. 2016;558-562.
4. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446-475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106
5. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. *Principles of Instrumental Analysis*. 6th editio. Thomson Brooks/Cole; 2007.
6. <http://swbiodiversity.org/seinet/ident/key.php?cl=1&proj=1&taxon>All+Species>.
7. <http://www.conifers.org/>.
8. <http://www.sustainablebabysteps.com/white-fir-essential-oil.html>.
9. <http://www.nizj.si/sl/cipresovke-cupressaceae>.
10. Nelson G. *The Shrubs and Woody Vines of Florida: A Reference and Field Guide*. Pineapple Press Inc; 1996.
11. Diets T. *Floriography Today: The Symbolic Meanings & The Possible Powers of Trees*. Independent Publishing Platform; 2012.
12. [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=1&taxon\\_id=250066531](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=250066531).
13. [https://en.wikipedia.org/wiki/Blue\\_spruce](https://en.wikipedia.org/wiki/Blue_spruce).
14. <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?kempercode=d449>.
15. European Medicines Agency - Committee on Herbal Medicinal Products. Community herbal monograph on Rosmarinus officinalis L., aetheroleum. 2011;44(July 2010):0-5.
16. McCreath Badal S, Delgoda R. *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategies*. Academic Press; 2017.
17. Wajs-Bonikowska A, Szoka L, Karna E, Wiktorowska-Owczarek A, Sienkiewicz M. Abies concolor seeds and cones as new source of essential oils-composition and biological activity. *Molecules*. 2017;22(11):1-12. doi:10.3390/molecules22111880
18. Khouaja W, Oliveira R, Raies A, Dias ACP. Antifungal activity of the essential oils from Cupressus arizonica var. arizonica and var. glabra. *Ind Crops Prod*. 2015;77:614-623. doi:10.1016/j.indcrop.2015.08.026
19. Rivas da Silva AC, Lopes PM, Barros de Azevedo MM, Costa DCM, Alviano CS, Alviano DS. Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. *Molecules*. 2012;17(6):6305-6316. doi:10.3390/molecules17066305
20. Jiang Y, Wu N, Fu YJ, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2011;32(1):63-68. doi:10.1016/j.etap.2011.03.011
21. Bouzenna H, Hfaiedh N, Giroux-Metges MA, Elfeki A, Talarmin H. Potential protective effects of alpha-pinene against cytotoxicity caused by aspirin in the IEC-6 cells. *Biomed Pharmacother*. 2017;93:961-968. doi:10.1016/j.biopharm.2017.06.031
22. Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ. Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components. *Food Chem*. 2008;108(3):1019-1022. doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.046
23. Zhou J, Tang F, Mao G, Bian R. Effect of alpha-pinene on nuclear translocation of NF-kappa B in THP-1 cells. *Acta Pharmacol Sin*. 2004;25(4):480-484.
24. Pinheiro M. a, Magalhães RM, Torres DM, et al. Gastroprotective effect of alpha-pinene and its correlation with antiulcerogenic activity of essential oils obtained from Hyptis species. *Pharmacogn Mag*. 2015;11:123-130. doi:10.4103/0973-1296.149725
25. Him A, Ozbek H, Turel I, Oner AC. Antinociceptive activity of alpha-pinene and fenchone. *Pharmacologyonline*. 2008;3:363-369.
26. Guzmán-Gutiérrez SL, Bonilla-Jaime H, Gómez-Cansino R, Reyes-Chilpa R. Linalool and  $\beta$ -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. *Life Sci*. 2015;128:24-29. doi:10.1016/j.lfs.2015.02.021
27. Yang H, Zhao R, Chen H, Jia P, Bao L, Tang H. Bornyl acetate has an anti-inflammatory effect in human chondrocytes via induction of IL-11. *IUBMB Life*. 2014;66(12):854-859. doi:10.1002/iub.1338
28. Chen N, Sun G, Yuan X, et al. Inhibition of lung inflammatory responses by bornyl acetate is correlated with regulation of myeloperoxidase activity. *J Surg Res*. 2014;186(1):436-445.

- doi:10.1016/j.jss.2013.09.003
29. Tiwari M, Kakkar P. Plant derived antioxidants - Geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress. *Toxicol Vitr.* 2009;23(2):295-301. doi:10.1016/j.tiv.2008.12.014
30. Vallianou I, Peroulis N, Pantazis P, Hadzopoulou-Cladaras M. Camphene, a plant-derived monoterpene, reduces plasma cholesterol and triglycerides in hyperlipidemic rats independently of HMG-CoA reductase activity. *PLoS One.* 2011;6(11). doi:10.1371/journal.pone.0020516
31. Girola N, Figueiredo CR, Farias CF, et al. Camphene isolated from essential oil of *Piper cernuum* (Piperaceae) induces intrinsic apoptosis in melanoma cells and displays antitumor activity in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;467(4):928-934. doi:10.1016/j.bbrc.2015.10.041
32. Piccinelli AC, Morato PN, dos Santos Barbosa M, et al. Limonene reduces hyperalgesia induced by gp120 and cytokines by modulation of IL-1  $\beta$  and protein expression in spinal cord of mice. *Life Sci.* 2017;174:28-34. doi:10.1016/j.lfs.2016.11.017
33. Piccinelli AC, Santos JA, Konkiewitz EC, et al. Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene, alpha-phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a neuropathic pain model. *Nutr Neurosci.* 2015;18(5):217-224. doi:10.1179/1476830514Y.0000000119
34. Bacanlı M, Anlar HG, Aydin S, et al. D-limonene ameliorates diabetes and its complications in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol.* 2017;110:434-442. doi:10.1016/j.fct.2017.09.020
35. Suh KS, Chon S, Choi EM. Limonene protects osteoblasts against methylglyoxal-derived adduct formation by regulating glyoxalase, oxidative stress, and mitochondrial function. *Chem Biol Interact.* 2017;278(September):15-21. doi:10.1016/j.cbi.2017.10.001
36. Joglekar MM, Bavkar LN, Sistla S, Arvindekar AU. Effective inhibition of protein glycation by combinatorial usage of limonene and aminoguanidine through differential and synergistic mechanisms. *Int J Biol Macromol.* 2017;99:563-569. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.02.104
37. Hu G, Yuan X, Zhang S, et al. Research on choleric effect of menthol, menthone, pluegone, isomenthone, and limonene in DanShu capsule. *Int Immunopharmacol.* 2015;24(2):191-197. doi:10.1016/j.intimp.2014.12.001
38. Cheng Z, Jiang J, Yang X, et al. The research of genetic toxicity of  $\beta$ -phellandrene. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017;54(March):28-33. doi:10.1016/j.etap.2017.06.011
39. Robles-Zepeda RE, Velázquez-Contreras CA, Garibay-Escobar A, Gálvez-Ruiz JC, Ruiz-Bustos E. Antimicrobial Activity of Northwestern Mexican Plants Against *Helicobacter pylori*. *J Med Food.* 2011;14(10):1280-1283. doi:10.1089/jmf.2010.0263
40. Coronado-Aceves EW, Velázquez C, Robles-Zepeda RE, et al. Reynosin and santamarine: two sesquiterpene lactones from Ambrosia confertiflora with bactericidal activity against clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Pharm Biol.* 2016;54(11):2623-2628. doi:10.3109/13880209.2016.1173067
41. Zhang Z, Yang C, Dai X, Ao Y, Li Y. Inhibitory effect of trans-caryophyllene (TC) on leukocyte-endothelial attachment. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017;329:326-333. doi:10.1016/j.taap.2017.06.016
42. Suijun W, Zhen Y, Ying G, Yanfang W. A role for trans-caryophyllene in the moderation of insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;444(4):451-454. doi:10.1016/j.bbrc.2013.11.136
43. Paula-Freire LIG, Andersen ML, Gama VS, Molska GR, Carlini ELA. The oral administration of trans-caryophyllene attenuates acute and chronic pain in mice. *Phytomedicine.* 2014;21(3):356-362. doi:10.1016/j.phymed.2013.08.006
44. Oliveira CC de, Oliveira CV de, Grigoletto J, et al. Anticonvulsant activity of  $\beta$ -caryophyllene against pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy Behav.* 2016;56:26-31. doi:10.1016/j.yebeh.2015.12.040
45. Govindarajan M, Benelli G. Eco-friendly larvicides from Indian plants: Effectiveness of lavandulyl acetate and bicyclogermacrene on malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2016;133:395-402. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.07.035
46. Palá-Paúl J, Usano-Alemany J, Granda E, Soria A-C. Antifungal and antibacterial activity of the essential oil of *Chamaecyparis lawsoniana* from Spain. *Nat Prod Commun.* 2012;7(10):1383-1386. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23157017>.
47. Smith ECJ, Williamson EM, Wareham N, Kaatz GW, Gibbons S. Antibacterials and modulators of bacterial resistance from the immature cones of *Chamaecyparis lawsoniana*. *Phytochemistry.* 2007;68(2):210-217. doi:10.1016/j.phytochem.2006.10.001
48. Craig AM, Karchesy JJ, Blythe LL, González-Hernández MDP, Swan LR. Toxicity studies on western juniper oil (*Juniperus occidentalis*) and Port-Orford-cedar oil (*Chamaecyparis lawsoniana*)

- extracts utilizing local lymph node and acute dermal irritation assays. *Toxicol Lett.* 2004;154(3):217-224. doi:10.1016/j.toxlet.2004.08.004
49. Hui L-M, Zhao G-D, Zhao J-J.  $\delta$ -Cadinene inhibits the growth of ovarian cancer cells via caspase-dependent apoptosis and cell cycle arrest. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(6):6046-6056. www.ijcep.com.
50. Guo X, Shang X, Li B, Zhou XZ, Wen H, Zhang J. Acaricidal activities of the essential oil from Rhododendron nivale Hook. f. and its main compound,  $\delta$ -cadinene against Psoroptes cuniculi. *Vet Parasitol.* 2017;236:51-54. doi:10.1016/j.vetpar.2017.01.028
51. Nogueira MNM, Aquino SG, Rossa C, Spolidorio DMP. Terpinen-4-ol and alpha-terpineol (tea tree oil components) inhibit the production of IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10 on human macrophages. *Inflamm Res.* 2014;63(9):769-778. doi:10.1007/s00011-014-0749-x
52. Oyedemi SO, Okoh A I, Mabinya L V, Pirochenva G, Afolayan A J. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, -terpineol and  $\gamma\gamma\gamma\gamma$ -terpinene against Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes, Proteus vulgaris and Escherichia coli. *African J Biotechnol.* 2009;8(7):1280-1286. doi:10.4314/ajb.v8i7.60106
53. Zhou H, Tao N JL. Antifungal activity of citral, octanal and  $\alpha$ -terpineol against Geotrichum citri-aurantii. *Food Control.* 2013;37:277-283.
54. Ribeiro TP, Porto DL, Menezes CP, et al. Unravelling the cardiovascular effects induced by alpha-terpineol: a role for the nitric oxide-cGMP pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010;37(8):811-816. doi:10.1111/j.1440-1681.2010.05383.x
55. Souza R, Cardoso M, Menezes C, Silva J, De Sousa D, Batista J. Gastroprotective activity of alpha-terpineol in two experimental models of gastric ulcer in rats. *Daru.* 2011;19(4):277-281.
56. Rios ERV, Rocha NFM, Carvalho AMR, et al. TRP and ASIC channels mediate the antinociceptive effect of citronellyl acetate. *Chem Biol Interact.* 2013;203(3):573-579. doi:10.1016/j.cbi.2013.03.014
57. De Oliveira Pereira F, Mendes JM, Lima IO, De Lira Mota KS, De Oliveira WA, De Oliveira Lima E. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against Trichophyton rubrum involves inhibition of ergosterol biosynthesis. *Pharm Biol.* 2015;53(2):228-234. doi:10.3109/13880209.2014.913299
58. Srinivasan S, Muruganathan U. Antidiabetic efficacy of citronellol, a citrus monoterpene by ameliorating the hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chem Biol Interact.* 2016;250:38-46. doi:10.1016/j.cbi.2016.02.020
59. Alexander IC, Pascoe KO, Manchard P, Williams LAD. An insecticidal diterpene from Croton linearis. *Phytochemistry.* 1991;30(6):1801-1803. doi:[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)85016-S](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)85016-S)
60. Matias EFF, Alves EF, Silva MKN, et al. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of Cordia verbenacea DC (Boraginaceae) and the sabinene. *Ind Crops Prod.* 2016;87:45-53. doi:10.1016/j.indcrop.2016.04.028
61. Vimal A, Pal D, Tripathi T, Kumar A. Eucalyptol, sabinene and cinnamaldehyde: potent inhibitors of salmonella target protein l-asparaginase. *3 Biotech.* 2017;7(4). doi:10.1007/s13205-017-0891-6
62. Rebeca Rivera-Yáñez C, Ignacio Terrazas L, Jimenez-Estrada M, et al. Anti-candida activity of bursera morelensis ramirez essential oil and two compounds,  $\alpha$ -pinene and  $\gamma$ -terpinene-an in vitro study. *Molecules.* 2017;22(12). doi:10.3390/molecules22122095
63. Miladi H, Zmantar T, Koudhi B, et al. Synergistic effect of eugenol, carvacrol, thymol, p-cymene and  $\gamma$ -terpinene on inhibition of drug resistance and biofilm formation of oral bacteria. *Microb Pathog.* 2017;112:156-163. doi:10.1016/j.micpath.2017.09.057
64. Ramalho TRDO, Pacheco De Oliveira MT, Lima ALDA, Bezerra-Santos CR, Piuvezam MR. Gamma-Terpinene Modulates Acute Inflammatory Response in Mice. *Planta Med.* 2015;81(14):1248-1254. doi:10.1055/s-0035-1546169
65. De Brito Passos FF, Lopes EM, De Araújo JM, et al. Involvement of Cholinergic and Opioid System in  $\gamma$ -Terpinene-Mediated Antinociception. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2015;2015. doi:10.1155/2015/829414
66. Moghimi R, Aliahmadi A, Rafati H. Ultrasonic nanoemulsification of food grade trans-cinnamaldehyde: 1,8-Cineol and investigation of the mechanism of antibacterial activity. *Ultrason Sonochem.* 2017;35:415-421. doi:10.1016/j.ulsonch.2016.10.020
67. Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Repges R, Vetter H. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: A double-blind placebo-controlled trial. *Respir Med.* 2003;97(3):250-256. doi:10.1053/rmed.2003.1432
68. Juergens UR, Engelen T, Racké K, Stöber M, Gillissen A, Vetter H. Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes. *Pulm Pharmacol Ther.* 2004;17(5):281-287. doi:10.1016/j.pupt.2004.06.002

69. Kennedy-Feitosa E, Okuro RT, Pinho Ribeiro V, et al. Eucalyptol attenuates cigarette smoke-induced acute lung inflammation and oxidative stress in the mouse. *Pulm Pharmacol Ther.* 2016;41:11-18. doi:10.1016/j.pupt.2016.09.004
70. De Santana MF, Guimarães AG, Chaves DO, et al. The anti-hyperalgesic and anti-inflammatory profiles of p-cymene: Evidence for the involvement of opioid system and cytokines. *Pharm Biol.* 2015;53(11):1583-1590. doi:10.3109/13880209.2014.993040
71. De Oliveira TM, De Carvalho RBF, Da Costa IHF, et al. Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant. *Pharm Biol.* 2015;53(3):423-428. doi:10.3109/13880209.2014.923003
72. Li J, Liu C, Sato T. Novel Antitumor Invasive Actions of &lt;&gt;p&lt;/i&gt;-Cymene by Decreasing MMP-9/TIMP-1 Expression Ratio in Human Fibrosarcoma HT-1080 Cells. *Biol Pharm Bull.* 2016;39(8):1247-1253. doi:10.1248/bpb.b15-00827
73. Lotfi P, Yaghmaei P, Ebrahim-Habibi A. Cymene and Metformin treatment effect on biochemical parameters of male NMRI mice fed with high fat diet. *J Diabetes Metab Disord.* 2015;14(1):4-8. doi:10.1186/s40200-015-0182-x
74. Janeš D, Kočevar Glavač N. *Sodobna Kozmetika, Sestavine Naravnega Izvora.* Širimo dobro besedo; 2015.
75. Selim SA, Adam ME, Hassan SM, Albalawi AR. Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *BMC Complement Altern Med.* 2014;14(1):1-8. doi:10.1186/1472-6882-14-179
76. Mothana R, Gruenert R, Bednarski PJ, Lindequist U. Evaluation of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant activities of some Yemeni plants used in folk medicine. *Pharmazie.* 2009;64(4):260-268. doi:10.1691/ph.2009.8789
77. Tapondjou AL, Adler C, Fontem DA, Bouda H, Reichmuth C. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J Stored Prod Res.* 2005;41(1):91-102. doi:10.1016/j.jspr.2004.01.004
78. Alkofahi AS, Alzoubi KH, Khabour OF, Mhaidat NM. Screening of selected medicinal plants from Jordan for their protective properties against oxidative DNA damage. *Ind Crops Prod.* 2016;88:106-111. doi:10.1016/j.indcrop.2016.02.059
79. Senol FS, Orhan IE, Ustun O. In vitro cholinesterase inhibitory and antioxidant effect of selected coniferous tree species. *Asian Pac J Trop Med.* 2015;8(4):269-275. doi:10.1016/S1995-7645(14)60329-1
80. Koriem KMM, Gad IB, Nasiry ZK. Protective effect of *Cupressus sempervirens* extract against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Interdiscip Toxicol.* 2015;8(1):25-34. doi:10.1515/intox-2015-0006
81. Lastbom L, Boman A, Camner P, Ryrfeldt A. Does airway responsiveness increase after skin sensitisation to 3-carene: a study in isolated guinea pig lungs. *Toxicology.* 1998;125(1):59-66. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9585101](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9585101).
82. Turkez H, Aydin E, Geyikoglu F, Cetin D. Genotoxic and oxidative damage potentials in human lymphocytes after exposure to terpinolene in vitro. *Cytotechnology.* 2015;67(3):409-418. doi:10.1007/s10616-014-9698-z
83. Donati M, Mondin A, Chen Z, et al. Radical scavenging and antimicrobial activities of *Croton zehntneri*, *Pterodon emarginatus* and *Schinopsis brasiliensis* essential oils and their major constituents: estragole, trans-anethole, beta-caryophyllene and myrcene. *Nat Prod Res.* 2015;29(10):939-946. doi:10.1080/14786419.2014.964709
84. Rufino AT, Ribeiro M, Sousa C, et al. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. *Eur J Pharmacol.* 2015;750:141-150. doi:10.1016/j.ejphar.2015.01.018
85. Baykalir Burcu GI, Osman CI, Aslı III C, Mustafa Namık OI, Türkmen Neşe B V, Professor I. The protective cardiac effects of B-myrcene after global cerebral ischemia/reperfusion in C57BL/J6 mouse Design of the study. The protective cardiac effects of B-myrcene after global cerebral ischemia/reperfusion in C57BL/J6 mouse. *Acta Cirúrgica Bras.* 2016;31(317):2016-2457. doi:10.1590/S0102-865020160070000005
86. Nakayama K, Murata S, Ito H, et al. Terpinen-4-ol inhibits colorectal cancer growth via reactive oxygen species. *Oncol Lett.* 2017;14(2):2015-2024. doi:10.3892/ol.2017.6370
87. Hart PH, Brand C, Carson CF, Riley T V., Prager RH, Finlay-Jones JJ. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res.* 2000;49(11):619-626. doi:10.1007/s000110050639

88. Lahlou S, Interaminense LFL, Leal-Cardoso JH, Duarte GP. Antihypertensive effects of the essential oil of Alpinia zerumbet and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2003;17(3):323-330.
89. Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of Melaleuca alternifolia Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic Candida species. *BMC Infect Dis.* 2006;6:1-8. doi:10.1186/1471-2334-6-158
90. Sheth K, Jolad S, Wiedhopf R, Cole JR. Tumor-Inhibitory Agent from Hyptis emoryi ( Labiateae ). 1972;61(11):1972.
91. Alonso-Castro AJ, Villarreal ML, Salazar-Olivo LA, Gomez-Sanchez M, Dominguez F, Garcia-Carranca A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *J Ethnopharmacol.* 2011;133(3):945-972. doi:10.1016/j.jep.2010.11.055
92. do Nascimento KF, Moreira FMF, Alencar Santos J, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of Psidium guineense Sw. and spathulenol. *J Ethnopharmacol.* 2018;210(May 2017):351-358. doi:10.1016/j.jep.2017.08.030
93. Wajs-Bonikowska A, Szoka Ł, Karna E, Wiktorowska-Owczarek A, Sienkiewicz M. Composition and Biological Activity of Picea pungens and Picea orientalis Seed and Cone Essential Oils. *Chem Biodivers.* 2017;14(3). doi:10.1002/cbdv.201600264
94. Manoharan RK, Lee JH, Lee J. Antibiofilm and antihyphal activities of cedar leaf essential oil, camphor, and fenchone derivatives against Candida albicans. *Front Microbiol.* 2017;8(AUG):1-12. doi:10.3389/fmicb.2017.01476
95. Padmakumari Amma KP, Rani M, Sasidharan I, M Sreekumar M. Comparative Chemical Composition and in Vitro Antioxidant Activities of Essential Oil Isolated from the Leaves of *Cinnamomum Tamala* and *Pimenta Dioica*. Vol 27.; 2012. doi:10.1080/14786419.2012.668691
96. Aumeeruddy-Elalfi Z, Gurib-Fakim A, Mahomoodally F. Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius. *Ind Crops Prod.* 2015;71:197-204. doi:10.1016/j.indcrop.2015.03.058
97. Zabka M, Pavela R, Slezakova L. Antifungal effect of *Pimenta dioica* essential oil against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Ind Crops Prod.* 2009;30(2):250-253. doi:10.1016/j.indcrop.2009.04.002
98. Karumathil DP, Surendran-nair M, Venkitanarayanan K. Efficacy of Trans -cinnamaldehyde and Eugenol in Reducing *Acinetobacter baumannii* Adhesion to and Invasion of Human Keratinocytes and Controlling Wound Infection In Vitro. 2016;2059(August):2053-2059. doi:10.1002/ptr.5713
99. Islamuddin M, Chouhan G, Want MY, Ozbak HA, Hemeg HA, Afrin F. Immunotherapeutic Potential of Eugenol Emulsion in Experimental Visceral Leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10(10):1-23. doi:10.1371/journal.pntd.0005011
100. Rogerio AP, Andrade EL, Leite DFP, Figueiredo CP, Calixto JB. Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene  $\alpha$ -humulene in experimental airways allergic inflammation. *Br J Pharmacol.* 2009;158(4):1074-1087. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00177.x
101. Legault J, Pichette A. Potentiating effect of  $\beta$ -caryophyllene on anticancer activity of  $\alpha$ -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *J Pharm Pharmacol.* 2007;59(12):1643-1647. doi:10.1211/jpp.59.12.0005
102. Krauze-Baranowska M, Mardarowicz M, Wiwart M, Poblocka L, Dynowska M. Antifungal Activity of the Essential Oils from Some Species of the Genus *Pinus*. *Zeitschrift für Naturforsch C.* 2002;57(5-6). doi:10.1515/znc-2002-5-613
103. Yellow IN. ANTI-OESTROGENIC ACTIVITY IN YELLOW PINE NEEDLES ( *PINUS PONDEROSA* ) By.
104. Phi KCT, Kim GN, Jang HD. In vitro and intracellular antioxidant capacity of thymol methyl ether as a major component in *Blumea lanceolaria* (Roxb.) Druce leaf oil. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(5):1583-1588. doi:10.1016/j.fct.2012.01.047
105. Johnston WH, Karchesy JJ, Constantine GH, Craig M. Antimicrobial activity of some Pacific Northwest woods against anaerobic bacteria and yeast. *Phytother Res.* 2001;15(November 1999):586-588. doi:10.1002/ptr.765
106. Merc N. *Analiza Eteričnih Olj Izbranih Vrst Ustnatic (Lamiaceae).*; 2017.
107. Moore J, Megaly M, MacNeil AJ, Klentrou P, Tsiani E. Rosemary extract reduces Akt/mTOR/p70S6K activation and inhibits proliferation and survival of A549 human lung cancer cells. *Biomed Pharmacother.* 2016;83:725-732. doi:10.1016/j.biopharm.2016.07.043
108. Selmi S, Rtibi K, Grami D, Sebai H, Marzouki L. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil components exhibit anti-hyperglycemic, anti-hyperlipidemic and antioxidant effects in experimental

- diabetes. *Pathophysiology*. 2017;24(4):297-303. doi:10.1016/j.pathophys.2017.08.002
109. Eissa FA, Choudhry H, Abdulaal WH, et al. Possible Hypocholesterolemic Effect of Ginger and Rosemary Oils in Rats. *African J Tradit Complement Altern Med AJTCAM*. 2017;14(4):188-200. doi:10.21010/ajtcam.v14i4.22
110. Horváthová E, Slameňová D, Navarová J. Administration of rosemary essential oil enhances resistance of rat hepatocytes against DNA-damaging oxidative agents. *Food Chem*. 2010;123(1):151-156. doi:10.1016/j.foodchem.2010.04.022
111. Fernández LF, Palomino OM, Frutos G. Effectiveness of Rosmarinus officinalis essential oil as antihypotensive agent in primary hypotensive patients and its influence on health-related quality of life. *J Ethnopharmacol*. 2014;151(1):509-516. doi:10.1016/j.jep.2013.11.006
112. Scollard J, McManamon O, Schmalenberger A. Inhibition of Listeria monocytogenes growth on fresh-cut produce with thyme essential oil and essential oil compound verbenone. *Postharvest Biol Technol*. 2016;120:61-68. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.05.005
113. Kodikonda M, Naik PR. Ameliorative effect of borneol, a natural bicyclic monoterpenoid against hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Biomed Pharmacother*. 2017;96(September):336-347. doi:10.1016/j.biopha.2017.09.122
114. Chen J ya, Huang X tao, Wang J jun, Chen Y. In vivo effect of borneol on rat hepatic CYP2B expression and activity. *Chem Biol Interact*. 2017;261:96-102. doi:10.1016/j.cbi.2016.11.024
115. Jiang J, Shen YY, Li J, Lin YH, Luo CX, Zhu DY. (+)-Borneol alleviates mechanical hyperalgesia in models of chronic inflammatory and neuropathic pain in mice. *Eur J Pharmacol*. 2015;757:53-58. doi:10.1016/j.ejphar.2015.03.056
116. Liu R, Zhang L, Lan X, et al. Protection by borneol on cortical neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion: Involvement of anti-oxidation and anti-inflammation through nuclear transcription factor kappaB signaling pathway. *Neuroscience*. 2011;176:408-419. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.11.029
117. Liu Y, Zhao Y, Guo D, Liu W, Liu Y. Synergistic Antimicrobial Activity of Berberine Hydrochloride, Baicalein and Borneol against Candida albicans. *Chinese Herb Med*. 2017;9(4):353-357. doi:10.1016/S1674-6384(17)60115-1
118. Peana AT, D'Aquila PS, Panin F, Serra G, Pippia P, Moretti MDL. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*. 2002;9(8):721-726. doi:10.1078/094471102321621322
119. Cui H, Zhang X, Zhou H, Zhao C, Lin L. Antimicrobial activity and mechanisms of Salvia sclarea essential oil. *Bot Stud*. 2015;56. doi:10.1186/s40529-015-0096-4
120. Durgha H, Thirugnanasampandan R, Ramya G, Ramanth MG. Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression (iNOS) and cytotoxic activity of Salvia sclarea L. essential oil. *J King Saud Univ - Sci*. 2016;28(4):390-395. doi:10.1016/j.jksus.2015.11.001
121. Seol GH, Shim HS, Kim PJ, et al. Antidepressant-like effect of Salvia sclarea is explained by modulation of dopamine activities in rats. *J Ethnopharmacol*. 2010;130(1):187-190. doi:10.1016/j.jep.2010.04.035
122. Yang HJ un., Kim KY oun., Kang P, Lee HS u., Seol GH e. Effects of Salvia sclarea on chronic immobilization stress induced endothelial dysfunction in rats. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14:396. doi:10.1186/1472-6882-14-396
123. Kim JR, Kang P, Lee HS, Kim KY, Seol GH. Cardiovascular effects of linalyl acetate in acute nicotine exposure. *Environ Health Prev Med*. 2017;22(1):1-7. doi:10.1186/s12199-017-0651-6
124. Yu SH, Seol GH. Lavandula angustifolia Mill. Oil and Its Active Constituent Linalyl Acetate Alleviate Pain and Urinary Residual Sense after Colorectal Cancer Surgery: A Randomised Controlled Trial. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2017;2017. doi:10.1155/2017/3954181
125. Russo R, Ciociaro A, Berliocchi L, et al. Implication of limonene and linalyl acetate in cytotoxicity induced by bergamot essential oil in human neuroblastoma cells. *Fitoterapia*. 2013;89(1):48-57. doi:10.1016/j.fitote.2013.05.014
126. Cheaha D, Issuriya A, Manor R, Kwangjai J, Rujiralai T, Kumarnsit E. Modification of sleep-waking and electroencephalogram induced by vetiver essential oil inhalation. *J Intercult Ethnopharmacol*. 2016;5(1):72. doi:10.5455/jice.20160208050736
127. Gupta R, Sharma KK, Afzal M, et al. Anticonvulsant activity of ethanol extracts of *Vetiveria zizanioides* roots in experimental mice. *Pharm Biol*. 2013;51(12):1521-1524. doi:10.3109/13880209.2013.799710
128. Nirwane A, Gupta P, Shet J, Patil S. Anxiolytic and nootropic activity of *Vetiveria zizanioides* roots in mice. *J Ayurveda Integr Med*. 2015;6(3):158. doi:10.4103/0975-9476.146548
129. Peng HY, Lai CC, Lin CC, Chou ST. Effect of *Vetiveria zizanioides* essential oil on melanogenesis

- in melanoma cells: Downregulation of tyrosinase expression and suppression of oxidative stress. *Sci World J.* 2014;2014. doi:10.1155/2014/213013
130. Hammer KA, Carson CF, Riley T V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol.* 1999;86(6):985-990. doi:10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x
131. Dos Santos DS, Oberger JV, Niero R, et al. Seasonal phytochemical study and antimicrobial potential of *Vetiveria zizanioides* roots. *Acta Pharm.* 2014;64(4):495-501. doi:10.2478/acph-2014-0040
132. Saikia D, Parveen S, Gupta VK, Luqman S. Anti-tuberculosis activity of Indian grass KHUS (*Vetiveria zizanioides* L. Nash). *Complement Ther Med.* 2012;20(6):434-436. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ctim.2012.07.010>
133. Kim HJ, Chen F, Xi W, Hau YC, Jin Z. Evaluation of antioxidant activity of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents. *J Agric Food Chem.* 2005;53(20):7691-7695. doi:10.1021/jf050833e

## 8 PRILOGE

Priloga I: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcih eteričnih olj rastlinskih vrst iz rodu *Abies*. Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.

Ime spojin	Vsebnost (relativni % površine)		
	<i>A. concolor</i> (koloradska jelka)	<i>A. lasiocarpa</i> var. <i>arizonica</i> (skalna jelka)	<i>A. lasiocarpa</i> var. <i>lasiocarpa</i> (skalna jelka)
heks-(3Z)-enol	-	-	0,0500
santen	-	0,530	0,850
triciklen	0,550	1,52	1,43
$\alpha$ -tujen	0,0900	-	-
$\alpha$ -pinen	17,1	11,6	7,13
kamfen	4,74	16,9	15,5
sabinen	0,0800	-	-
$\beta$ -pinen	42,6	22,5	16,3
mircen	2,16	0,440	0,590
$\alpha$ -felandren	0,190	0,0700	0,130
$\Delta$ -3-karen	2,64	0,250	0,210
$\alpha$ -terpinen	0,0700	-	0,0500
<i>p</i> -cimen	0,170	0,0500	0,0600
limonen	4,42	5,39	12,9
$\beta$ -felandren	6,11	3,72	4,32
$\beta$ -( <i>Z</i> )-ocimen	0,410	-	-
$\beta$ -( <i>E</i> )-ocimen	0,300	-	-
$\gamma$ -terpinen	0,160	0,0700	0,0700
terpinolen	0,480	0,310	0,280
heptilmetylketon	0,210	-	-
fennon	-	-	0,0900
linalool	0,230	0,0700	0,0900
( <i>Z,p</i> )-ment-2-en-1-ol	-	-	0,0700
( <i>E,p</i> )-ment-2-en-1-ol	-	-	0,0500
undekan	0,140	-	-
fenthilalkohol	0,0700	-	-
$\alpha$ -kamfolenaldehid	0,0500	-	-
( <i>E</i> )-pinokarveol	0,0400	-	-
kamfenzidrat	0,610	-	-
pinokarvon	0,0500	-	-
kafra	-	0,0600	0,0700
borneol	0,150	0,830	0,550
terpinen-4-ol	0,210	-	0,0400
$\alpha$ -terpineol	0,640	0,210	0,170
dekanal	0,100	-	-
fenthilacetat	0,440	-	0,110
citronelol	0,270	-	0,0900
timilmetylter	0,120	-	0,880
karvotanaceton	-	-	0,110
karvakrilmetileter	-	0,0500	-
metilcitronelat	-	0,130	0,190
izopulegilacetat	0,260	0,180	0,180
izopulegilneoacetat	-	0,0600	-
dec-(4Z)-en-1-ol	0,0900	-	-
dodec-(2 <i>E</i> )-en-1-il-acetat	0,0900	-	-
( <i>Z</i> )-verbenilacetat	0,100	-	-
bornilacetat	9,36	33,7	35,8

undekan-2-on	0,370	-	-
(Z)-pinokarvilacetat	0,0600	-	-
tridekan	0,0900	-	-
citronelilacetat	2,83	-	0,400
(E)-geranilacetat	0,130	-	0,0900
(E)-pinokarvilacetat	-	0,0600	-
$\alpha$ -longipinen	-	0,0600	-
sibiren	-	0,160	-
longifolen	-	0,160	-
$\alpha$ -gvajen	-	-	0,0500
dodekanal	0,510	-	-
(E)-kariofilen	0,390	-	-
$\alpha$ -humulen	0,0800	-	-
$\beta$ -selinen	-	0,350	0,180
$\alpha$ -selinen	-	0,310	0,140
$\beta$ -bisabolen	-	0,120	0,330
$\Delta$ -kadinen	-	0,0500	-
(E)- $\alpha$ -bisabolen	-	0,0500	0,0400
(E)-nerolidol	-	-	0,0700
$\alpha$ -bisabolol	-	-	0,0700
kadin-4-en-10-ol	-	0,110	-
<b>%</b>	<b>identificiranih spojin</b>	<b>99,96</b>	<b>100</b>
<b>število</b>		<b>45</b>	<b>32</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih spojin</b>	<b>0,04</b>	<b>0</b>
<b>število</b>		<b>1</b>	<b>2</b>

**Priloga II: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja praprotnolistne ambrozije (*Ambrosia confertiflora*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
α-pinen	0,670
kamfen	0,130
sabinen	0,210
β-pinen	0,120
mircen	0,520
p-menta-1(7),8-dien	0,220
α-felandren	0,0400
α-terpinen	0,100
p-cimen	0,270
limonen	6,53
evkaliptol	0,750
(E)-β-ocimen	2,08
γ-terpinen	0,230
(Z)-sabinenhidrat	0,100
terpinolen	0,0500
(E)-sabinenhidrat	0,0600
(E)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trien	0,100
β-tujon	0,0700
kafra	0,650
borneol	1,10
terpinen-4-ol	0,340
mirtenol	0,180
geraniol	0,0600
bornilacetat	0,0600
Δ-elemen	0,0700
α-terpinilacetat	0,0900
ciklosativen	0,100
α-kopaen	0,380
β-burbonen	0,180
β-kubeben	0,840
(E)-kariofilen	10,1
γ-elemen	0,260
(E)-α-bergamoten	0,120
aromadendren	0,0400
ε-murolen	0,0400
α-humulen	1,76
(Z)-murola-4(14),5-dien	0,0600
γ-murolen	0,590
γ-kurkumen	2,21
γ-murolen izomer	42,5
β-selinen	0,670
γ-amorfen	1,36
biciklogermakren	9,53
α-murolen	0,580
α-(E,E)-farnezen	1,55
γ-kadinen	0,270
epi-kubebol	0,0400
Δ-kadinen	1,85
γ-kuprenen	0,0900
kesan	0,200
trans-kadin-1,4-dien	0,0900
selin-4(15),7(11)-dien	0,550

α-kalakoren	0,0700
α-elemol	0,0700
germakren B	0,540
(E)-nerolidol	0,370
spatulenol	0,960
kariofilenoksid	0,470
viridiflorol izomer	0,210
viridiflorol	0,0700
fokienol	0,310
junenol	0,350
epi-γ-evdezmol	0,720
aromandrenepoksid	0,360
T-murolol	0,460
β-evdezmol	1,43
intermedeol	0,380
germakra-4(15),5,10(14)-trien-1-α-ol	0,210
šiobunol	0,0700
(E,E)-geranil-linalool	0,130
<b>%</b>	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štvelo</b>	<b>70</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>štvelo</b>	<b>14</b>
<b>97,94</b>	
<b>2,06</b>	

**Priloga III: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja Lawsonove paciprese (*Chamaecyparis lawsoniana*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
α-pinien	2,14
kamfen	0,0700
mircen	0,0600
<i>o</i> -cimen	0,0700
limonen	0,400
terpinolen	0,100
<i>p</i> -cimenen	0,0900
linalool	0,120
rožni oksid	0,0500
fenzilalkohol	0,910
izopulegol	0,230
izo-izopulegol	0,110
borneol	1,46
terpinen-4-ol	0,400
<i>p</i> -cimen-8-ol	0,120
α-terpineol	8,66
fenzilacetat	0,0300
citronelol	2,93
neral	0,120
geraniol	0,0900
(E)-mirtanol	0,270
geranal	0,160
izopulegilacetat	0,300
neo-izopulegilacetat	0,140
bornilacetat	0,580
(Z)-terpin hidrat	0,220
terpin-1-en-4-il-acetat	0,210
mirtenilacetat	1,16
α-terpinilacetat	1,29
citronelilacetat	4,37
α-kopaen	0,120
(E)-geranilacetat	0,590
(E)-mirtamilacetat	0,110
β-elemen	0,820
α-humulen	0,140
kadin-1(6),4-dien	0,0300
(Z)-murola-4(14),5-dien	0,0500
γ-murolen	2,78
germakren D	0,0500
β-selin	1,70
γ-amorfen	0,130
α-selin	1,41
α-murolen	3,48
γ-kadinen	5,99
Δ-kadinen	10,4
(E)-kalamenen	0,0200
epizonaren	0,300
(E)-kadin-1,4-dien	0,130
α-kadinen	0,800
α-kalakoren	0,710
(E)-nerolidol	2,00
gleenol	0,360
gvajol	0,0200

1,10-di-epikubenol	0,680
kopaborneol	0,100
epikubenol	1,24
γ-evdezmol	0,120
epi-α-kadinol	7,10
T-murolol	9,43
α-murolol	3,13
kadin-4-en-10-ol	14,5
intermedeol	1,67
kadalen	0,170
epi-zizanon	0,180
γ-costol	0,0500
(Z)-lanceol	0,0700
β-kostol	0,0800
bulnezilacetat	0,0500
<b>%</b>	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štvelo</b>	<b>68</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>štvelo</b>	<b>10</b>

**Priloga IV: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja *Croton linearis*. Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
4,5-dihidrotulen	0,0500
triciklen	0,210
$\alpha$ -tujen	3,82
$\alpha$ -pinen	9,22
kamfen	1,79
sabinen	33,5
$\beta$ -pinen	1,12
mircen	2,78
$\alpha$ -felandren	2,65
$\alpha$ -terpinen	0,940
p-cimen	4,37
limonen	9,28
evkaliptol	7,03
$\beta$ -(Z)-ocimen	0,420
$\beta$ -(E)-ocimen	0,850
$\gamma$ -terpinen	7,11
(Z)-sabinen hidrat	0,0700
terpinolen	3,06
linalool	0,710
(E)-miroksid	0,0800
terpinen-4-ol	1,19
p-cimen-8-ol	0,0900
$\alpha$ -terpineol	0,150
geraniol	0,0500
bornilacetat	2,65
izobornilacetat	0,0700
$\alpha$ -kopaen	0,220
(E)-kariofilen	1,45
$\alpha$ -humulen	0,0700
$\beta$ -hamigren	0,200
germakren D	3,32
biciklogermakren	0,150
$\Delta$ -kadinen	0,220
(E)-nerolidol	0,110
spatulenol	0,180
kariofilenoksid	0,0900
aromandendrenepoksid	0,290
$\beta$ -evdezmol	0,0500
kušimol	0,0800
%	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štевilo</b>	<b>99,69</b>
%	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>štевilo</b>	<b>39</b>
%	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>število</b>	<b>0,31</b>
	<b>5</b>

**Priloga V: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja prave ciprese (*Cupressus sempervirens*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
heks-(3Z)-enol	0,0400
santolinrien	0,0500
triciklen	0,290
$\alpha$ -tujen	0,200
$\alpha$ -pinen	56,1
$\alpha$ -fenhen	0,750
kamfen	0,340
sabinen	0,610
$\beta$ -pinen	1,65
mircen	2,22
$\Delta$ -3-karen	20,1
$\alpha$ -terpinen	0,180
silvestren	0,270
limonen	2,73
(E)- $\beta$ -ocimen	0,100
$\gamma$ -terpinen izomer	0,0700
$\gamma$ -terpinen	0,3500
terpinolen izomer	0,190
terpinolen	3,84
terpinen-4-ol	0,310
$\alpha$ -terpineol	0,0800
timilmetileter	0,210
bornilacetat	0,650
linalilpropionat	0,350
$\alpha$ -terpinilacetat	1,90
$\alpha$ -kopaen	0,0900
$\beta$ -2-epi-funebren	0,490
(E)-kariofilen	0,670
$\beta$ -cedren	0,130
$\beta$ -kopaen	0,0700
kadin-3,5-dien	0,110
$\alpha$ -humulen	0,330
(Z)-murola-4(14),5-dien	0,140
$\gamma$ -murolen	0,250
germakren D	2,95
epizonaren	0,0500
$\alpha$ -murolen	0,130
$\gamma$ -kadinen	0,100
$\delta$ -kadinen	0,480
epi-cedrol	0,330
%	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štевilo</b>	<b>99,9</b>
%	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>število</b>	<b>40</b>
%	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>število</b>	<b>0,1</b>
	<b>1</b>

**Priloga VI: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja *Ericameria paniculata*. Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
undeka-1,3,5-trien	0,0500
$\alpha$ -tujen	0,480
$\alpha$ -pinen	13,3
kamfen	0,200
tuja-2,4(10)-dien	0,580
sabinen	10,5
$\beta$ -pinen	12,9
mircen	1,66
$\alpha$ -felandren	0,630
$\Delta$ -3-karen	0,720
$\alpha$ -terpinen	0,880
<i>o</i> -cimen	0,130
<i>p</i> -cimen	1,90
limonen	26,9
$\beta$ -( <i>Z</i> )-ocimen	0,0400
$\beta$ -( <i>E</i> )-ocimen	1,43
$\alpha$ -terpinen	0,0400
$\gamma$ -terpinen	1,60
( <i>Z</i> )-sabinenhidrat	0,120
terpinolen	0,500
<i>p</i> -cimenen	0,100
( <i>E</i> )-sabinenhidrat	0,0900
<i>p</i> -( <i>E</i> )-menta-2,8-dien-1-ol	0,0600
<i>p</i> -( <i>Z</i> )-ment-2-en-1-ol	0,110
$\alpha$ -kamfolenaldehid	0,340
2-vinilanisol	0,0800
nopinon	0,250
( <i>E</i> )-pinokarveol	1,52
( <i>Z</i> )-verbenol	0,220
( <i>E</i> )-verbenol	0,620
sabinaketon	0,300
pinokarvon	0,790
terpinen-4-ol	2,25
tuj-3-en-10-al	0,0900
kripton	0,430
<i>p</i> -menta-1,5-dien-7-ol	0,0700
mirtenal	1,72
mirtenol	0,670
verbenon	0,470
( <i>E</i> )-karveol	0,360
( <i>Z</i> )-karveol	0,0600
kuminaldehid	0,700
karvon	0,860
felandral	0,200
bornilacetat	2,13
<i>o</i> -cimen-7-ol	0,280
perilaalkohol	0,0600
<i>p</i> -menta-1,4-dien-7-ol	0,220
$\alpha$ -kopaen	0,0900
$\beta$ -elemen	0,310
$\alpha$ -funebren	0,0500

$\alpha$ -gurjunen	0,110
( <i>E</i> )-kariofilen	0,330
seskvisabinen	0,290
$\gamma$ -gurjunen	0,740
$\gamma$ -murolen	0,290
$\gamma$ -kurkumen	0,230
germakren D	4,32
$\beta$ -selinen	0,220
$\gamma$ -murolen izomer	0,130
biciklogermakren	0,500
$\alpha$ -murolen	0,230
$\alpha$ -( <i>E,E</i> )-farnezen	0,100
$\gamma$ -kadinen	0,130
$\Delta$ -kadinen	0,550
kesan	0,210
( <i>E</i> )-nerolidol	0,0800
spatulenol	0,0500
kariofilenoksid	0,0600
viridiflorol	0,130
cedrol	0,200
$\beta$ -evdezmol	0,270
<b>%</b>	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štvelo</b>	<b>72</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>štvelo</b>	<b>5</b>

**Priloga VII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja *Hyptis emoryi*. Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
α-tujen	2,77
α-pinen	23,6
tuja-2,4(10)-dien izomer	0,0900
kamfen	0,610
tuja-2,4(10)-dien	0,440
sabinen	3,94
β-pinen	13,8
vinilmilkarbinol	0,230
mircen	0,930
p-menta-1(7),8-dien	0,410
p-cimen	3,65
limonen	14,7
evkaliptol	0,0400
β-(Z)-ocimen	0,120
β-(E)-ocimen	0,870
γ-terpinen	0,0500
(Z)-sabinenhidrat	0,170
fenzhon	0,260
p-cimenen	0,150
verbenon	0,0400
α-pinenoksid	0,140
linalool	1,46
α-pinenoksid izomer	0,150
β-tujon	0,150
endo-fenhol	0,110
krizantenon	0,190
α-kamfolenaldehid	0,160
nopinon	0,280
(E)-pinokarveol	1,04
(Z)-verbenol	0,150
kafra	1,80
pinokarvon	0,140
borneol	0,330
terpinen-4-ol	0,630
kripton	0,560
mirtenal	1,04
mirtenol	0,490
(E)-okt-2-enilacetat	0,0900
verbenon	0,370
fenzhilacetat	0,950
(Z)-karveol	0,0700
kuminaldehid	0,160
carvon	0,510
2-feniletilacetat	0,0800
bornilacetat	1,56
o-cimen-7-ol	0,100
dihidrokarveilacetat	0,0800
α-kubeben	0,0900
(Z)-geranilacetat	0,100
α-kopaen	1,50
β-elemen	0,180
α-gurjunen	0,100

(E)-kariofilen	0,890
(E)-α-bergamoten	0,450
α-gvajen	0,410
aromadendren	0,170
(E)-β-farnezen	0,130
α-humulen	0,570
9-epi-(E)-kariofilen	0,160
γ-murolen	0,160
α-kurkumen	0,100
selina-4,11-dien	0,450
α-amorfen	0,0300
β-selinen	1,43
viridifloren	1,24
α-selinen	0,250
α-murolen	0,310
α-bulnesen	0,730
β-bisabolen	0,700
γ-kadinen	0,670
Δ-amorfen	1,33
(E)-kalamenen	0,210
β-seskvifelandren	0,0500
α-kadinen	0,0600
spatulenol	2,99
kariofilenoksid	1,29
viridiflorol izomer	0,180
viridiflorol	0,510
karotol	0,0700
humulenepoksid II	0,320
1,10-di-epi-kubenol	0,0800
1,2,3,4,4a,7,8,8a-oktahidro-4-izopropil-1,6-dimetil-naft-1-ol	0,220
kadin-4-en-10-ol	0,360
α-bisabolol	0,330
%	<b>identificiranih</b>
število	<b>84</b>
%	<b>neidentificiranih</b>
število	<b>14</b>

**Priloga VIII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja srebrne smreke (*Picea pungens*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
heks-(3Z)-enol	0,110
santen	0,110
triciklen	1,13
$\alpha$ -tujen	0,0900
$\alpha$ -pinen	15,5
kamfen	9,53
sabinen	0,650
$\beta$ -pinen	3,87
mircen	5,83
$\alpha$ -felandren	0,130
$\Delta$ -3-karen	6,57
$\alpha$ -terpinen	0,210
<i>p</i> -cimen	0,200
limonen	29,0
evkaliptol	2,04
(E)- $\beta$ -ocimen	0,320
$\gamma$ -terpinen	0,370
terpinolen	1,71
fennon	0,110
<i>p</i> -cimenen	0,0500
linalool	0,160
3-butenil-3-metilbutirat	0,0600
izomer	
3-butenil-3-metilbutirat	0,0300
metiloktanoat	0,0600
$\alpha$ -kamfolenaldehid	0,0700
(E)-pinokarveol	0,0600
kafra	5,03
kamfenzidrat	1,87
izoborneol	0,0400
borneol	1,24
terpinen-4-ol	0,360
$\alpha$ -terpineol	0,720
estragol	0,290
citronelol	0,460
timilmetileter	0,140
karvotanaceton	0,130
bornilacetat	11,6
citronelilacetat	0,0900
$\Delta$ -kadinen	0,110
%	identificiranih spojin
število	100
%	neidentificiranih spojin
število	39
0	
0	

**Priloga IX: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja pimentovca (*Pimenta dioica*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
$\alpha$ -tujen	0,0400
$\alpha$ -pinen	0,120
mircen	0,140
$\alpha$ -felandren	0,100
<i>p</i> -cimen	0,170
limonen	0,370
evkaliptol	2,59
(E)- $\beta$ -ocimen	0,230
$\gamma$ -terpinen	0,0500
terpinolen	0,100
linalool	0,0900
terpinen-4-ol	0,110
metilsalicilat	0,0900
$\alpha$ -terpineol	0,0500
evgenol	84,6
$\alpha$ -kopaen	0,0900
$\alpha$ -gurjunen	0,0400
(E)-kariofilen	6,11
$\beta$ -kopaen	0,0400
$\alpha$ -humulen	1,82
9-epi-(E)-kariofilen	0,120
kadina-1(6),4-dien	0,0400
$\gamma$ -murolen	0,160
germakren D	0,250
$\beta$ -selinen	0,0500
$\alpha$ -bulnezen	0,0900
$\alpha$ -murolen	0,140
$\gamma$ -kadinen	0,120
$\Delta$ -kadinen	0,540
epizonaren	0,0400
kariofilenoksid	0,330
metoksievgenol	0,150
humulenepoksid	0,120
epikubenol	0,0500
epi- $\alpha$ -kadolin	0,130
T-murolol	0,220
$\alpha$ -murolol	0,0900
kadin-4-en-10-ol	0,280
%	identificiranih spojin
število	99,87
%	neidentificiranih spojin
število	38
0,13	
2	

**Priloga X: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcih eteričnih olj rastlinskih vrst iz rodu *Pinus*. Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)				
	<i>Pinus edulis-storž (koloradski pinjon)</i>	<i>Pinus edulis-veja (koloradski pinjon)</i>	<i>Pinus ponderosa (rumeni bor)</i>	<i>Pinus strobiformis-storž (mehiški beli bor)</i>	<i>Pinus strobiformis-veja (mehiški beli bor)</i>
heks-(3Z)-enol	-	-	0,0700	-	0,0500
n-heksanol	-	-	0,0500	-	-
santen	-	-	-	-	0,0300
n-nonan	-	-	-	0,0500	-
pinen izomer	0,0700	-	-	-	-
triciklen	0,160	0,210	0,680	0,0700	0,280
α-tujen	-	0,0500	0,130	0,620	0,0700
α-pinen	64,3	48,2	29,7	34,7	18,3
α-fenhen	-	0,200	-	-	-
kamfen	0,840	0,990	1,58	0,610	3,21
tuja-2,4(10)-dien	0,130	0,0400	0,0600	0,180	-
o-cimen	-	-	0,130	0,150	-
sabinen	0,0500	0,130	0,190	4,82	0,290
β-pinen	6,26	12,5	8,49	20,4	47,0
mircen	6,16	5,41	4,52	2,83	1,69
α-felandren	-	0,0900	0,100	0,0800	0,240
m-cimen	-	-	-	0,0500	-
Δ-3-karen	0,970	1,23	16,5	7,34	1,07
α-terpinen	-	0,110	0,200	0,510	0,160
p-cimen	0,160	0,170	0,260	0,540	0,0800
limonen	0,990	2,38	13,1	20,1	9,43
β-felandren	0,660	5,76	-	-	3,72
β-(Z)-ocimen	0,340	0,510	0,480	-	-
β-(E)-ocimen	-	0,0600	0,590	-	-
γ-terpinen	-	0,210	0,410	0,890	0,250
terpinolen izomer	-	-	0,0600	-	-
(Z)-sabinen hidrat	-	-	-	0,0500	-
n-oktanol	-	-	-	0,100	-
terpinolen	0,100	0,580	1,91	2,25	1,30
p-cimenen	-	-	0,100	0,190	-
α-pinenoksid	0,170	-	-	-	-
linalool	0,160	-	0,300	0,0700	-
α-pinenoksid izomer	0,180	-	-	-	-
n-undekan	-	-	-	0,170	-
α-kamfolenaldehid	-	-	0,0400	0,0800	-
fenzilalkohol	-	-	-	-	0,0900
(E)-pinokarveol	0,140	0,0400	0,0900	0,230	-
(E)-verbenol	0,220	-	-	0,120	-
deka-2-en-1-ol	-	0,110	-	-	-
borneol	-	-	-	-	0,110
izoborneol	-	-	0,170	-	-
terpinen-4-ol	0,0500	0,100	0,280	0,470	0,270
p-cimen-8-ol	0,0500	-	0,0400	0,0700	-
α-terpineol	0,300	0,300	0,370	0,270	1,17
etiloktanoat	3,20	0,540	-	-	-
verbenon	0,0700	-	-	-	-
etildodekanoat	0,110	-	-	-	-
oktilacetat	-	-	-	0,100	-
timilmetileter	-	1,00	0,0400	0,180	2,04

bornilacetat	1,12	2,90	6,20	0,630	3,73
undekan-2-on	-	-	-	-	0,190
(E)-pinokarvil acetat	-	-	-	0,0900	-
$\alpha$ -kubeben	0,340	-	0,110	-	-
$\alpha$ -terpinilacetat	-	0,420	-	-	-
tetradek-(11Z)-enil alkohol izomer	-	0,460	-	-	-
(E)-tetradek-2-enal	-	0,0600	-	-	-
1-hidroksi-undec-2-en	-	0,540	-	-	-
$\alpha$ -kopaen	1,87	1,21	0,270	0,100	0,0600
(E)-4-etyldecenoat	0,440	0,100	-	-	-
$\beta$ -burbonen	2,58	0,290	0,0800	-	-
$\beta$ -burbonen izomer	0,270	-	-	-	-
dodek-(9Z)-en-1-ol	-	0,170	-	-	-
$\beta$ -elemen	0,120	-	-	-	-
etildekanoat	0,230	-	-	-	-
aloaromadendren	-	0,0600	-	-	-
longifolen	-	-	0,230	0,440	0,0600
(E)-karofilen	0,650	1,09	3,69	-	-
$\beta$ -kopaen	0,350	0,110	0,0900	-	-
(E)-murola-3,5-dien	-	0,0500	-	-	-
kadina-3,5-dien	-	-	0,0700	-	-
izogermakren D	0,210	-	-	-	-
(E)- $\beta$ -farnezen	0,0900	0,190	-	-	-
$\alpha$ -humulen	-	0,170	0,560	-	-
(Z)-murola-4(14),5-dien	-	-	0,0400	-	-
9-epi-(E)-karofilen	-	0,0700	-	-	-
kadina-1(6),4-dien	-	0,120	0,130	-	0,0700
germakren D	1,81	3,33	3,70	0,0600	1,95
$\gamma$ -murolen	0,520	0,790	0,550	-	0,200
$\gamma$ -murolen izomer	0,170	0,350	-	-	-
$\beta$ -selinen	-	-	-	-	0,0500
$\gamma$ -amorfen	-	-	0,240	-	0,120
biciklogermakren	-	-	0,180	-	0,450
$\alpha$ -murolen	0,950	0,870	0,550	0,320	0,420
$\Delta$ -amorfen	-	0,160	0,0500	-	-
$\gamma$ -kadinen	0,310	0,730	0,460	-	0,370
$\Delta$ -kadinen	0,920	2,14	1,73	-	1,35
$\gamma$ -kadinen izomer	-	0,0400	0,0600	-	-
(E)-kadina-1,4-dien	-	0,0800	0,0600	-	-
$\alpha$ -kadinen	-	0,0900	0,0800	-	0,0500
(E)-kalamenen	0,070	-	-	-	-
kariofilenoksid	-	-	0,0600	-	-
epi-cedrol	0,0900	-	-	-	-
alo-aromandendren epoksid	0,270	-	-	-	-
T-murolol	-	0,180	-	-	-
kadin-4-en-10-ol	-	0,170	0,120	-	0,0900
<b>%</b>	<b>identificiranih</b>	<b>99,43</b>	<b>97,85</b>	<b>99,88</b>	<b>99,91</b>
<b>število</b>	<b>spojin</b>	<b>46</b>	<b>54</b>	<b>54</b>	<b>37</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih</b>	<b>0,57</b>	<b>2,15</b>	<b>0,12</b>	<b>0,09</b>
<b>število</b>	<b>spojin</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>0</b>

**Priloga XI: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja duglazije (*Pseudotsuga menziesii*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
santen	2,10
triciklen	3,32
$\alpha$ -pinen	18,2
kamfen	23,8
sabinen	0,0900
$\beta$ -pinen	7,96
mircen	1,68
$\alpha$ -felandren	0,0400
$\Delta$ -3-karen	1,30
<i>p</i> -cimen	0,210
limonen	9,67
$\gamma$ -terpinen	0,0600
terpinolen	0,500
linalool	0,460
fenzilalkohol	0,0800
kafra	0,140
kamfenzhidrat	0,640
izoborneol	0,0800
borneol	1,17
terpinen-4-ol	0,130
<i>p</i> -cimen-8-ol	0,0700
$\alpha$ -terpineol	0,370
citronelol	0,250
timilmetileter	0,0700
bornilacetat	26,0
$\Delta$ -elemen	0,100
citronelilacetat	0,230
$\alpha$ -kopaen	0,170
longifolen	0,140
( <i>E</i> )-kariofilen	0,0700
$\alpha$ -humulen	0,120
$\gamma$ -murolen	0,0800
germakren D	0,0800
$\alpha$ -murolen	0,180
$\gamma$ -kadinen	0,0500
$\Delta$ -kadinen	0,170
$\alpha$ -( <i>E</i> )-bisabolen	0,100
<b>%</b>	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štевilo</b>	<b>37</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>število</b>	<b>1</b>

**Priloga XII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
triciklen	0,170
$\alpha$ -tujen	0,120
$\alpha$ -pinen	36,2
kamfen	4,32
$\Delta$ tuja-2,4(10)-dien	0,720
$\beta$ -pinen	2,24
mircen	1,55
$\alpha$ -felandren	0,220
$\alpha$ -terpinen	0,590
<i>p</i> -cimen	1,65
limonen	3,88
evkaliptol	23,8
$\gamma$ -terpinen	1,10
terpinolen	0,850
<i>p</i> -cimenen	0,0700
linalool	2,00
krizantenon	0,410
kafra	2,19
( <i>E</i> )-pinokamfon	0,190
pinokarvon	0,160
borneol	2,87
( <i>Z</i> )-pinokamfon	0,540
terpinen-4-ol	0,610
$\alpha$ -terpineol	1,33
verbenon	3,07
citronelol	0,140
(2 <i>Z</i> )-(3,3-dimetilcikloheksiliden)-etanol	0,0800
( <i>Z</i> )-mirtanol	0,120
geraniol	1,41
geranal	0,0500
bornilacetat	1,42
( <i>E</i> )-geranilacetat	0,160
metilevgenol	0,100
$\alpha$ -cedren	1,13
( <i>E</i> )-kariofilen	2,19
$\beta$ -cedren	0,230
( <i>Z</i> )-tujopsen	0,310
$\alpha$ -humulen	0,260
psevdovidren	0,0900
kuparen	0,0500
kariofilenoksid	0,0900
cedrol	0,230
epi-cedrol	0,760
8-cedren-13-ol	0,0500
<b>%</b>	<b>identificiranih spojin</b>
<b>štевilo</b>	<b>44</b>
<b>%</b>	<b>neidentificiranih spojin</b>
<b>število</b>	<b>2</b>

**Priloga XIII: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja muškatne kadulje (*Salvia scarlea*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
β-pinien	0,0500
mircen	0,630
limonen	0,180
β-(Z)-ocimen	0,230
β-(E)-ocimen	0,430
terpinolen	0,110
linalool	10,5
α-terpineol	1,40
linalilformiat	0,150
nerol	0,170
linalilacetat	79,3
karvakrol	0,850
α-terpinilacetat	0,0600
(Z)-geranilacetat	0,680
α-kopaen	0,310
(E)-geranilacetat	1,39
β-kubeben	0,0700
(E)-kariofilen	0,450
germakren D	2,52
biciklogermakren	0,210
α-(E,E)-farnezen	0,0600
Δ-kadinen	0,160
kadin-4-en-10-ol	0,130
%	<b>identificiranih</b>
<b>število</b>	<b>spojin</b>
%	<b>neidentificiranih</b>
<b>število</b>	<b>spojin</b>

**Priloga XIV: Vsebnost (relativni % površine) in število oz. deleži (odstotki) spojin v vzorcu eteričnega olja vetiverja (*Vetiveria zizanioides*). Vrednosti posameznih spojin so podane na tri veljavna mesta.**

Ime spojine	Vsebnost (relativni % površine)
geraniol	0,140
geranal	0,0300
evgenol	0,0900
ciklosativen	0,100
(E)-geranilacetat	0,0300
akora-3,7(14)-dien	0,0500
β-cedren	0,100
α-gurjunen	0,0700
kopaen izomer	0,0700
β-kopaen	0,0900
prezilan	0,330
kušimen	0,460
guaiia-6,9-diene	0,170
α-amorfen	0,580
β-vetispiren	0,720
valencen	0,220
ε-amorfen	0,0600
Δ-amorfen	0,380
β-himakalen	0,0900
epi-kubebol	0,220
amorfen izomer	0,500
α-kalakoren	0,0900
(Z)-seskvisabinen hidrat	0,0300
α-elemol	0,420
β-vetivenen	1,11
(E)-seskvisabinen hidrat	0,230
cedrol	0,140
kušimon	1,12
epikubenol izomer	5,52
epikubenol	0,460
β-akorenol	0,250
α-1,7-diepi-cedrenal	0,940
kadin-4-en-10-ol	3,20
epi-zizanon	1,63
β-epi-bisabolol	1,18
evdezm-7(11)-en-4-ol	2,19
epi-nootkatol	0,760
vetiselinol izomer	0,270
vetiselinol	4,84
γ-kostol	5,79
kušimol	15,5
13-hidroksivalencen	0,310
β-kostol	0,270
α-kostol	0,290
valencen izomer	0,0700
izovalencenol izomer	9,89
(E)-izovalencenol	0,900
β-vetivon	3,25
α-vetivon	3,35
%	identificiranih
število	spojin
%	neidentificiranih
število	spojin