

## Ispitivanje bioaktivnog sastava kamilice (*Matricaria recutita* L.) metodom tankoslojne kromatografije

BILJANA BLAŽEKOVIĆ i GORDANA STANIĆ

Zavod za farmakognoziju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu

### Thin-layer chromatographic analysis of bioactive constituens in chamomile (*Matricaria recutita* L.)

*S u m m a r y* – The presence and distribution of flavonoids, amino acids, coumarins and essential oil components in separated plant parts of chamomile (*Matricaria recutita* L.) was studied using thin-layer chromatography. Yellow tubular florets, white lingulate florets, receptacle and stem showed distinctive chromatographic profile of flavonoid glycosides. The greatest number of flavonoids, mostly glycosides of apigenin, was detected in the extract of white florets which are easily wasted during the harvest and postharvest procedure. Glycosides of quercetin and luteolin predominate in yellow chamomile florets. Green parts (receptacle and stem) contain less number and quantity of flavonoids as well. Coumarins herniarin and umbelliferone are contained in all chamomile parts investigated with slightly quantitative differences between them. TLC analysis on cellulose plates revealed the presence of amino acids as follows: leucine, phenylalanine, valine, tryptophan, tyrosine, proline, alanine, threonine, glutamic acid, lysine and histidine. The smallest number of amino acids was detected in white florets while other chamomile parts didn't differ significantly regarding chromatographic profile of these plant constituents. Finally, methylen chloride extracts of chamomile parts showed certain distinctions in the composition of essential oil components. Bisabolol predominated in white florets, matricin and bisabolol oxide in yellow florets while fraction of spiroethers was most intensive in the extract of receptacle. Stem extract was extremely poor regarding these substances. In conclusion, comparative phytochemical analyses justify that chemical composition of every plant part (yellow tubular florets, white lingulate florets and receptacle) contributes to the total active principle of the drug *Matricariae flos* and its therapeutic value as well.

(Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
University of Zagreb, Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Croatia)

## UVOD

Kamilica pripada onim ljekovitim biljkama koje su još u starom vijeku imale široku uporabu u liječenju mnogih bolesti. Hipokrat ju spominje u 5. st. pr. Krista, a i Dioskurid u svojem djelu "De materia medica" opisuje kamilicu kao značajnu ljekovitu biljku. Mnoga područja primjene čaja od kamilice, koja navodi Galen, nisu se ni do danas promijenila. Kamilica je bila cijenjena i u srednjem vijeku, pa je tako 1565. Hieronymus Bock u svom »Bilinaru« zapisao: »Bez tog cvijeta, te sasvim obične kamilice, ne može se ništa postići, jer nema korisnije biljke kao lijeka nego što je cvijet od kamilice koji se rabi gotovo za sve bolesti!« (1). Tako se od antičkih vremena do danas, u narodnoj i službenoj medicini, rabi droga *Matricariae flos*, čiju su terapijsku vrijednost potvrdila mnoga znanstvena istraživanja. Drogu čine osušene cvjetne glavice vrste *Matricaria recutita* L., Asteraceae, koje se sastoje od šupljeg, čunjastog cvjetišta sa žutim cjevastim i bijelim jezičastim cvjetovima (1).

Terapijska vrijednost droge temelji se na širokom farmakodinamskom spektru koji obuhvaća antiflogistični, spazmolitski, karminativni i antimikrobni učinak. Fitokemijska istraživanja u kombinaciji s biološkim testiranjem pokazala su da za navedene učinke kamilice nije odgovorna samo jedna skupina spojeva, već ukupni djelatni kompleks sastavljen od komponenata eteričnog ulja, flavonoida, kumarina, amonokiselina i dr. Ovim smo radom, koji se nastavlja na naša dosadašnja fitokemijska istraživanja kamilice (2–5), željeli utvrditi zastupljenost i raspodjelu pojedinih ljekovitih sastavnica u odvojenim biljnim dijelovima kamilice – bijelim cvjetovima, žutim cvjetovima, cvjetištu i stabljici.

Prije eksperimentalnog dijela donosimo kraći pregled podataka o kemizmu, djelovanju i primjeni kamilice, odnosno droge *Matricariae flos*.

### Kemizam kamilice

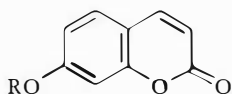
Eterično je ulje jedan od glavnih nosilaca ljekovitosti kamilice, čiji sadržaj u drogi varira 0,3–1,5 %. Smješteno je pretežito u žutim cjevastim cvjetovima (oko 65%), manje u cvjetištu (25%), a samo oko 11% u bijelim jezičastim cvjetovima, i to u žlijezdama karakterističnim za porodicu Asteraceae (6). Djelatni spojevi eteričnog ulja pripadaju skupinama seskviterpena (kamazulen i bisabololi) te poliina (en-in-dicikloeteri). Kamazulen je biciklički seskviterpen, koji daje prepoznatljivu plavu boju eteričnom ulju kamilice. On nastaje tijekom postupka destilacije s vodenom parom iz ishodnog matricina, a preko intermedijerne kamazulenkarboksilne kiseline. Monociklički seskviterpeni  $\alpha$ -bisabolol, bisabololoksid A i B te bisabolonoksid A čine i do 70% eteričnog ulja kamilice (4). S obzirom na udio pojedinih bisaboloida u eteričnom ulju razlikuje se 6 kemijskih tipova kamilice (1). Uz ostale dokazane terpeene, kao što su spatulenol, farnezen, kamomilol,  $\beta$ -kariofilen i kariofilenoksid, karakteristične su sastavnice ulja i dva poliina, cis- i trans-en-in-dicikloeteri (=spiroeteri).

Osim komponenata eteričnog ulja, značajni lipofilni spojevi su 7-metoksikumarin herniarin i 7-hidroksikumarin umbeliferon, od kojih količinski prevladava herniarin.

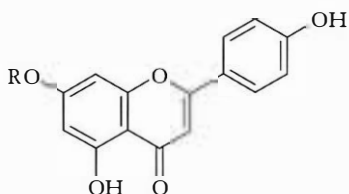
Među hidrofilnim spojevima posebice su značajni flavonoidi. Flavonoidni kompleks sastoji se od oko 30 flavonoida koji se mogu svrstati u nekoliko sku-

pina: flavonoidni aglikoni (apigenin, luteolin, kemferol, patuletin i izoramnetin), polarni flavonoidni glikozidi i nepolarni metilirani flavonoidni glikozidi. Njihova je raspodjela u pojedinim dijelovima cvjetnih glavica kamilice također istraživana. Tako su u jezičastim cvjetovima dokazani apigenin, apigenin-7-glukozid i njegovi monoacetil- i diacetil- derivati, te apiin i krizosplenetin, a u cjevastim cvjetovima identificirani su luteolin, luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid i kvercetin-7-glukozid (1).

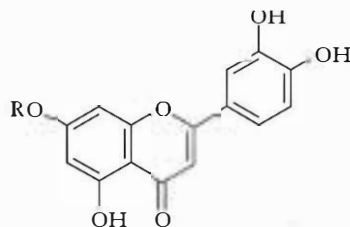
Hidrolizirani ekstrakti cvjetišta, lapova čaške i stabljike s listovima imaju sličan flavonoidni sastav, kojeg posebice karakteriziraju flavonski aglikoni izoramnetin i luteolin. Ovi dijelovi kamilice ne sadrže lipofilne metilirane aglikone jaceidin, eupatoletin, spinacetin i aksilarin, koji su otkriveni u kloroformskom ekstraktu cvjetova kamilice (1).



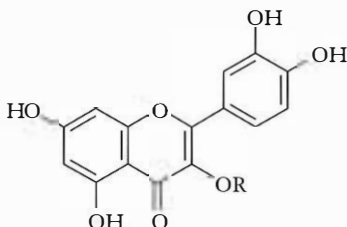
R=CH<sub>3</sub> herniarin  
R=H umbeliferon



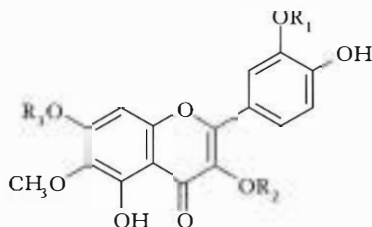
R=H apigenin  
R=glukoza apigenin-7-glukozid



R=H luteolin  
R=glukoza luteolin-7-glukozid



R=H kvercetin  
R=rutinoza rutin



R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H jaceidin  
R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub> eupatoletin

Cvjetne glavice kamilice, u »sluznim rebrima«, sadrže oko 10% sluzi koju su Wagner i suradnici okarakterizirali kao razgranati polisaharid s jedinica-ma ksiloze povezanim  $\beta$ -vezom i s vrlo visokim udjelom 4-O-metil-glukuronske kiseline.

### Djelovanje i primjena kamilice

Kamilica je jedna od rijetkih ljekovitih biljaka blagog učinka čija su biološka svojstva potvrđena znatnim brojem farmakoloških, mikrobioloških i kliničkih istraživanja. Osim učinaka ekstrakta droge i eteričnog ulja, ispitivani su i učinci pojedinih djelatnih komponenata.

- *Antiflogistični učinak.* Protuupalni učinak pripravaka kamilice temelji se na biološkoj aktivnosti komponenata eteričnog ulja kao dijela lipofilnog kompleksa te hidrofилnih sastavnica, flavonoida i polisaharida (7). Istraživanje antiflogističnog učinka kamazulena datira od 1933. godine (20-tak godina prije nego mu je u potpunosti utvrđena struktura), a od tada je ta učinkovitost više puta potvrđena na različitim farmakološkim modelima. Poredbena ispitivanja pojedinih sastavnica eteričnog ulja pokazala su da su bisabolol i matricin djelotvorniji od kamazulena, a bisabolol i od bisabololoksida A (8). Protuupalni učinak temelji se poglavito na inhibiciji enzima unutar kaskade arahidonske kiseline, iz koje nastaju značajni medijatori upalnog procesa te na antioksidativnom djelovanju. Osim što inhibira 5-lipooksigenazu, kamazulen djeluje i antioksidativno (9, 10), a za učinak matricina smatra se zaslužnom i intermedijerna kamazulenkarboksilna kiselina koja ima snažan afinitet za COX-2 (11). Spiroeteri pridonose protuupalnom djelovanju sprječavanjem oslobađanja histamina iz mastocita (12).

Među flavonoidima kamilice najizraženije antiflogistično djelovanje pokazuje apigenin, koji blokira sintezu medijatora upale inhibicijom 5-lipooksigenaze i oksidacije arahidonske kiseline (11).

Dokazani mehanizmi antiflogističkog djelovanja pojedinih sastavnica opravdavaju indiciranost pripravaka kamilice kod upalnih procesa kože i sluznice različite etiologije.

- *Spazmolitički učinak.* Zbog spazmolitičkog i karminativnog učinka kamilica se primjenjuje interno za ublažavanje želučanih, crijevnih i menstrualnih tegoba. Spazmolitički učinak pokazuju neke od komponenata eteričnog ulja, potom kumarini, a osobito flavonoidi. Prema farmakološkim testovima, glavni nosilac aktivnosti je apigenin, koji ublažuje kontrakcije glatkih mišića izazvane pomoću barij-klorida, acetilkolina i histamina. Količina od 10 mg apigenina po svojoj muskulotropnoj aktivnosti odgovara količini od 1 mg papaverina. Iako slabiji u odnosu na apigenin, muskulotropno-spazmolitički učinak sličan papaverinu pokazuje i  $\alpha$ -bisabolol, u manjoj mjeri njegovi oksidi, te ukupno eterično ulje kamilice (1).
- *Antimikrobni učinak.* Antimikrobna učinkovitost eteričnog ulja kamilice dokazana je na gram-pozitivne bakterije, kao što su *Staphylococ-*

*cus aureus* i *Bacillus subtilis* te na gram-negativne vrste *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*. Uz snažan antibakterijski učinak,  $\alpha$ -bisabolol pokazuje i fungistatsko djelovanje na gljivice *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* i *Trichophyton rubrum*. Značajan antibakterijski i antifungalni učinak pokazao je i alkoholni ekstrakt kamilice, osobito na vrste *Staphylococcus* i *Streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae* te protozou *Trichomonas vaginalis* (1).

- **Antiulkusno djelovanje.** Protektivni i kurativni učinak pripravaka kamilice pri ulkusnim bolestima poglavito se pripisuje  $\alpha$ -bisabololu. Naime, još je 1979. utvrđeno da on može smanjiti mogućnost nastanka ulkusa koji je izazvan indometacinom, stresom ili alkoholom. Novija istraživanja (13, 14), u prilog antiulkusnom djelovanju, pokazuju djelotvornost ekstrakta kamilice na bakteriju *Helicobacter pylori*, koja je jedan od uzročnika nastanka ulkusa.
- **Antitumorska aktivnost.** Antitumorska aktivnost ekstrakta kamilice, koja je eksperimentalno dokazana još prije 50 godina, primarno se pripisuje apigeninu, koji je u više različitih eksperimentalnih modela inhibirao razvoj tumora (15–20).
- **Imunomodulacijsko djelovanje.** Povećana proliferacija limfocita jedan je od dokaza imunomodulacijskog djelovanja ekstrakta kamilice (21, 22).
- **Sedativno i anksiolitičko djelovanje.** Iako se dugo smatralo da je za sedativni i anksiolitički učinak pripravaka kamilice odgovoran apigenin kao ligand centralnih benzodiazepinskih receptora (23, 24), novija istraživanja dokazuju da su druge komponente kamilice s aktivnošću sličnom benzodiazepinu zaslužnije od apigenina za taj učinak (25–27). U prilog djelovanja na središnji živčani sustav govori i podatak da ekstrakt kamilice smanjuje razvoj ovisnosti o morfinu i izraženost apstinencijskog sindroma (28).

## EKSPERIMENTALNI DIO

### Biljni materijal

Kamilica rabljena u istraživanju potječe iz uzgoja u Pitomači. Ubrana je u svibnju 2003. i osušena strujom toplog zraka (35–45°C). Za ispitivanje su odvojeni bijeli i žuti cvjetovi, cvjetišta te stabljika.

### Ekstrakcija biljnog materijala

Metanolni ekstrakti pripremljeni su zagrijavanjem po 0,5 g usitnjenog biljnog materijala s 10 mL metanola na vodenoj kupelji, uz povratno hladilo, tijekom 15 minuta. Bistri filtrat, nakon hlađenja, služio je kao otopina za kromatografsko ispitivanje prisutnosti flavonoida i kumarina.

Vodeni ekstrakti pripremljeni su tako da je po 0,5 g usitnjenog biljnog materijala ekstrahirano s 20 mL vode 1 sat na vodenoj kupelji uz povratno hladi-

lo. Bistri, ohlađeni filtrat služio je kao uzorak za kromatografsko ispitivanje prisutnosti aminokiselina.

Metilenkloridni ekstrakti pripremljeni su mućkanjem po 0,5 g usitnjenog biljnog materijala s 5 mL metilenklorida 15 minuta. Bistri filtrat uparen je do suha uz primjenu vakuum uparivača, a ostatak otopljen u 1 mL toluena. Dobivena otopina bila je uzorak za kromatografsko ispitivanje prisutnosti komponenata eteričnog ulja.

### **Kromatografska ispitivanja**

#### *Ispitivanje flavonoida*

Metodom tankoslojne kromatografije provedena je kvalitativna analiza flavonoidnih sastavnica u metanolnim ekstraktima bijelih i žutih cvjetova, cvjetišta te stabljike kamilice. Odjeljivanje sastavnica provedeno je na tankom sloju silikagela (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) pomoću razvijaa etilacetat – mravlja kiselina – voda 8:1:1 (29). Nakon prskanja Naturstoff-reagensom (NST) i PEG reagensom, kromatogram je promatran pod UV svjetlom pri 365 nm i detektirani su flavonoidi (30).

#### *Ispitivanje aminokiselina*

Prisutnost pojedinih aminokiselina u vodenim ekstraktima bijelih cvjetova, žutih cvjetova, cvjetišta i stabljike kamilice ispitivana je kromatografiranjem na tankom sloju celuloze F («Merck») pomoću smjese otapala n-butanol – aceton – ledena octena kiselina – voda (35:35:10:20). Kao poredbene supstancije rabljeni su histidin (His), lizin (Lys), glutaminska kiselina (Glu), treonin (Thr), alanin (Ala), prolin (Pro), tirozin (Tyr), triptofan (Trp), valin (Val), fenilalanin (Phe) i leucin (Leu) u obliku 0,00001 %-tnih vodenih otopina. Detekcija odijeljenih aminokiselina provedena je nakon prskanja kromatograma ninhidrin reagensom i grijanja 5–10 minuta na 100°C (30).

#### *Ispitivanje kumarina*

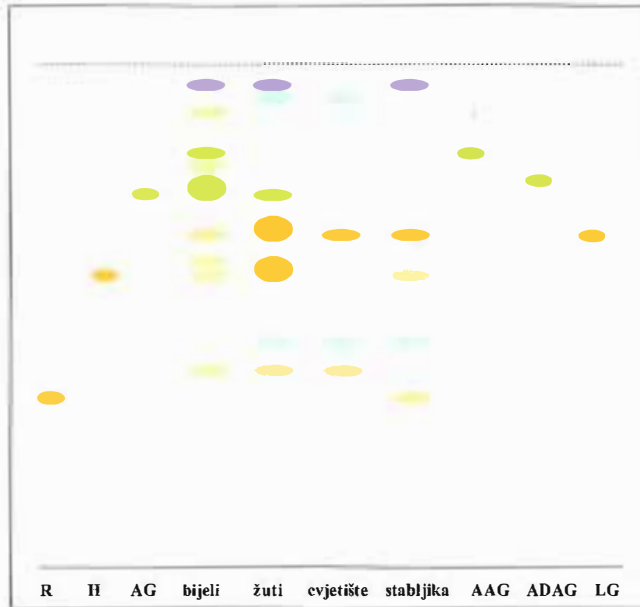
Metanolni ekstrakti bijelih i žutih cvjetova, cvjetišta te stabljike kamilice ispitani su na prisutnost kumarina metodom tankoslojne kromatografije uz primjenu adsorbensa Kieselgela 60 F<sub>254</sub> i razvijaa toluen – eter 1:1 (zasićen octenom kiselinom). Detekcija kumarina provedena je u UV svjetlu na 365 nm (30).

#### *Ispitivanja komponenata eteričnog ulja*

Odjeljivanje komponenata eteričnog ulja u bijelim cvjetovima, žutim cvjetovima, cvjetištu i stabljici kamilice provedeno je kromatografiranjem metilenkloridnih ekstrakata ovih dijelova kamilice na tankom sloju silikagela (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) primjenom razvijaa toluen – etilacetat (93:7). Prskanjem kromatograma otopinom anisaldehida te zagrijavanjem na 100°C vizualizirane su sastavnice eteričnog ulja (30).

## REZULTATI I RASPRAVA

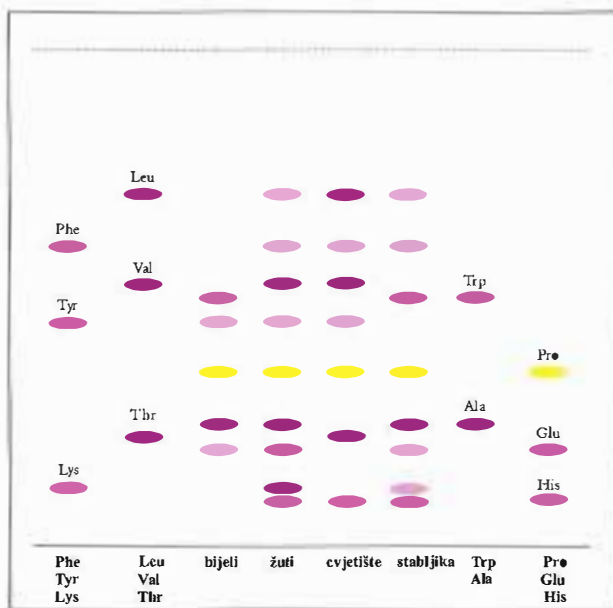
Kvalitativna analiza flavonoida kamilice provedena je kromatografskim odjeljivanjem metanolnih ekstrakata bijelih i žutih cvjetova, cvjetišta te stabljike kamilice na tankom sloju silikagela. Nakon primjene NST/PEG reagensa, na kromatogramu su u UV svjetlu (365 nm) detektirane zone flavonoida narančaste i žutozelene fluorescencije te zone fenolkarboksilnih kiselina i kumarina plave i ljubičaste fluorescencije (slika 1).



Slika 1. Kromatogram flavonoida kamilice  
Nepokretna faza: Kieselgel 60 F<sub>254</sub>  
Pokretna faza: etilacetat – mravlja kiselina – voda 8:1:1  
Detekcija: NST/PEG; UV-365 nm  
Uzorci: metanolni ekstrakti bijelih cvjetova (**bi.jeli**), žutih cvjetova (**žuti**), cvjetišta (**cv.jetište**) i stabljike (**stabl.jika**) kamilice  
Poredbene supstancije: **R** – rutin ( $R_F=0,35$ ), **H** – hiperozid ( $R_F=0,60$ ), **AG** – apigenin-7-glukozid ( $R_F=0,72$ ), **AAG** – apigenin-7-acetilglukozid ( $R_F=0,86$ ), **ADAG** – apigenin-7-diacetilglukozid ( $R_F=0,73$ ), **LG** – luteolin-7-glukozid ( $R_F=0,66$ )

Vidljivo je da su bijeli i žuti cvjetovi mnogo bogatiji flavonoidnim sastavnicama u usporedbi sa cvjetištem i stabljikom. Na kromatogramu bijelih cvjetova kamilice, na kojem je otkriveno najviše odijeljenih zona, prevladavaju flavonoidne sastavnice žutozelene fluorescencije, tj. derivati apigenina (njih čak 7). Uz karakterističnu zonu intenzivne žutozelene fluorescencije apigenin-7-

glukozida ( $R_F=0,72$ ), u ekstraktu su kromatografski dokazana još dva derivata apigenina, apigenin-7-acetilglukozid ( $R_F=0,86$ ) i apigenin-7-diacetilglukozid ( $R_F=0,73$ ), te luteolin-7-glukozid ( $R_F=0,66$ ). U ekstraktu žutih cvjetova kamilice dvije šire narančaste zone identificirane su kao hiperozid ( $R_F=0,60$ ) i luteolin-7-glukozid ( $R_F=0,66$ ). Ovi cvjetovi sadrže i apigenin-7-glukozida ( $R_F=0,72$ ) te nekoliko fenolkarboksilnih kiselina. Kromatogrami ekstrakata cvjetišta i stabljike kamilice pokazuju da ti dijelovi sadrže znatno manje flavonoida. Naime, u ekstraktu cvjetišta prisutne su samo dvije flavonoidne sastavnice, od kojih je jedna luteolin-7-glukozid ( $R_F=0,66$ ), dok su u stabljici kamilice detektirane tri flavonoidne sastavnice slabijeg intenziteta koje kromatografski odgovaraju rutinu ( $R_F=0,35$ ), hiperozidu ( $R_F=0,60$ ) i luteolin-7-glukozidu ( $R_F=0,66$ ).



Slika 2. Kromatogram aminokiselina kamilice

Nepokretna faza: celuloza F

Pokretna faza: *n*-butanol – aceton – ledena octena kiselina – voda 35:35:10:20

Detekcija: ninhidrin reagens; 100°C

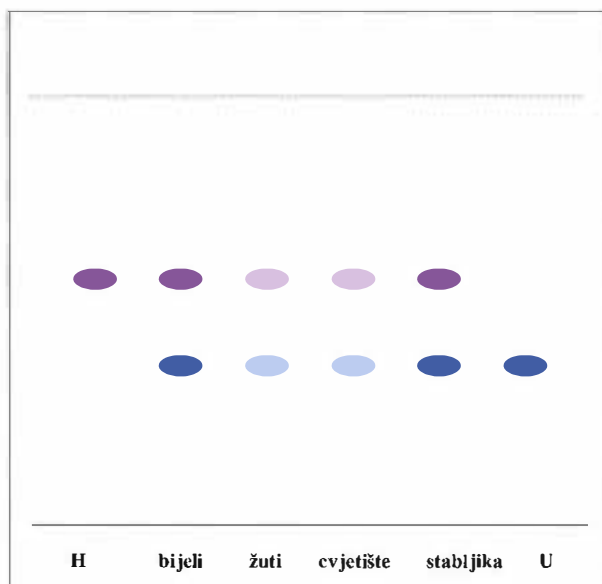
Uzorci: vodeni ekstrakti bijelih cvjetova (**bijeli**), žutih cvjetova (**žuti**), cvjetišta (**cvjetišta**) i stabljike (**stabljika**) kamilice

Poredbene supstanci je: **His** – histidin ( $R_F=0,12$ ), **Lys** – lizin ( $R_F=0,14$ ), **Glu** – glutaminska kiselina ( $R_F=0,23$ ); **Thr** – treonin ( $R_F=0,27$ ); **Ala** – alanin ( $R_F=0,30$ ), **Pro** – prolin ( $R_F=0,35$ ), **Tyr** – tirozin ( $R_F=0,44$ ), **Trp** – triptofan ( $R_F=0,50$ ), **Val** – valin ( $R_F=0,52$ ), **Phe** – fenilalanin ( $R_F=0,59$ ), **Leu** – leucin ( $R_F=0,67$ )



Aminokiselinski sastav dijelova kamilice ispitan je tankoslojnom kromatografijom na sloju celuloze pomoću razvijaača n-butanol -acetone - ledena octena kiselina - voda (35:35:10:20). Nakon primjene ninhidrin reagensa i zagrijavanja, uočene su ružičaste, ljubičaste i žute zone, a dobiveni kromatogram prikazan je na slici 2.

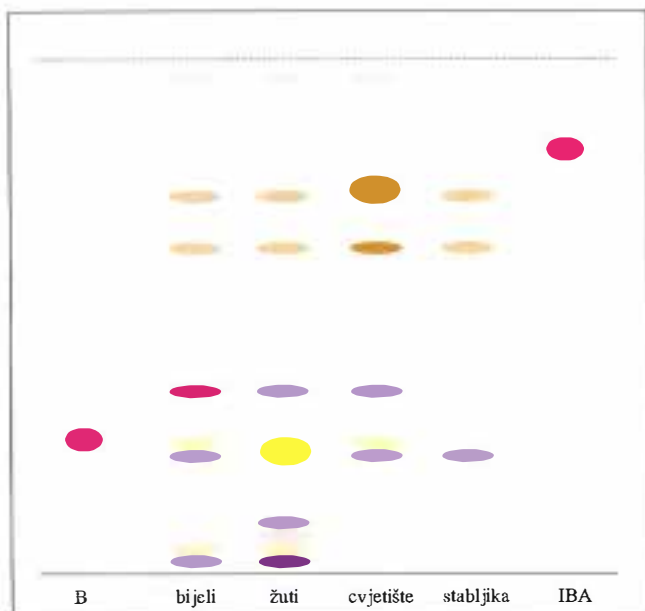
Na kromatogramu bijelih cvjetova detektirano je pet obojenih zona, koje su, nakon usporedbe s bojom i  $R_F$  vrijednošću poredbenih aminokiselina, identificirane kao triptofan (Trp), tirozin (Tyr), prolin (Pro), alanin (Ala) i glutaminska kiselina (Glu). U ekstraktima žutih cvjetova, cvjetišta i stabljike kamilice identificirano je više aminokiselina nego u ekstraktu bijelih cvjetova. Tako su na kromatogramu žutih cvjetova vidljive zone koje potječu od leucina (Leu), fenilalanina (Phe), valina (Val), tirozina (Tyr), prolina (Pro), alanina (Ala), glutaminske kiseline (Glu), lizina (Lys) i histidina (His). U cvjetištu kamilice sadržani su leucin (Leu), fenilalanin (Phe), valin (Val), tirozin (Tyr), prolin (Pro), treonin (Thr) i histidin (His), a aminokiseline stabljike kamilice redom su identificirane kao leucin (Leu), fenilalanin (Phe), triptofan (Trp), prolin (Pro), alanin (Ala), glutaminska kiselina (Glu), lizin (Lys) i histidin (His).



Slika 3. Kromatogram kumarina kamilice  
Nepokretna faza: Kieselgel 60  $F_{254}$   
Pokretna faza: toluen - eter 1:1 / zasić. octenom kiselinom  
Detekcija: UV-365 nm  
Uzorci: metanolni ekstrakti bijelih cvjetova (**bijeli**), žutih cvjetova (**žuti**), cvjetišta (**cvjetišta**) i stabljike (**stabljika**) kamilice  
Poređbene supstancije: **H** - herniarin ( $R_F=0,60$ )  
**U** - umbeliferon ( $R_F=0,40$ )

Pri ispitivanju kumarinskih spojeva na tankom su sloju silikagela odijeljene dvije zone koje u UV svjetlu na 365 nm fluoresciraju plavo, odnosno ljubičasto (**slika 3**). U svim ispitivanim uzorcima, dakle u bijelim i žutim cvjetovima te stabljici i cvjetištu kamilice detektirana je zona plave fluorescencije, koja kromatografski odgovara umbeliferonu ( $R_F=0,40$ ), i ljubičasta zona, koja pripada herniarinu ( $R_F=0,60$ ). Usporedbom intenziteta fluorescencije pojedinih zona može se zaključiti da su bijeli cvjetovi i stabljika kamilice nešto bogatiji sadržajem kumarina u odnosu na žute cvjetove i cvjetište.

Kromatografiranjem metilenkloridnih ekstrakata bijelih i žutih cvjetova, cvjetišta te stabljike kamilice na tankom sloju silikagela pomoću razvijača toluen - etilacetat (93:7) ispitana je prisutnost komponenata koje se, osim matricina, nalaze i u sastavu eteričnog ulja kamilice. Nakon prskanja ploče otopinom anisaldehida i zagrijavanja na  $100^\circ\text{C}$ , dobiven je kromatogram prikazan na **slici 4**. Odijeljene su zone na temelju boje i  $R_F$  vrijednost identificirane prema literaturnim podacima (30, 31). Ljubičasta zona iznad starta



**Slika 4.** Kromatogram komponenata eteričnog ulja kamilice  
Nepokretna faza: Kieselgel 60  $F_{254}$   
Pokretna faza: : toluen – etilacetat 93:7  
Detekcija: otopina anisaldehida;  $100^\circ\text{C}$   
Uzorcima: metilenkloridni ekstrakti bijelih cvjetova (**bijeli**), žutih cvjetova (**žuti**), cvjetišta (**cvjetište**) i stabljike (**stabljika**) kamilice  
Poredbene supstancije: **B** – borneol ( $R_F=0,35$ ), **IBA** – izobornilacetat ( $R_F=0,80$ )

pripada matricinu i detektirana je na kromatogramu žutih i bijelih cvjetova kamilice. U visini poredbenog borneola na kromatogramima žutih i bijelih cvjetova te cvjetišta kamilice smještene su žute zone bisaboloksida ( $R_F$  oko 0,2) i ljubičasta zona ( $R_F=0,35$ ) koja pripada bisabololu. U  $R_F$  području izobornilacetata (0,6–0,7) u svim ispitivanim dijelovima kamilice prisutne su dvije smeđe zone, koje pripadaju spiroeterima. Usporedbom intenziteta obojenja pojedinih zona možemo utvrditi da su bijeli cvjetovi relativno najbogatiji bisabololom, žuti cvjetovi matricinom i bisaboloksidima, a cvjetišta spiroeterima. U stabljici su prisutni tek tragovi sastavnica eteričnog ulja.

## ZAKLJUČAK

Istraživanje prisutnosti flavonoida, aminokiselina, kumarina i komponenata eteričnog ulja u pojedinim dijelovima kamilice (*Matricaria recutita* L.) provedeno je metodom tankoslojne kromatografije.

Zabilježene su znatne razlike u sastavu i količini flavonoida između bijelih i žutih cvjetova, cvjetišta te stabljike kamilice. U bijelim cvjetovima kamilice, koji se najviše osipaju pri berbi i preradi, dokazana je prisutnost najvećeg broja flavonoidnih spojeva, prvenstveno derivata apigenina, dok su u žutim cvjetovima dominantni derivati kvercetina i luteolina. Zeleni dijelovi kamilice (cvjetišta i stabljika) sadrže znatno manje flavonoida u odnosu na cvjetove.

Poredbena analiza aminokiselinskog sastava pokazala je određene specifičnosti glede broja, vrste i količine aminokiselina u pojedinim biljnim dijelovima kamilice. Najmanje aminokiselina otkriveno je u ekstraktu bijelih cvjetova. Ostali dijelovi kamilice ne pokazuju značajnije razlike glede aminokiselinskog sastava. Usporedbom sa standardnim supstancijama dokazane su sljedeće aminokiseline: leucin (Leu), fenilalanin (Phe), valin (Val), triptofan (Trp), tirozin (Tyr), prolin (Pro), alanin (Ala), treonin (Thr), glutaminska kiselina (Glu), lizin (Lys) i histidin (His).

Dokazano je, nadalje, da svi ispitivani dijelovi kamilice sadrže kumarinske spojeve herniarin i umbeliferon, a usporedbom intenziteta fluorescencije odijeljenih zona na kromatogramu, moglo se zaključiti da su tim spojevima relativno bogatiji bijeli cvjetovi i stabljika.

Ispitivanje prisutnosti komponenata eteričnog ulja pokazalo je da su bijeli cvjetovi kamilice bogati bisabololom, žuti cvjetovi obiluju matricinom i bisaboloksidima, dok su u cvjetištu najzastupljeniji spiroeteri.

Poredbena kromatografska ispitivanja pokazuju da bijeli i žuti cvjetovi te cvjetišta cvjetnih glavica kamilice najviše pridonose svojim bioaktivnim sastavom, poglavito sadržajem flavonoida i sastavnica eteričnog ulja, ukupnom djelatnom kompleksu, a time i terapijskoj vrijednosti droge *Matricariae flos*.

### Literatura – References

1. l.c. iz H. *Schilcher*, Die Kamille, Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler, Wiss. Verlagsges. mbH Stuttgart, 1987
2. G. *Stanić*, B. *Katušić-Ražem*, J. *Petričić*, Farm. Glas. **41** (1988) 179.
3. M. *Medić-Šarić*, G. *Stanić*, Ž. *Maleš*, S. *Šarić*, J. Chromatogr. A **776** (1997) 355.
4. G. *Stanić*, N. *Blažević*, I. *Bošnjak*, Z. *Ostojić*, Farm. Glas. **56** (2000) 139.
5. M. *Medić-Šarić*, G. *Stanić*, I. *Bošnjak*, Pharmazie **56** (2001) 156.
6. H. *Wagner*, Pharmazeutische Biologie, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York 1988, 78
7. E. *Fuller*; S. *Sosa*, A. *Tubaró*, et al, Planta Med. **59** (1993) A638.
8. R. *Della Loggia*, R. *Carle*, S. *Sosa*, et al, Planta Med. **56** (1990) 657.
9. H. *Safayhi*, J. *Sabieraj*, E. R. *Sailer*; et al, Planta Med. **60** (1994) 410.
10. E. A. *Rekka*, A. P. *Kourounakis*, P. N. *Koiurounakis*, Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. **92** (1996) 361.
11. H. P. T. *Ammon*, J. *Sabieraj*, R. *Kaul*, Dtsch. Apoth. Ztg. **136** (1996) 1821.
12. T. *Miller*, U. *Wittstock*, U. *Lindequist*, et al, Planta Med. **62** (1996) 60.
13. V. G. *Makarou*, A. N. *Shikov*, N. *Pozharitskaya*, A. S. *Kvetnaya*, Proceedings of the 50th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, Barcelona, 8–12. September 2002.
14. G. *Stamatis*, P. *Kyriazopoulos*, S. *Golegou*, A. *Basayiannis*, S. *Skaltsas*, H. *Skaltsa*, J. Ethnopharmacol. **88** (2003) 175.
15. H. *Wei*, L. *Tye*, E. *Bresnick*, et al, Cancer Res. **50** (1990) 499.
16. F. *Sato*, Y. *Matsukawa*, K. *Matsumoto*, et al, Biochem. Biophys. Res. Commun. **204** (1994) 578.
17. D. M. *Lepley*, B. *Li*, D. F. *Birt*, et al, Carcinogenesis. **71** (1996) 2367.
18. J. *Panes*, M. E. *Gerritsen*, D. C. *Anderson*, et al, Microcirculation **3** (1996) 279.
19. D. F. *Birt*, D. *Mitchell*, B. *Gold*, et al, Anticancer Res. **17** (1997) 85.
20. D. M. *Lepley*, J. C. *Pelling*, Mol. Carcinog. **19** (1997) 74.
21. L. L. *Kliachko*, E. S. *Ankhimova*, N. N. *Svitina*, et al, Vestn. Otorinolaringol. **2** (1994) 31.
22. Z. *Amirghofran*, M. *Azadbakht*, M. H. *Karimi*, J. Ethnopharmacol. **72** (2000) 167.
23. H. *Viola*, C. *Wasowski*, M. *Levi de Stein*, et al, Planta Med. **61** (1995) 213.
24. J. B. *Salgueiro*, P. *Ardenghi*, M. *Dias*, M. B. *Ferreira*, I. *Izquierdo*, J. H. *Medina*, Pharmacol. Biochem. Behav. **58** (1997) 887.
25. R. *Avallone*, P. *Zanoli*, L. *Corsi*, G. *Cannazza* and M. *Baraldi*, Phytothe. Res. **10** (1996) 177.
26. P. *Zanoli*, R. *Avallone*, M. *Baraldi*, Fitoterapia **71** (2000) S 117.
27. R. *Avallone*, P. *Zanoli*, G. *Puia*, M. *Kleinschnitz*, P. *Schreier*; M. *Baraldi*, Biochem. Pharmacol. **59** (2000) 1387.
28. A. *Gomaa*, T. *Hashem*, M. *Mohamed*, E. *Ashry*, J. Pharmacol. Sci. **92** (2003) 50.
29. M. *Luckner*; O. *Bessler*; R. *Luckner*, Pharmazie **304** (1971) 557.
30. H. *Wagner*; S. *Bladt*, E. M. *Zgainski*, Drogenanalyse, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1983.
31. European pharmacopoeia, Fourth Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2002.

Primljeno 16. III. 2004.