

# Određivanje flavonoida u komercijalnim uzorcima kamiličinog cvijeta

---

**Mahovlić, Lucia**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:287989>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Lucia Mahovlić**

**Određivanje flavonoida u  
komercijalnim uzorcima kamiličinog cvijeta**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutskog-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Biljane Blažeković.

*Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Biljani Blažeković na stručnom vodstvu, pomoći, savjetima te uloženom trudu i vremenu tijekom istraživanja i izrade diplomskog rada. Također, zahvaljujem ostalim djelatnicima zavoda na pomoći prilikom rada u labosu tijekom provođenja istraživanja, posebice tehničkoj suradnici Luciji Halusek.*

*Veliko hvala mojoj sestri i roditeljima na bezuvjetnoj podršci, bodrenju i razumijevanju tijekom cjelokupnoga školovanja. Također, zahvaljujem se obitelji i prijateljima na podršci i što su bili uz mene tijekom mog studiranja.*

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1 Botanička obilježja vrste <i>Matricaria recutita</i> L.....	2
1.2. Biljna droga Matricariae flos.....	4
1.3. Fitokemijski sastav biljne droge Matricariae flos .....	5
1.3.1. Flavonoidi.....	5
1.4 Tradicionalna upotreba različitih ljekovitih oblika droge Matricariae flos.....	7
1.5 Neklinički i klinički učinci droge Matricariae flos .....	8
1.6 Indikacije i sigurnosni profil biljne droge Matricariae flos.....	11
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	13
3. MATERIJALI I METODE .....	15
3.1 Biljni materijal.....	16
3.2 Kemikalije (standardi, reagensi i ostale kemikalije) .....	18
3.3 Instrumenti i pribor.....	18
3.4 Metode.....	19
3.4.1. Priprema uzorka .....	19
3.4.2. Kvalitativna analiza flavonoida metodom tankoslojne kromatografije .....	19
3.4.3 Kvantitativna analiza flavonoida spektrofotometrijskom metodom .....	19
3.4.4. Statistička obrada podataka .....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	21
4.1. TLC profil flavonoida u komercijalnim uzorcima kamiličinog cvijeta .....	22
4.2 Sadržaj flavonoida u komercijalnim uzorcima kamiličinog cvijeta.....	24
5. ZAKLJUČCI.....	29
6. LITERATURA.....	31
7. SAŽETAK/SUMMARY .....	36
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD.....	38

# 1. UVOD

*Matricaria recutita* L. popularna je biljna vrsta poznatih blagodati s dugom tradicijskom primjenom u pučkoj medicini. Brojna dosadašnja istraživanja potvrdila su opravdanost tradicionalnog korištenja kamilice, ali kamilica je i danas predmet novih, brojnih istraživanja čiji su rezultati obećavajući. Ova lako dostupna i cjenovno povoljna ljekovita biljka često se koristi u osobne i industrijske svrhe. Kemijske sastavnice kamiličinog cvijeta dobro su istražene i vrlo cijenjene zbog svoje ljekovitosti, a osim eteričnog ulja sve je veće zanimanje za polifenolne sastavnice s obzirom na njihovu dokazani terapijski potencijal općenito. Ovaj diplomski rad bavi se analiziranjem flavonoidnih sastavnica kamiličinog cvijeta.

### **1.1 Botanička obilježja vrste *Matricaria recutita* L.**

*Matricaria recutita* L. (sin. *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) je biljka iz porodice glavočika (Asteraceae). U hrvatskom jeziku naziva se kamilica, prava kamilica ili njemačka kamilica (Slika 1). Kamilica je zeljasta biljka jednostavne građe koja može narasti do 55-60 centimetara visine. Stabljika je razgranate strukture s uskim, perasto razdijeljeni i naizmjeničnim listovima. Na vrhu ogranka smještene su pojedinačne cvjetne glavice, građene od žutih, cjevastih cvjetova koji čine središnji dio i bijelih, jezičastih rubnih cvjetova koji ih okružuju. Samo cvjetište je čunjastog oblika, a iznutra šuplje (Kušan, 1956, Kuštrak, 2005). Plod je roška ravnog i glatkog vanjskog dijela, dok je unutarnji dio je podijeljen na više, najčešće pet, rebara. Suha čaška koja se nalazi na plodu glavočika, papus, najčešće je manje veličine i u obliku ruba ili krunice, a nerijetko nedostaje (Domac, 1973, Grdinić i Kremer, 2009).

Ova jednogodišnja biljka, prepoznatljivog ugodnog mirisa i gorkastog okusa, cvate tijekom cijelog ljeta, a za drogu se sabiru cvjetne glavice u lipnju i srpnju (Kušan, 1956, Gursky, 1999). Kamilica je široko rasprostranjena biljka koja uglavnom raste na europskim i azijskim područjima. Iako raste samoniklo uz obradive površine i livade, najčešće se zbog sve većih tržišnih potreba uzgaja. Najveći proizvođači su Argentina, Egipat, Mađarska i Češka. Također se intenzivno uzgaja u Republici Hrvatskoj gdje nasade zbog pogodnog tla nalazimo u Podravini, Slavoniji i Baranji (Kuštrak, 2005). Osim za medicinsku primjenu, kamilica se često uzgaja za potrebe proizvodnje kozmetičkih proizvoda (Marković, 2005).



**Slika 1.** *Matricaria recutita* L. (preuzeto s <https://www.plantea.com.hr>)

Ova biljna vrsta izvor je dviju ljekarničkih droga, *Matricariae* (*Chamomillae*) flos i *Matricariae* aetheroleum. Biljka se zbog sličnosti često zamjenjuje s rimskom kamilicom (*Chamaemelum nobile* (L.) Allioni). Rimsku kamilicu je manje popularna u središnjoj Europi zbog popularnosti i velike potrošnje prave kamilice. Cvjetne glavice rimske kamilice su većih dimenzija nego glavice prave kamilice (Schulz i sur., 2001). U zemljama zapadne Europe rimska kamilica se u govoru naziva „kamilica“, a prava kamilica „njemačka kamilica“, što potencijalno može dovesti do nesporazuma. U zapadnoj Europi rimska kamilica se primjenjuje u iste medicinske svrhe, no kemijski sastav ovih dviju biljaka znatno se razlikuje (Toplak Galle, 2005). Eterično ulje rimske kamilice sadrži neterpenske estere anđelikine kiseline i seskviterpenske laktone, poput karakterističnog nobiletina. Preostale aktivne tvari rimske kamilice su flavonoidi sličnog sastava kao u njemačke kamilice, hidroperoksidi antibakterijskog djelovanja i ostale manje zastupljene sastavnice (Kremer, 2018; Toplak Galle, 2005).

## 1.2. Biljna droga *Matricariae flos*

*Matricariae flos* je ljekarnička droga definirana kao osušene cvjetne glavice vrste *Matricaria recutita* L. (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) (EDQM, 2018). Cvjetne glavice su sastavljene od ovoja kojeg čine mnogobrojni ovojni listići, poslagani u jedan do tri reda. Imaju izduženo-stožasto cvjetište, ponekad polukuglasto (kod mladih glavica). Sadrže 12 do 20 rubnih jezičastih cvjetića s bijelim jezičcem i nekoliko desetaka žutih središnjih cjevastih cvjetića. Ovojni palistići su jajoliki ili suličasti sa smečkastosivim suhokožičavim rubom. Cvjetište je šuplje, bez pljeve. Osnovica cvjetnog vjenčića jezičastih cvjetića je smečkastožuta cijev koja se proširuje u obliku bijelog produženo jajolikog jezičca. Podrasla plodnica je tamnosmeđa, jajolika ili kuglasta i sadrži dugačak tučkov vrat i dvočepnu njušku. Cjevasti cvjetići su žuti i imaju peterostruko nazubljenu cijev cvjetnog vjenčića, pet singenezijskih, epipetalnih prašnika i ginecej sličan onom od jezičastih cvjetića (EDQM, 2018). Droga farmakopejske kakvoće, osim zahtjevima čistoće, mora udovoljavati i zahtjevima za sadržaj ljekovitih tvari odnosno sadržavati najmanje 4 mL/kg plavog eteričnog ulja i najmanje 0,25 % ukupnog apigenin-7-glukozida. Veliku važnost potrebno je posvetiti pravilnom pakiranju droge nakon sušenja kako prilikom čuvanja ne bi došlo do gubitka lakohlapljivog eteričnog ulja (Toplak Galle, 2005).



**Slika 2.** Biljna droga *Matricariae flos* (privatna fotografija)

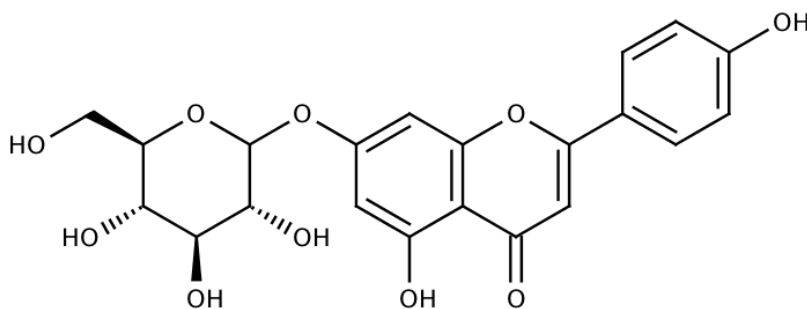


### 1.3. Fitokemijski sastav biljne droge *Matricariae flos*

Biljna droga *Matricariae flos* obiluje ljekovitim spojevima te se tradicionalno koristi u različite terapijske svrhe. Fitokemijski sastav droge karakterizira značajan udio eteričnog ulja. Eterično ulje je plave boje zbog prisutnosti kamazulena koji nastaje tijekom destilacije iz bezbojnog proazulena matricina. Udio eteričnog ulja je promjenjiv i kreće se u rasponu od 0,3 % do 1,9 %, ovisno o podneblju gdje je biljka uzgajana, sorti kamilice i kemotipu (Kuštrak, 2005). Glavna bioaktivna sastavnica eteričnog ulja je seskviterpen (-)- $\alpha$ -bisabolol i njegovi oksidi koji zajedno čine više od 50 % eteričnog ulja. U visokom postotku sadržana su i dva poliina, cis- i trans-en-in-dicikloeteri (spiroeteri, do 25 %) i azuleni (najvažniji kamazulen do 15 %). Od ostalih sastavnica prisutni su terpeni kao što su spatulenol, farnezen, kamomilol,  $\beta$ -kariofilen i kariofilenoksid (Samuelsson i Bohlin, 2009; Barnes i sur., 2007; Kuštrak, 2005; ESCOP, 2003; Gursky, 1999). Uz eterično ulje, za ljekovitost kamiličnih cvjetova najviše su odgovorni flavonoidi. Njihov je udio promjenjiv i iznosi do 6 %. Najznačajniji flavonoid je apigenin-7-glukozid (0,5 %), a pored njega cvijet kamilice sadrži i apigenin, luteolin, kvercetrina, rutin, apigetrin i dr. (Barnes i sur., 2007; Kuštrak, 2005; ESCOP, 2003; Schulz i sur., 2001; HMPC, 2015). Droga također sadrži kumarine herniarin i umbeliferon (Barnes i sur., 2007; Marković, 2005; ESCOP, 2003). Od ostalih sastavnica u kamiličnom cvijetu nalazimo šećere, lipide, aminokiseline, fitosterole i minerale (Barnes i sur., 2007; Kuštrak, 2005).

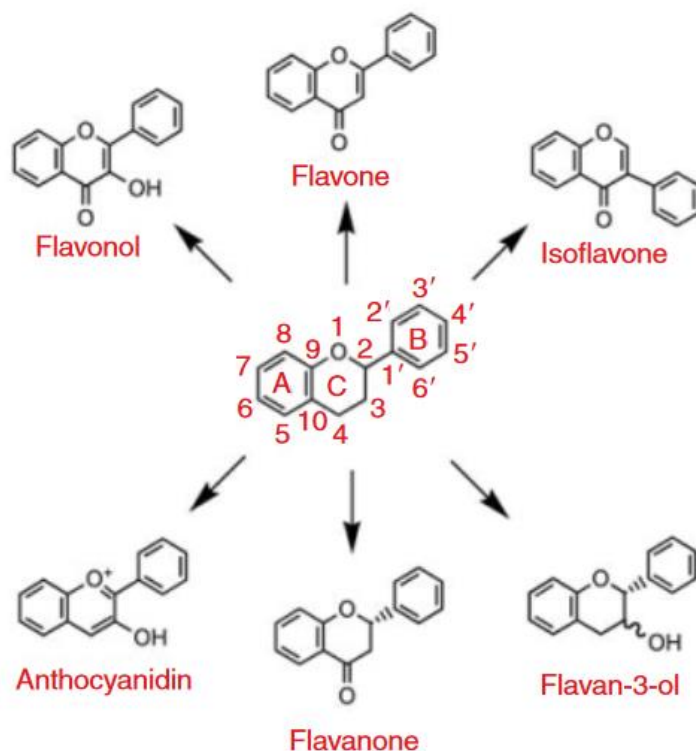
#### 1.3.1. Flavonoidi

Flavonoidi su polifenolne sastavnice koje nalazimo u brojnim ljekovitim biljkama i bitan su dio ljudske prehrane jer im se pripisuje značajna uloga u očuvanju ljudskog zdravlja. Ubrajaju se u sekundarne metabolite koji nisu neophodni za opstanak biljke, a korisni su u zaštiti biljke od štetnog UV zračenja, mikroorganizama i biljoždera (Crozier i sur., 2006).



Slika 3. Struktura apigenina-7-O-glukozida

Osnova strukture flavonoidnih sastavnica je 2-fenil- $\gamma$ -benzopiron. Dvije aromatske jezgre povezane propilnim mostom u C6-C3-C6 konfiguraciji čine flavonoidni aglikon. Flavonoide u biljnim drogama uglavnom nalazimo u glikozidnom obliku. Šećeri i hidroksilne skupine koji su često vezani na osnovnu strukturu povećavaju topljivost flavonoida u vodi, a rijetko vezane metilne i duže alkilne skupine stvaraju suprotan učinak. Ova skupina spojeva broji više tisuća različitih struktura koje je moguće podijeliti u nekoliko podskupina. Veliki broj podskupina nastaje zbog promjena na osnovnoj strukturi te su najčešće promjene oksidacija C prstena (npr. postojanje karbonilne skupine na C4 i dvostruka veza između C2 i C3) i manje promjene na A i B prstenu (npr. hidroksilacija B prstena). Šest osnovnih podskupina flavonoida su flavoni, flavonoli, flavanoni, flavanoli, antocijanidi i izoflavonoidi (Vladimir-Knežević i sur., 2012; Medić-Šarić i sur., 2008; Crozier i sur., 2006). Strukturne razlike i sličnosti podskupina flavonoida prikazane su na Slici 4.



**Slika 4.** Prikaz podjele i osnovnih struktura pojedinih podskupina flavonoida (preuzeto iz Crozier i sur., 2006).

Za terapijsko djelovanje kamilice najznačajniji od navedenih flavonoida je apigenin iz skupine flavona odnosno njegov glikozidni derivat apigenin-7-glukozid čija je potpuna struktura

prikazana na Slici 3 (Samuelsson i Bohlin, 2009; Schulz i sur., 2001). Flavonoidi općenito djeluju spazmolitički, a pripisuju im se i protuupalni, diuretski, antihepatotoksični, antialergijski i dijaforetski učinci (Kuštrak i sur., 2005). Brojna novija istraživanja potvrđuju pozitivne učinke flavonoida na ljudsko zdravlje te su im dokazani još i antibakterijski, antioksidativni, antikancerogeni i estrogenu učinak te inhibitorna djelovanja na brojne enzime u ljudskom organizmu pa se stoga smatra da imaju značajnu ulogu u prevenciji i liječenju različitih bolesti (Panche i sur., 2016; Tungmunnithum i sur., 2018).

#### **1.4 Tradicionalna upotreba različitih ljekovitih oblika droge *Matricariae flos***

Kamiličine cvjetove na tržištu susrećemo u sastavu različitih fitopreparata, no tradicionalno su najpopularniji i najdostupniji kao biljni čaj koji se primjenjuje u obliku infuza. Spominju su različiti načini pripremanja čaja, ovisno o učinku koji želimo postići, a uobičajena priprema čaja kamilice podrazumijeva prelijevanje jedne žlice biljne droge vreloom vodom u količini od 2 dl. Nakon 5-minutnog stajanja, čaj se procijedi i konzumira (Savković, 2017). Nije preporučljivo dugo grijati kamiličin cvijet na visokim temperaturama već ga treba samo prelit kipućom vodom kako ne bi došlo do hlapljenja eteričnog ulja. Također, duga tradicionalna primjena govori da oralno primjenjene velike količine čaja kamilice mogu uzrokovati gastrointestinalne nuspojave poput povraćanja i mučnine (Gursky, 1999). Čaj kamilice se u narodnoj medicini najviše koristi kao pomoć kod probavnih tegoba, blažih infekcija oka, upala grla i krajnika (Savković, 2017). Kamilica u narodu slovi kao biljka sigurna za upotrebu kod djece pa Grusky (1999) navodi primjenu kamiličinog čaja za ublažavanje dojenačkih kolika. Osim oralne primjene kamiličinog cvijeta u obliku čaja, lokalno se koristi za grgljanje i ispiranje te u obliku obloga. Savković (2017) u svojoj knjizi spominje korištenje obloga kamilice s dodatkom vinskog octa za bolove u kostima, a oblog kamilice i mlijeka preporučuje za ublažavanje menstrualnih tegoba u žena. Nadalje, uljni pripravak cvijeta kamilice i maslinovog ulja koristi se za liječenje dermatoloških problema i može se primijeniti kao kupka ili oblog kod iritacija kože različitih uzroka. Također se pripremaju tinkture cvijeta kamilice pomoću 70%-tnog alkohola koje služe liječenju bolesti usne šupljine. Zabilježena je primjena eteričnog ulja kamilice kod respiratornih problema u slučaju astme (Savković, 2017). Kupelji kamilice pripremljene u litri vode pomažu kod upalnih bolesti kože i hemeroida (Toplak Galle, 2005). Kamilica se u narodnoj medicini često koristi prije spavanja za smirenje i nesanicu te za ublažavanje bolova i grčeva različitih uzroka (Zovkić, 1999).

## 1.5 Neklinički i klinički učinci droge *Matricariae flos*

Brojne farmakološke studije pokazale su da pripravci kamilice i njezine sastavnice pokazuju mnoga svojstva *in vivo* i *in vitro*. Neklinički podaci uvelike govore u prilog tradicionalnoj uporabi. Kamiličinom cvijetu pripisuju se svojstva antiflogistika, antiseptika, spazmolitika, sedativa, karminativa i slabog antidijaroika, a djeluje i protuupalno te potiče zacjeljivanje rana (Kremer, 2018; Kuštrak, 2005; Toplak Galle, 2005).

Kamiličini cvjetovi posjeduju protuupalna svojstva za koja su zaslužni bisabolol i njegovi oksidi te kamazulen. Kamazulen je u *in vitro* istraživanju provedenom na neutrofilima štakora djelovao protuupalno značajno smanjujući stvaranje medijatora upale leukotriena B<sub>4</sub>, ovisno o koncentraciji. Kamazulen je već pri niskim koncentracijama (IC<sub>50</sub> = 15 μM) inhibirao stvaranje leukotriena B<sub>4</sub> 5-lipoksigenazom, dok matricin nije pokazao isto djelovanje niti pri većim koncentracijama (IC<sub>50</sub> = 200 μM) (Safayhi i sur., 1994). Nadalje, rezultati istraživanja koje potvrđuje tradicionalnu primjenu kamilice u analgetske svrhe pokazuju da peroralno korištenje ulja kamilice bogatog bisabolol oksidima A i B, provedeno na štakorima, kod kojih je induciran upalni odgovor trima različitim proupalnim tvarima, ublažava bolove i edeme uzrokovane upalom. Jačina djelovanja plavog ulja kamilice, izoliranog iz osušenih cvjetnih glavica, ovisi o danoj dozi i uzročniku upale i boli. U slučaju lokalne upale uzrokovane karagenan proupalnim agensom u štakora dokazan je značajan antihiperalgezijski i antiedematozni učinak ulja cvijeta kamilice bogatog bisabolol oksidima primjenjivan profilaktički i terapijski peroralno u usporedbi s ibuprofenom i indometacinom (Tomić i sur., 2014).

Za ljekovitost kamiličinog cvijeta jednako su važni i flavonoidi, posebice apigenin, često istraživani zbog svog protuupalnog i spazmolitičkog djelovanja (Samuelsson i Bohlin, 2009; Kuštrak, 2005). Ustanovljeno je da je apigenin jedan od najpotentnijih flavonoida u inhibiciji ekspresije proupalnih enzima, inducibilne ciklooksigenaze (COX-2) i inducibilne sintaze dušikova oksida (iNOS), te da sprječava odvijanje daljnjih upalnih procesa u stanici (Liang i sur., 1999).

*In vitro* istraživanje spazmolitičkog utjecaja apigenina na gastrointestinalni sustav pokazalo je nekoliko puta potentniji učinak apigenina od samog mišićnog relaksansa papaverina i nekolicine flavonoida, kao što su kvercetin, patuletin i luteolin, koji su pokazali značajno lošije rezultate odnosno slab spazmolitički učinak na izoliranim stanicama završnog dijela tankog crijeva zamoraca (Achtterrath-Tuckermann i sur., 1980). Istraživanja koja potvrđuju protuupalna djelovanja kamilice i značajnu ulogu flavonoida ukazuju da kamilica ublažava tegobe gastrointestinalnog trakta tako što djeluje antiulkusno i antioksidativno, a za to

djelovanje su najzaslužniji flavonoidni glikozidi (El Souda i sur., 2014; Bulgari i sur., 2012; Cemek i sur., 2010). Pojedina istraživanja upućuju da se mehanizam protuupalnog djelovanja infuza cvijeta kamilice na gastrointestinalnom traktu zasniva na inhibiciji neutrofilne elastaze i metaloproteinaze-9 što je istraživano na humanim AGS stanicama. U spomenutom istraživanju, zasebno su proučavani pojedinačni flavonoidni glikozidi usporedno s infuzom cvijeta kamilice čiji rezultati upućuju da su za inhibiciju spomenutih enzima zaslužni flavonoidni glikozidi (Bulgari i sur., 2012).

S obzirom na navedeno, infuz cvijeta kamilice učinkovit je pri ublažavanju simptoma gastrointestinalnih bolesti kao što su čirevi, nadutost i proljev (Kuštrak, 2005; Marković, 2005). Polisaharidi pomažu imunosnom sustavu u borbi protiv infekcija tako što potenciraju proces fagocitoze imunosnih stanica (Toplak Galle, 2005).

Novija istraživanja potvrđuju opravdanost tradicionalne primjene kamilice te donose nova saznanja o potencijalnim djelovanjima kamilice koja bi mogla proširiti područja primjene kamilice.

Studija iz 2020. godine ističe važnost potencijalnog hepatoprotektivnog učinka vodenog ekstrakta kamilice koji je proučavan na miševima, a temelji se na antioksidativnom i antikancerogenom učinku flavonoida (Shebbo i sur., 2020). Prema novim istraživanjima visoke doze kamiličinog ulja povoljno utječu na *diabetes mellitus* tipa 1 tako što kamiličino ulje svojim protuupalnim djelovanjem smanjuje upalne citokine i upalne procese izazvane navedenom bolešću te smanjuje razinu glukoze u krvi ispitivanih životinja (Saghahazrati i sur., 2020). Nadalje, *in vivo* je zabilježen i povoljan utjecaj na neurološka oštećenja nastala uslijed šećerne bolesti tipa 2 gdje je kamilica, uz trening izdržljivosti, pozitivno utjecala na kognitivne sposobnosti kod štakora s znatnim oštećenjima hipokampusa (Heidarianpour i sur., 2021). Također je dokazano je da oralno primjenjeni različiti ekstrakti kamilice djeluju antihipertenzivno preko ACE inhibicije zahvaljući flavonoidnim sastavnicama (Awaad i sur., 2018).

Mogućnost primjene preparata kamilice u području psihijatrije, točnije anksioznih i depresivnih poremećaja, opisano je u istraživanju iz 2019. godine gdje je vodenoalkoholni ekstrakt kamilice na životinjama pokazao značajno anksiolitičko djelovanje, usporedivo s referentnim diazepamom, i antidepresivno djelovanje usporedivo s referentnim tramadolom (Ionita i sur., 2019). *In vivo* istraživanje zacjeljivanje rana potaknuto ekstraktom kamilice provedeno je 2010. godine te je uočeno ubrzanje procesa zacjeljivanja rana uz topičku primjenu ekstrakta kamilice u odnosu na kontrolnu skupinu, a pretpostavlja se da tome pridonose antioksidativno i protuupalno djelovanje kamilice (Jarrahi i sur., 2010).

Klinička studija iz 1991. godine, koja dokazuje protuupalni učinak preparata kamiličinog cvijeta u oromukozalnoj primjeni, upućuje na potencijal primjene tekućih ekstrakata cvijeta kamilice u onkologiji. Istraživanje je provedeno nad 98 onkoloških pacijenata na terapiji zračenjem i kemoterapijom čija su česta nuspojava ulceracije sluznice usne šupljine. Pacijenti su barem tri puta dnevno ispirali usnu šupljinu sa 100 mL tople vode i 10-15 kapi proizvoda na bazi tekućeg ekstrakta cvijeta kamilice tako da je 20 pacijenata liječenih radioterapijom i 46 kemoterapijom uzimalo navedeni pripravak profilaktički, 32 pacijenata terapijski (već su razvili simptome mukozitisa), a 16 pacijenata, već ranije navedenih, je koristilo pripravak profilaktički i terapijski. U slučaju profilaktičke primjene kod 46 pacijenta pod kemoterapijom čak 78% njih nije razvilo tegobe mukozitisa, 32 pacijenta s već razvijenim mukozitisom navode trenutno olakšanje i povlačenje simptoma kroz tjedan dana, a u ostalih pacijenata pokazani su bolji rezultati u odnosu na ranije korištene metode što upućuje na protuupalni učinak i poticanje reepitalizacije oštećenog tkiva (Carl i Emrich, 1991). Kliničko istraživanje kojim se željelo istražiti topičko djelovanje biljne kreme s ekstraktom kamilice provedeno je na 72 pacijenta sa srednje teškom slikom atopičkog dermatitisa gornjih ekstremiteta. Monocentrično, slijepo, randomizirano i placebo kontrolirano istraživanje trajalo je četrnaest dana unutar kojih je promatran učinak biljne kreme s ekstraktom kamilice u usporedbi s kremom hidrokortizona 0,5% i placebo kremom na atopički dermatitis. Rezultati istraživanja opravdavaju tradicionalnu lokalnu primjenu kamilice kod upalnih stanja kože jer topički primjenjena biljna krema s ekstraktom kamilice pokazuje jače protuupalno djelovanje od hidrokortizona 0,5% značajno smanjujući simptome bolesti (Patzelt-Wenzler i Ponce-Pöschl, 2000). U dvostruko slijepom kliničkom istraživanju s uključenih 14 pacijenata istražen je lokalni učinak ekstrakta kamilice na zarastanje rana prilikom odstranjivanja površinskog sloja kože u procesu uklanjanja tetovaže dermoabrazijom. Na temelju procjene liječnika prilikom redovitih kontrola, u istraživanju je zaključeno da je topikalna primjena ekstrakta kamilice značajno ubrzala proces zacjeljivanja rana odnosno utjecala na brzinu ponovne epitelizacije i isušivanje rane nakon provedenog kirurškog postupka (Glowania i sur., 1987). Nedavno istraživanje koje se bavilo utjecajem ekstrakta kamilice na kronični rinosinitis upućuje na smanjenje tegoba izazvanih kroničnim rinosinitisom i poboljšanje kvalitete života pacijenta. U tom randomiziranom dvostruko slijepom istraživanju sudjelovalo je 74 pacijenata koji su bolovali od kroničnog rinosinitisa te je dio pacijenata primjenjivao nazalne kapi ekstrakta kamilice, a drugi placebo fiziološku otopinu kako bi se istražio konačni učinak protuupalnog i antimikrobnog djelovanja kamilice na ovu upalnu bolest paranazalnih sinusa (Nemati i sur., 2021). Randomizirana, dvostruko slijepa placebo kontrolirana studija pratila je učinak primjene kapsula ekstrakta kamilice sa

1,2 % apigenina kod 28 pacijenata i placebo terapiju kod 29 pacijenata tijekom 8 tjedana. Tretirani su odrasli pacijenti kojima je dijagnosticiran generalizirani anksiozni poremećaj blagih do srednje teških simptoma, a primarni alat za procjenu simptoma i promjenu stanja je Hamiltonova ocjenska ljestvica za anksioznost. Studija je pratila isključivo klinički i statistički značajnije promjene simptoma u pacijenata, a rezultati upućuju da je prilikom korištenja ekstrakta kamilice došlo do većeg ukupnog smanjenja simptoma prema Hamiltonovoj ljestvici nego kod placebo skupine, no potrebna su daljnja, veća istraživanja (Amsterdam i sur., 2009). Manji broj kliničkih studija bavio se oralnom primjenom kamilice, i to uglavnom u mješavinama čajeva i ekstrakata zajedno s drugim ljekovitim biljkama, a jedna od rijetkih studija koja je proučavala utjecaj isključivo ekstrakta kamilice na 104 pacijenta s različitim profilom gastrointestinalnih tegoba je otvorena studija u trajanju od 6 tjedana gdje su pacijenti dnevno ukupno uzimali 5 mL ekstrakta kamilice standardiziranog na  $\alpha$ -bisabolol i apigenin-7-glukozid. U 44,2% pacijenata svi simptomi su potpuno nestali, a ostatak pacijenata je prijavio značajno smanjenje tegoba poput smanjenja mučnine, povraćanja, žgaravice, nadutosti, poboljšanja apetita i ostalog što ukazuje na spazmolitičko djelovanje ekstrakta na gastrointestinalni sustav (Stieglmeyer, 1978).

### **1.6 Indikacije i sigurnosni profil biljne droge *Matricariae flos***

Europska agencija za lijekove odobrila je pet različitih indikacija za uporabu biljne droge *Matricariae flos* u različitim farmaceutskim oblicima. Najpoznatija odobrena indikacija je peroralna primjena infuza i tekućih ekstrakata cvijeta kamilice namijenjena simptomatskom liječenju tegoba probavnog trakta zahvaljujući spazmolitičkom djelovanju kamilice. Nadalje, cvijet kamilice je indiciran za korištenje ublažavanja simptoma prehlade putem inhaliranja pažljivo pripremljenih inhalacijskih otopina. Zahvaljujući protuupalnom djelovanju cvijeta kamilice, biljni preparati cvijeta kamilice indicirani su za smanjenje boli i brže zacjeljivanje čireva i lezija manje površine usne šupljine grgljajući i ispirajući zahvaćena područja usta i grla. Zadnje dvije indikacije fitopreparata kamiličinih cvjetova govore o topičkoj primjeni i primjeni u obliku kupke. Koriste se kod ublažavanja lakših oštećenja i iritacija kože i sluznice genitalnog i analnog područja te prilikom liječenja lakših dermatoloških trauma poput opekline, rana i ostalog. Odobreno je više različitih oblika korištenja cvijeta kamilice od biljne droge *in toto* definirane Europskom farmakopejom preko usitnjene droge do različitih tekućih i suhih ekstrakata. Doze su detaljno propisane ovisno o obliku preparata, dobi pacijenta i indikaciji za

koju se droga koristi, a ukoliko se stanje ne poboljša u tjedan dana primjene, potrebno se javiti liječniku da razmotri ostale terapijske mogućnosti (HMPC, 2015a).

Biljna droga *Matricariae flos* relativno je sigurna za uporabu. U slučaju trudnica i dojilja potvrđena je sigurna primjena biljnog čaja cvijeta kamilice. Za ostale oblike nema dovoljno podataka o sigurnosti primjene u trudnoći i dojenju (HMPC, 2015b). Glavna kontraindikacija primjene kamiličinog cvijeta je alergija odnosno bilo kakva prijašnja alergijska reakcija na biljke iz porodice Asteraceae. Također, zabranjeno je koristiti bilo koju vrstu kupke sa drogom *Matricariae flos* u slučaju težih dermatoloških oštećenja kao što su otvorene ili inficirane rane i veće površine. Potreban je oprez kod peroralne primjene visokih doza raznih preparata cvijeta kamilice tijekom dužeg vremenskog perioda u pacijenata s transplatacijom bubrega u nedavnoj povijesti bolesti. (HMPC, 2015a).



## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Kamilica je jedna od najpopularnijih europskih ljekovitih biljaka čiji se cvjetovi tradicionalno koristi u liječenju niza različitih tegoba. U skladu s tim i na hrvatskom tržištu danas susrećemo velik broj fitopreparata različitih proizvođača koji su dostupni kako u ljekarnama i biljnim drogerijama tako i u trgovinama zdravom hranom, supermarketima, tržnicama i dr. Obzirom da se ljekovitost droge *Matricariae flos* pripisuje prvenstveno sadržaju flavonoida i eteričnog ulja, cilj ovog diplomskog rada bio je prikupiti veći broj komercijalno dostupnih uzoraka čaja kamilice i usporedno istražiti njihov flavonoidni profil te ih vrjednovati s obzirom na sadržaj ukupnih flavonoida. U tu svrhu provedena je kvalitativna analiza flavonoida tankoslojnom kromatografijom i kvantitativno određivanje flavonoida spektrofotometrijskom metodom.

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

### 3.1 Biljni materijal

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su komercijalni uzorci čaja kamilice koji su na tržištu prisutni kao biljna droga *Matricariae flos* u *in toto* obliku i usitnjena droga u obliku filter vrećica. Sakupljeni su uzorci dostupni u ljekarnama, biljnim ljekarnama, trgovinama zdrave hrane, supermarketima i na tržnicama u Republici Hrvatskoj tijekom 2019. godine. Detaljan popis i opis dvadeset i dva analizirana uzorka navedan je u Tablicama 1 i 2.

**Tablica 1.** Popis istraživanih uzoraka droge *Matricariae flos* u *in toto* obliku

Broj uzorka	Naziv proizvoda	Serijski broj i rok valjanosti	Proizvođač/distributer
1	MB Natural Bjelovar kamilica cvijet 100 g	143318 / 07. 2021.	MB Natural d.o.o., Hrvatska
2	Holyplant No.1. Kamilica cvijet 40 g	201318 / 06. 2020.	Adrialab d.o.o., Hrvatska
3	Suban <i>Matricariae flos</i> (kamilica cvijet) 500 g	8114 / 30. 06. 2020.	Suban d.o.o., Hrvatska
4	Agristar kamilica cvijet 100 g	L0247 / 04. 2021.	Agristar d.o.o., Hrvatska
5	Kamilica cvijet ( <i>Chamomillae flos</i> ) Herbarium 30 g	457717 / 05. 2020.	Hebarium d.o.o., Hrvatska
6	Pampa Tea kamilica cvijet 80 g	0118-02 / 31. 12. 2021.	OPG Domagoj Krznarić „Pampa“ ljekovito bilje i čajevi
7	Naturavita kamilica cvijet 30 g	4801128 / 04. 06. 2020.	Jan-Spider d.o.o., Hrvatska
8	Kamilica ( <i>Matricariae flos</i> ) Gradska ljekarna Zagreb 30 g	190241 / 08. 2020.	Gradska ljekarna Zagreb, Galenski laboratorij
9	Siladi čaj cvijet kamilice 80 g	nepoznat / 26. 03. 2021.	OPG Siladi, Hrvatska
10	Eko kamilica čaj cvijet 40 g	0488 / 15. 06. 2022.	DARvitalis d.o.o., Hrvatska
11	Kamilica ( <i>Matricariae flos</i> ) Ljekarna Splitsko-dalmatinske županije 40 g	nepoznat	nepoznat

**Tablica 2.** Popis istraživanih uzoraka čaja kamilice u obliku filter vrećica

Broj uzorka	Naziv proizvoda	Serijski broj i rok valjanosti	Proizvođač
12	Franck kamilica filter vrećica 40 g	L0008905 / 16. 03. 2021.	Franck d.d., Hrvatska
13	Suban kamilica filter vrećica 25 g	L25243 / 30. 06. 2021.	Suban d.o.o., Hrvatska
14	Naturavita kamilica filter vrećica 20 g	4804089 / 16. 08. 2021.	Jan-Spider d.o.o., Hrvatska
15	Podravka kamilica filter vrećica 40 g	nepoznat / 11. 01. 2021	Podravka d.d. (Žito d.o.o. Slovenija)
16	Agristar kamilica filter vrećica 40 g	197023 / 03. 2021.	Agristar d.o.o., Hrvatska
17	Lord Nelson Camomile filter vrećica 30 g	L4728/1/217 / 08. 2021.	Lidl (porijeklo: Poljska)
18	Lord Nelson Camomile filter vrećica 37,5 g	L23HU12R / 08. 2021.	Lidl (porijeklo: Njemačka)
19	Müller kamilica filter vrećica 30 g	L404391831 / 27. 06. 2021.	Amropa GmbH, Njemačka
20	Dm Bio kamilica filter vrećica 30 g	5674299 / 18. 07. 2022.	Dm GmbH, Njemačka
21	S budget kamilica čaj filter vrećica 20g	195011 / 07. 2021.	SPAR (porijeklo: Hrvatska)
22	Ekozona čaj od kamilice filter vrećica 30 g	950019 / 05. 08. 2020.	Biovega d.o.o., Hrvatska

### 3.2 Kemikalije (standardi, reagensi i ostale kemikalije)

U radu su korištene sljedeće kemikalije (standardi, reagensi i ostale kemikalije) :

- 2-aminoetil-difenilborat (Fluka, Buchs, Švicarska)
- aceton (Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska)
- aluminijev klorid heksahidrat, krist. (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- apigenin-7-glukozid (Carl Roth, Karlsruhe, Njemačka)
- etilacetat (POCH, Gliwice, Poljska)
- heksametilentetramin (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- kavena kiselina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- klorogenska kiselina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- klorovodična kiselina 35% p.a. (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
- kvercetin-3-glukozid (izokvercitrin) (Fluka, Buchs, Švicarska)
- ledena octena kiselina (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- luteolin-7-glukozid (Carl Roth, Karlsruhe, Njemačka)
- metanol (Alkaloid AD Skopje, Skoplje, Sjeverna Makedonija)
- metanol p.a. (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
- mravlja kiselina (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- natrij-sulfat bezvodni (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- octena kiselina (POCH, Gliwice, Poljska)
- polietilenglikol 4000 (Fluka, Buchs, Švicarska)
- rutin (Carl Roth, Karlsruhe, Njemačka)

### 3.3 Instrumenti i pribor

- analitička vaga AB54-S (Mettler-Toledo, Švicarska-SAD)
- električni mlin
- kapilare za tankoslojnu kromatografiju 10  $\mu$ l (Hirschmann, Eberstadt, Njemačka)
- HPTLC ploče Silica gel 60 F<sub>254</sub> 20x10 cm (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- tara vaga (Mettler-Toledo, Švicarska-SAD)
- ultrazvučna kupelj Sonorex Digital 10 (Bandelin, Berlin, Njemačka)
- UV lampa (Camag, Muttenz, Švicarska)
- UV-Vis spektrofotometar *Helios  $\gamma$*  (Spectronic Unicam, Cambridge, Velika Britanija)
- vodena kupelj (Inko, Zagreb, Hrvatska)

### 3.4 Metode

U ovom radu provedena je kvalitativna i kvantitativna analiza flavonoidnih sastavnica u komercijalnim uzorcima čaja od kamilice.

#### 3.4.1. Priprema uzorka

Uzorci kamiličinog cvijeta dostupni u *in toto* obliku usitnjeni su pomoću električnog mlina, dok su uzorci droge koji dolaze usitnjeni u obliku filter vrećica korišteni za istraživanje bez dodatnog mljevenja.

#### 3.4.2. Kvalitativna analiza flavonoida metodom tankoslojne kromatografije

Kvalitativna analiza flavonoida u komercijalnim uzorcima čaja kamilice provedena je metodom tankoslojne kromatografije visoke djelotvornosti (HPTLC) (Wagner i Bladt, 2007). Po 0,2 g uzorka kamiličinog cvijeta u epruveti je pomiješano s 2 mL metanola, pažljivo grijano 5 minuta u vodenoj kupelji i nakon hlađenja filtrirano. Dobiveni ekstrakt uzorka korišten je kao ispitivana otopina.

Poredbena otopina pripravljena je otapanjem 2,5 mg standardnih spojeva (kavene kiseline, apigenina-7-glukozida, luteolina-7-glukozida, izokvercitrin, klorogenska kiselina i rutina) u 10 mL metanola.

Kao nepokretna faza korišten je silikagel 60 F<sub>254</sub>, a pokretna faza pripravljena je miješanjem etil-acetata, mravlje kiseline, ledene octene kiseline i vode u omjeru 100:11:11:26 (V/V/V/V). Poredbena otopina i ispitivane otopine linijski su nanosene u volumenu od 10 µL. Kromatogram je razvijan do visine od 8 cm u komori i ploča potom osušena na zraku. Detekcija odijeljenih sastavnica provedena je prskanjem ploče s 1% -tnom metanolnom otopinom 2-aminoetil-difenilborata i 5% -tna metanolnom otopinom polietilenglikola. Ploča je potom promatrana pod UV svjetlom na 365 nm.

#### 3.4.3 Kvantitativna analiza flavonoida spektrofotometrijskom metodom

Određivanje flavonoida u uzorcima čajeva kamilice provedeno je spektrofotometrijskom metodom prema Europskoj farmakopeji (EDQM, 2016). 1,000 g usitnjenog uzorka biljne droge prebačen je u tikvicu okruglog dna, dodano je 1 mL heksametilentetramina (5 g/L), 20 mL acetona i 2 mL kloridne kiseline (250 g/L). Prethodno pripremljeni sadržaj zagrijavan je 30 minuta u vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Nakon hlađenja je filtriran preko pamuka, a

ostatak uzorka u tikvici je zajedno s pamukom ekstrahiran dva puta s 20 mL acetona uz zagrijavanje u trajanju od 10 minuta. Dobiveni ekstrakti su sjedinjeni te se nakon toga filtrirani preko filter papira. Pritom su tikvicu i filter papir isprani acetonom, a zatim je dodan aceton do 100 mL u odmjernu tikvicu. 20,0 mL tako pripremljenog ekstrakta je u lijevku za odjeljivanje pomiješano s 20 mL vode, promućkano s 15 mL etilacetata i nakon mućkanja etilacetatni ekstrakt odvojen je u laboratorijsku čašu. Preostali sadržaj u lijevku je nakon toga promućkan s 10 mL etilacetata, ponovno odvojen i taj postupak ponovljen još tri puta. Svi sakupljeni etilacetatni ekstrakti se još dodatno izmućkavani s 50 mL vode dva puta u lijevku za odjeljivanje. Etilacetatni ekstrakt filtriran je preko 10 g bezvodnog natrijevog sulfata te je dobiveni filtrat etilacetatom razrijeđen do 50,0 mL. Potom su priređene ispitivane otopine i poredbena otopina.

Ispitivana otopina priređena je tako da se u 10,0 mL etilacetatnog ekstrakta doda 1,0 mL svježe pripremljenog reagensa aluminijska klorida te se razrijedi s 5 % -tnom metanolnom otopinom octene kiseline do 25 mL.

Poredbena otopina priređena je tako da se 10,0 mL etilacetatnog ekstrakta razrijedi do 25,0 mL u odmjernoj tikvici s 5 % -tnom metanolnom otopinom octene kiseline.

Nakon što su otopine odstajale 30 minuta, mjerena je apsorbancija ispitivane otopine na 425 nm u odnosu na poredbenu otopinu. Maseni udio flavonoida, izražen kao izokvercetrozid, izračunat je prema izrazu za maseni udio flavonoida:

$$\% \text{ flavonoida} = \frac{A * 1,25}{m}$$

gdje je  $A$  apsorbancija ispitivane otopine na 425 nm,  $m$  masa droge u gramima. Za izračun je uzeto da specifična apsorbancija izokvercetrozida na 425 nm iznosi 500.

#### **3.4.4. Statistička obrada podataka**

Statistička obrada podataka provedena je računalnim programom Microsoft Excel u sklopu paketa Microsoft Office 365 (Microsoft, SAD). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost triju određivanja  $\pm$  standardna devijacija.

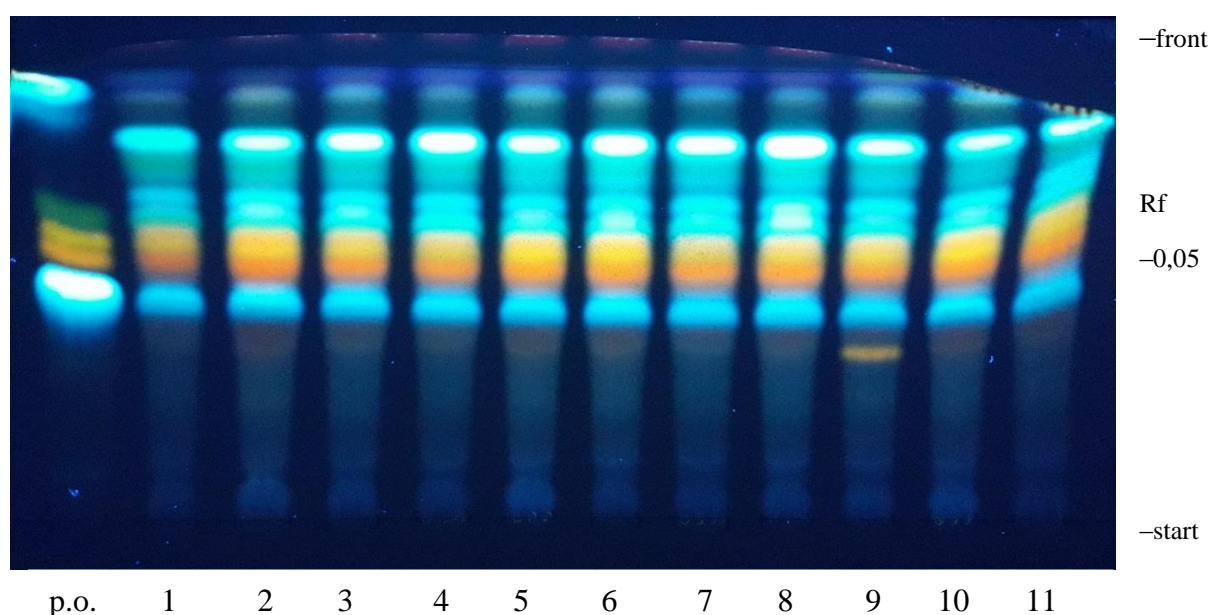


## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. TLC profil flavonoida u komercijalnim uzorcima kamiličinog cvijeta

Kromatografskom metodom provedeno je odjeljivanje metanolnih ekstrakata kamiličinog cvijeta na tankom sloju silikagela korištenjem pokretne faze sastavljene od etil-acetata, mravlje kiseline, ledene octene kiseline i vode (100:11:11:26 V/V/V/V) . Ploča je nakon razvijanja poprskana NST/PEG reagensom te promatrana pod UV lampom na 365 nm.

Dobiveni kromatogrami prikazani su na slikama 5 i 6. Promatrajući boju, intenzitet i položaj (faktor zaostajanja,  $R_f$ ) odijeljenih zona ispitivanih otopina te usporedbom s poredbenim spojevima i literaturnim podacima, identificirane su flavonoidne i fenolne sastavnice analiziranih uzoraka.



**Slika 5.** Kromatogram flavonoida i fenolnih kiselina u uzorcima (1-11) droge *Matricariae flos in toto*

**Pokretna faza:** etil-acetat, mravlja kiselina, ledena octena kiselina, voda (100:11:11:27 V/V/V/V)

**Nepokretna faza:** Silikagel 60 F<sub>254</sub>

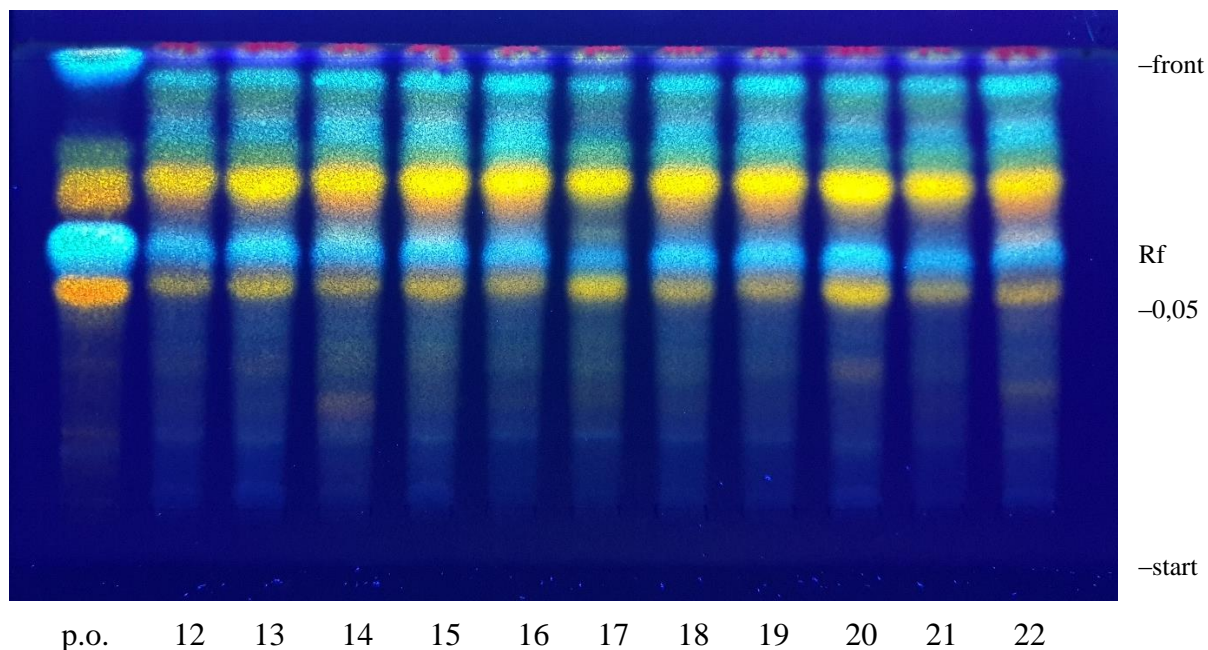
**Detekcija:** UV 365 nm nakon prskanja reagensima 1% metanolna otopina 2-aminoetila difenilborata i 5% metanolna otopina polietilen glikola (NST/PEG)

**Poredbene supstancije:** klorogenska kiselina, izokvercitrin, luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid, kavena kiselina

Slika 5 prikazuje kromatograme jedanaest uzoraka droge *Matricariae flos* koji su na tržištu dostupni u *in toto* obliku. Na kromatogramima je uočljiv veći broj izraženih zona narančaste, žute i žutozelene fluorescencije koje potječu od flavonoida te zone plave fluorescencije koje potječu od fenolnih kiselina. U svim je uzorcima u visini poredbenog izokvercitrina vidljiva

intenzivo narančasta zona ( $R_f = 0,53$ ). Iznad nje, u svim je uzorcima uočena zona žute boje koja prema položaju ( $R_f = 0,56$ ), intenzitetu i boji odgovara poredbenom luteolin-7-glukozidu. Navedenu prisutnost luteolin-7-glukozida potvrđuju literaturni podaci (Jesioneka i sur., 2015). Zelena zona slabijeg je inteziteta i slabo je uočljiva u svim uzorcima no položajem ( $R_f = 0,62$ ), bojom i intezitetom odgovara apigenin-7-glukozidu što potvrđuju prethodna istraživanja (Jesioneka i sur., 2015). U svih jedanaest uzoraka vidljive su zone plave boje slabijeg inteziteta. Navedene zone s obzirom na  $R_f$  vrijednost ( $R_f = 0,44$ ) i boju odgovaraju klorogenskoj kiselini. Prisutnost plave zone slabijeg inteziteta koja bojom i položajem ( $R_f = 0,88$ ) odgovara kavenoj kiselini uočljiva je u svim uzorcima. Među analiziranim uzorcima ističe se uzorak 9 koji jedini ima dodatnu zonu narančaste boje  $R_f$  vrijednosti 0,38. Rezultati kromatografske analize provedene na tankom sloju silikagela u skladu su s rezultatima prethodnih fitokemijskih istraživanja. Jesioneka i sur. (2015) utvrdili su prisutnost luteolin-7-glukozida, apigenin-7-glukozida, klorogenske kiseline i kavene kiseline u cvjetovima kamilice. Također, Blažeković i Stanić (2004) primjenom tankoslojne kromatografije u bijelim i žutim cvjetovima kamilice te cvjetištu detektirali su apigenin-7-glukozid i luteolin-7-glukozid. Ramirez-Duron i sur. (2007) potvrđuje prisutnost flavonoida apigenin-7-glukozida.

Slika 6 prikazuje kromatograme jedanaest uzoraka kamiličinog cvijeta koji su na tržištu dostupni u obliku filter vrećica. Većina flavonoidnih i fenolnih kiselina detektiranih u *in toto* uzorcima uočene su i uzorcima droge u filter vrećicama. S obzirom na položaj ( $R_f$ ), boju i intezitet zona, na temelju usporedbe s poredbenim supstancijama u uzorcima je moguće utvrditi prisutnost klorogenske kiseline (plava zona,  $R_f = 0,54$ ), luteolin-7-glukozida (žuta zona,  $R_f = 0,71$ ), apigenin-7-glukozida (zelena zona,  $R_f = 0,78$ ) i kavene kiseline (plava zona,  $R_f = 0,97$ ). Također, slabo vidljiva je i zona narančaste boje ( $R_f = 0,64$ ) koja pripada izokvercetrinu. Za razliku od *in toto* droga, u kromatogramima svih uzoraka droga iz filter vrećica ispod zone klorogenske kiseline uočava se narančasta zonu koja prema boji i položaju ( $R_f = 0,46$ ) odgovara rutinu.



**Slika 6.** Kromatogram flavonoida i fenolnih kiselina u uzorcima (12-22) droge *Matricariae flos* dostupne u obliku filter vrećica

**Pokretna faza:** etil-acetat, mravlja kiselina, ledena octena kiselina, voda (100:11:11:26 V/V/V/V)

**Nepokretna faza:** Silikagel 60 F<sub>254</sub>

**Detekcija:** UV 365 nm nakon prskanja reagensima 1% metanolna otopina 2-aminoetila difenilborata i 5% metanolna otopina polietilen glikola (NST/PEG)

**Poredbene supstancije:** klorogenska kiselina, izokvercitrin, luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid, kavena kiselina, rutin

#### 4.2 Sadržaj flavonoida u komercijalnim uzorcima kamiličinog cvijeta

Određivanje sadržaja flavonoida provodeno je spektrofotometrijskom metodom prema postupku Europske farmakopeje (EDQM, 2018). Postupak uključuje hidrolizu flavonoidnih glikozida u kojoj se oslobađaju aglikoni. U drugom dijelu određivanja nastali aglikoni se ekstrahiraju etilacetatom i odjeljuju kako bi dodatkom reagensa aluminijska klorida došlo do stvaranja žuto obojenih kompleksa. Žuto obojeni kompleksni spojevi nastaju reakcijom flavonoidnih aglikona i kationa aluminijska(III) i imaju maksimum apsorpcije na 425 nm. Krajnji rezultat predstavlja maseni udio flavonoida izražen kao izokvercetrozid. Rezultati su prikazani u tablicama Tablica 3 i 4.

**Tablica 3.** Sadržaj flavonoida u uzorcima (1-11) droge *Matricariae flos* dostupne *in toto*

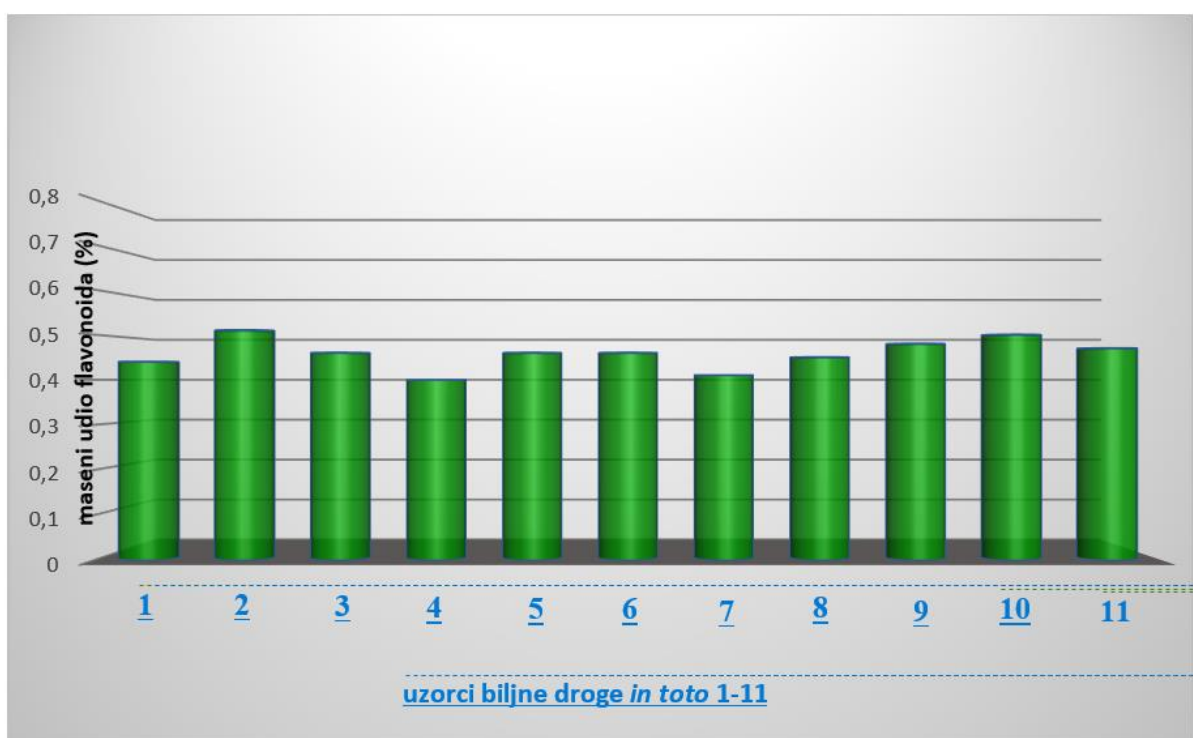
Uzorak	A <sub>425nm</sub>	Flavonoidi (%)
1	0,338	0,44 ± 0,03
	0,338	
	0,385	
2	0,415	0,51 ± 0,01
	0,410	
	0,406	
3	0,367	0,46 ± 0,00
	0,369	
	0,368	
4	0,315	0,40 ± 0,00
	0,322	
	0,316	
5	0,369	0,46 ± 0,00
	0,371	
	0,366	
6	0,368	0,46 ± 0,01
	0,369	
	0,361	
7	0,330	0,41 ± 0,00
	0,333	
	0,332	
8	0,362	0,45 ± 0,01
	0,363	
	0,355	
9	0,385	0,48 ± 0,00
	0,385	
	0,381	
10	0,395	0,50 ± 0,01
	0,402	
	0,402	
11	0,379	0,47 ± 0,01
	0,382	
	0,372	

**Tablica 4.** Sadržaj flavonoida u uzorcima (12-22) droge *Matricariae flos* dostupne u obliku filter vrećica

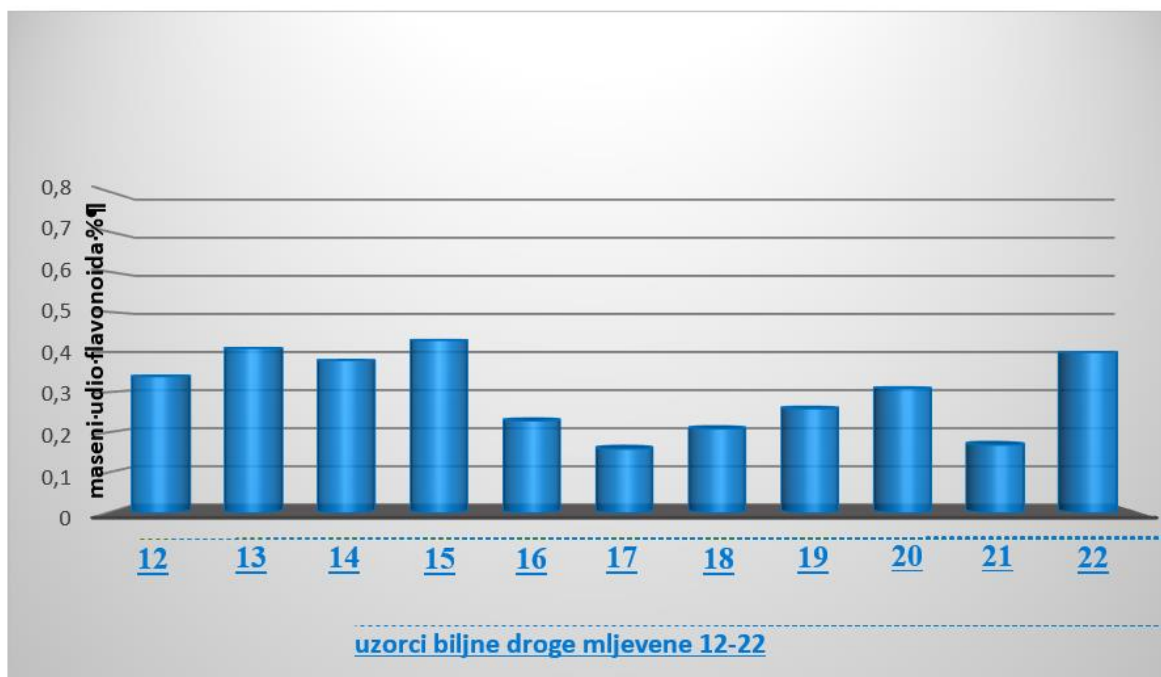
Uzorak	A <sub>425nm</sub>	Flavonoidi ( %)
12	0,270	0,34 ± 0,00
	0,272	
	0,270	
13	0,332	0,41 ± 0,01
	0,330	
	0,333	
14	0,301	0,38 ± 0,00
	0,304	
	0,301	
15	0,346	0,43 ± 0,00
	0,347	
	0,347	
16	0,186	0,23 ± 0,01
	0,185	
	0,192	
17	0,129	0,16 ± 0,00
	0,131	
	0,132	
18	0,168	0,21 ± 0,00
	0,169	
	0,169	
19	0,206	0,26 ± 0,00
	0,207	
	0,206	
20	0,248	0,31 ± 0,01
	0,252	
	0,253	
21	0,132	0,17 ± 0,01
	0,134	
	0,134	
22	0,315	0,40 ± 0,01
	0,316	
	0,318	

Iz Tablice 3, koja donosi rezultate određivanja ukupnih flavonoida u *in toto* uzorcima kamiličinog cvijeta, uočljivo je da komercijalni uzorci neusitnjene droge imaju dosta ujednačen sadržaj ovih ljekovitih tvari i to u rasponu od 0,40 % do 0,51 %. Tablica 4 prikazuje rezultate određivanja flavonoida u usitnjenim kamiličnim cvjetovima pakiranim u filter vrećice, iz kojih su vidljive značajne razlike u sadržaju flavonoida među komercijalnim uzorcima (od 0,16 % do

0,43 %). Najviši postotak flavonoida među čajevima *in toto* sadržavao je uzorak 2 i iznosio je 0,51 %, dok je najniži utvrđen za uzorak 4 i iznosi je 0,40 %. Flavonoidima najbogatiji čaj kamilice u filter vrećicama bio je uzorak 15 sa 0,43 %, dok je najsiromašniji bio uzorak 17 koji je sadržavao samo 0,16 % flavonoida. Samo tri od jedanaest uzoraka droge dostupne u filter vrećicama (uzorci 13, 15 i 22 ) sadržavalo je flavonoide u postotku usporedivim sa *in toto* drogom. Dobiveni rezultati ukazuju na superiornu i relativno ujednačenu kakvoću kamiličinog cvjeta na tržištu dostupnog u *in toto* obliku, u odnosu na veliku većinu uzoraka droge pakirane u filter vrećice koji su uglavnom sadržavali bitno manje ovih ljekovitih tvari.



**Slika 7.** Sadržaj flavonoida u analiziranim uzorcima droge *Matricariae flos in toto* (1-11)



**Slika 8.** Sadržaj flavonoida u analiziranim uzorcima droge *Matricariae flos* u filter vrećici (12-22)

Glavni čimbenici koji mogu uvjetovati ovako značajne razlike u sadržaja flavonoida među komercijalnim čajevima kamilice su od uzgojnih uvjeta, vremena sabiranja, načina sušenja i branja biljake, do pakiranja i skladištenja (Kuštrak, 2005; Toplak Galle, 2005). U prethodnom istraživanju Grgesine i suradnika spektrofotometrijskom metodom određen je maseni udio flavonoida u kamilici ubranoj u istočnom dijelu Hrvatske i prosječno je iznosi 0,93% za cvijet kamilice (Grgesina i sur., 1995). Kashchenko i Olenniko (2017) su u svom radu farmakopejskom metodom u komercijalnim uzorcima cvijeta kamilice odredili sadržaj flavonoida u rasponu od  $0,16 \pm 0,01$  % do  $1,07 \pm 0,09$  %. Raal i sur. (2012) su u svojoj studiji analizirali 13 komercijalnih uzoraka cvijeta kamilice dostupnih u Estoniji i izvjestili da se sadržaj ukupnih flavonola kreću se u rasponu od 0,29 % do 1,23 % (Raal i sur., 2012).



## **5. ZAKLJUČCI**

Istraživanje provedeno u okviru ovog diplomskog rada obuhvaćalo je kvalitativnu i kvantitativnu fitokemijsku analizu komercijalnih uzoraka kamiličinog cvijeta dostupnog na hrvatskom tržištu. Uzorci droge *Matricariae flos* u *in toto* obliku i u obliku filter vrećica odijeljeni su na tankom sloju silikagela te je u njima dokazana prisutnost apigenin-7-glukozida, luteolin-7-glukozida, izokvercitrina, kavene kiseline i klorogenske kiseline. Usporedbom kromatograma vidljiv je ujednačen kvalitativni sastav flavonoida u obje skupine uzoraka, ali su uočene određene razlike između droga *in toto* i droga pakiranim u filter vrećice. Utvrđeni su karakteristični HPTLC flavonoidni profili za svaki oblik uzorka.

Kvantitativna analiza flavonoida provedena je spektrofotometrijskom metodom te je u uzorcima čajeva kamilice određen ukupni maseni udio flavonoida i izražen kao izokvercetrozid. U uzorcima droge *in toto* udio flavonoida kretao se u rasponu od 0,40 % do 0,51 %, dok je u uzorcima usitnjene droge dostupne u filter vrećicama bio vrlo neujednačen i kretao se u širokom rasponu od 0,16 % do 0,43 %. Zabilježene su veće međusobne razlike u sadržaju flavonoida među komercijalnim uzorcima cvijeta kamilice u filter vrećicama nego među uzorcima droge *in toto*. Općenito je utvrđeno da je cjelovite cvjetne glavice kamilice predstavljaju znatno bogatiji izvor flavonoida u odnosu na usitnjenu drogu prisutnu u obliku filter vrećica. Dobiveni rezultati ukazuju na značajne razlike u sadržaju ljekovitih tvari među različitim oblicima kamiličinog cvijeta i ukazuju na važnost kontrole kakvoće uzoraka sa tržišta kao i jačanje postojeće zakonske regulative u području hrane i biljnih dodataka prehrani.

## **6. LITERATURA**

- Achterrath-Tuckermann U, Kunde R, Flaskamp E, Isaac O, Thiemer K. Pharmacological investigations with compounds of chamomile. V. Investigations on the spasmolytic effect of compounds of chamomile and Kamillosoan on the isolated guinea pig ileum. *Planta Med*, 1980, 39(1), 38-50.
- Amsterdam JD, Li Y, Soeller I, Rockwell K, Mao JJ, Shults J. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol*, 2009, 29(4), 378-382.
- Awaad AA, El-Meligy RM, Zain GM, Safhi AA, Al Qurain NA, Almoqren SS, Zain YM, Sesh Adri VD, Al-Saikhan FI. Experimental and clinical antihypertensive activity of *Matricaria chamomilla* extracts and their angiotensin-converting enzyme inhibitory activity. *Phytother Res*, 2018, 32(8), 1564-1573.
- Barnes J, Anderson L, Phillipson JD. Herbal Medicines. 3.izd., London Chicago, Pharmaceutical Press, 2007, str.152.
- Blažeković B, Stanić G. Ispitivanje bioaktivnog sastava kamilice (*Matricaria recutita* L.) metodom tankoslojne kromatografije. *Farm glas*, 2004, 60, 243 – 254.
- Bulgari M, Sangiovanni E, Colombo E, Maschi O, Caruso D, Bosisio E, Dell'Agli M. Inhibition of neutrophil elastase and metalloprotease-9 of human adenocarcinoma gastric cells by chamomile (*Matricaria recutita* L.) infusion. *Phytother Res*, 2012, 26(12), 1817-1822.
- Carl W, Emrich LS. Management of oral mucositis during local radiation and systemic chemotherapy. A study of 98 patients. *J Prosthet Dent*, 1991, 66(3), 361-369.
- Cemek M, Yilmaz E, Büyükkuroğlu ME. Protective effect of *Matricaria chamomilla* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *Pharm Biol*, 2010, 48(7), 757-763.
- Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Phenols, polyphenols and tannins: an overview. U: Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Crozier A, Clifford MN, Ashihara H , urednici, Blackwell Publishing Ltd, 2006, 1-24.
- Domac R. Mala flora Hrvatske i susjednih područja. Zagreb, Školska knjiga, 1973, str. 372, 379.
- EDQM, European Pharmacopoeia. The Ninth Edition (Ph. Eur. 9.5.), Council of Europe, Strasbourg, 2018.
- El Din El Souda SS, Mohamed Ahmed K, Halim Grace M, Ahmed Elkherassy EE, Razik H. Farrag A, Mohamed Abdelwahab S. Flavonoids and gastroprotective effect of *Matricaria chamomilla* against indomethacin induced ulcer in rats. *J Herbs Spices Med Plants*, 2015, 21(2), 111-117.
- ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytotherapy). ESCOP monographs: The Scientific foundation for herbal medicinal products, 2. izd. ed. Exeter Stuttgart-New York, ESCOP Thieme, 2003, str. 312-319.
- Glowania HJ, Raulin C, Swoboda M. Effect of chamomile on wound healing – a clinical double-blind study. *Z Hautkr*, 1987, 62(17), 1262-1271.

- Grdinić V, Kremer D. Ljekovito bilje i ljekovite droge: farmakoterapijski, botanički i farmaceutski podaci. Zagreb, Hrvatska ljekarnička komora, 2009, str. 365-366.
- Grgesina D, Mandić ML, Karuza Lj, Klavec T, Bočkinac D. Chemical composition of different parts of *Matricaria chamomilla*. *Prehram tehnol biot*, 1995, 33(2-3), 111-113.
- Gursky Z. Zlatna knjiga ljekovitog bilja. 5. izd., Zagreb, Nakladni zavod Matice hrvatske, 1999, str. 235-237.
- Heidarianpour A, Mohammadi F, Keshvari M, Mirazi N. Ameliorative effects of endurance training and *Matricaria chamomilla* flowers hydroethanolic extract on cognitive deficit in type 2 diabetes rats. *Biomed Pharmacother*, 2021, 135 (15), 111230.
- HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products). Assessment report on *Matricaria recutita* L., *flos* and *Matricaria recutita* L., *aetheroleum*. European Medicines Agency. London, 2015b
- HMPC. (Committee on Herbal Medicinal Products). European Union herbal monograph on *Matricaria recutita* L., *flos*. European Medicines Agency. London 2015a
- Ioniță R, Postu PA, Cioancă O, Mircea C, Hăncianu M, Hrițcu L. Anxiolytic and antidepressant effects of *Matricaria chamomilla* hydroalcoholic extract in a rat model of scopolamine. *Farmacia*, 2019, 67(1), 68-72.
- Jarrahi M, Vafaei AA, Taherian AA, Miladi H, Pour AR. Evaluation of topical *Matricaria chamomilla* extract activity on linear incisional wound healing in albino rats. *Nat Prod Res*, 2010, 24(8), 697-702.
- Jesioneka W, Majer-Dziedzic B, Chomaa IM. Separation, identification, and investigation of antioxidant ability of plant extract components using TLC, LC-MS, and TLC-DPPH•. *J Liq Chromatogr R T*, 2015, 38(11), 1147-1153.
- Kashchenko NI, Olennikov DN. Quantitative analysis of flavonoids in chamomile flowers (*Matricaria chamomilla* L.) by microcolumn HPLC-UV. *Russ J Bioorg Chem+*, 2017, 43(7), 783-789.
- Kremer D. Ljekovito bilje farmaceuskog botaničkog vrta "Fran Kušan". Zagreb, Javna ustanova "Maksimir", 2018, str. 217, 227.
- Kušan F. Ljekovito i drugo korisno bilje. Zagreb, Poljoprivredni nakladni zavod, 1956, str. 527-528.
- Kuštrak D. Farmakognozija-fitofarmacija. Zagreb, Golden marketing-Tehnička knjiga, 2005, str. 51-52, 55, 335-339, 409.
- Liang YC, Huang YT, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK. Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages. *Carcinogenesis* 1999, 20(10), 1945-1952.
- Marković S. Fitoaromaterapija: monografije esencijalnih ulja i ljekovitih biljaka: temelji fitoaromaterapije. Zagreb, Centar Cedrus, 2005, str. 224.
- Matricaria recutita* L., <https://www.plantea.com.hr>  
<https://www.plantea.com.hr>, pristupljeno 10.7.2021.

- Medić-Šarić M, Jasprica I, Mornar A, Maleš Ž. Application of TLC in the isolation and analysis of flavonoids. U: Thin layer chromatography in phytochemistry. Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T, urednici, Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, 2008, 405-423.
- Nemati S, Yousefbeyk F, Ebrahimi SM, FaghiehHabibi AF, Shakiba M, Ramezani H. Effects of chamomile extract nasal drop on chronic rhinosinusitis treatment: A randomized double blind study. *Am J Otolaryngol*, 2021, 42(1), 102743.
- Panche A., Diwan A., Chandra S. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*, 2016, 5, p.e47.
- Patzelt-Wenzler R, Ponce-Pöschl E. Proof of efficacy of Kamillosoan® cream in atopic eczema. *Eur J Med Res*, 2000, 5(4), 171-175.
- Raal A, Orav A, Püssa T, Valner C, Malmiste B, Arak E. Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries. *Food Chem*, 2012, 131(2), 632-638.
- Ramírez-Durón R, Cenicerós-Almaguer L, Salazar-Aranda R, Salazar-Cavazos Mde L, Waksman de Torres N. Evaluation of thin-layer chromatography methods for quality control of commercial products containing *Aesculus hippocastanum*, *Turnera diffusa*, *Matricaria recutita*, *Passiflora incarnata*, and *Tilia occidentalis*. *J AOAC Int*, 2007, 90(4), 920-924.
- Safayhi H, Sabieraj J, Sailer ER, Ammon HPT. Chamazulene: an antioxidant-type inhibitor of leukotriene B4 formation. *Planta Med* 1994, 60(5), 410-413.
- Saghahazrati S, Abdulmajid Ayatollahi S, Kobarfarda F, Minaii Zang B. Attenuation of inflammation in streptozotocin-induced diabetic rabbits by *Matricaria chamomilla* oil: A focus on targeting NF-κB and NLRP3 signaling pathways. *Chin Herb Med*, 2020, 12(1), 73-78.
- Samuelsson G, Bohlin L. Drugs of natural origin: A treatise of pharmacognosy. 6.izd., Stockholm, Apotekarsocieteten - Swedish Pharmaceutical Society, 2009, str. 405-406.
- Savković D. Enciklopedija ljekovitog, korisnog i medonosnog bilja. Zagreb, Begen d.o.o., 2017, str. 270-271.
- Schulz V, Hänsel R, Tyler VE. Rational phytotherapy: A physicians' guide to herbal medicine. 4. izd., Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 2001, str. 302-303.
- Shebbo S, El Joumaa M, Kawach R, Borjac J. Hepatoprotective effect of *Matricaria chamomilla* aqueous extract against 1,2-dimethylhydrazine-induced carcinogenic hepatic damage in mice. *Heliyon*, 2020, 6(6), e04082.
- Stiegelmeier H. Therapie unspezifischer Magenbeschwerden mit Kamillosoan®. *Kassenarzt* 1978, 18, 3605-3606.
- Tomić M, Popović V, Petrović S, Stepanović-Petrović R, Micov A, Pavlović-Drobac M, Couladis M. Antihyperalgesic and antiedematous activities of bisabolol-oxides-rich *Matricaria* oil in a rat model of inflammation. *Phytother Res*, 2014, 28(5), 759-766.
- Toplak Galle K. Domaće ljekovito bilje. Zagreb, Mozaik knjiga, 2005, str. 10-11, 80-81.

- Tungmunnithum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*. 2018, 5(3), p.93.
- Vladimir-Knežević S, Blažeković B, Bival Štefan M, Babac M. Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. U: *Phytochemicals as nutraceuticals - global approaches to their role in nutrition and health*. Venketeshwer Rao A, urednici, Rijeka, InTech, 2012, 156-180.
- Wagner H, Bladt S. *Plant drug analysis; A thin layer chromatography atlas*. 2.izd., Berlin-Heidelberg-New York, Springer, 2001, str.195.
- Zovkić I. *Naše ljekovito bilje i fitoterapija*. Đakovo, Karitativni fond UPT, 1999, str. 109-110.

## **7. SAŽETAK/SUMMARY**



Ljekovita biljna droga *Matricariae flos* ima duge tradiciju primjene u europskoj fitoterapiji, i jedan je od najčešće korištenih čajeva na hrvatskom tržištu. Među širokim spektrom farmakološki i klinički dokazanih učinaka posebno je cijenjena zbog protuupalnih i spazmolitičkih svojstava. Terapijski učinak droge uglavnom se pripisuje sastavnicama eteričnog ulja, poput kamazulena i  $\alpha$ -bisabolola, te flavonoidima među kojima je najznačajniji apigenin. U okviru ovog diplomskog rada analizirana su 22 uzorka kamiličinog cvijeta sakupljena na hrvatskom tržištu tijekom 2019. godine koji su obuhvaćali biljnu drogu *Matricariae flos* dostupnu u *in toto* obliku i usitnjenu drogu u obliku filter vrećica. Provedena je kvantitativna analiza flavonoida spektrofotometrijskom metodom i kvalitativna analiza flavonoida metodom tankoslojne kromatografije. Uzorci *in toto* kamiličinog cvijeta sadržavali su između 0,40 % i 0,51 % flavonoida, dok je njihov udio u uzorcima droge dostupne u filter vrećicama bio bitno neujednačeniji i kretao se u širokom rasponu od 0,16 % do 0,43 %. Općenito je utvrđeno da su cjelovite cvjetne glavice kamilice znatno bogatiji izvor flavonoida u odnosu na usitnjenu drogu prisutnu u obliku filter vrećica. Dobiveni rezultati ukazuju na značajne razlike u sadržaju ljekovitih tvari među različitim oblicima kamiličinog cvijeta i ukazuju na važnost kontrole kakvoće uzoraka sa tržišta kao i jačanje postojeće zakonske regulative u području hrane i dodataka prehrani vezano za ljekovite biljne droge.

The herbal drug *Matricariae flos* has a long tradition of use in European phytotherapy and is one of the mostly used teas on the Croatian market. Among the wide range of pharmacologically and clinically proven effects, it is especially valued for its anti-inflammatory and antispasmodic properties. The therapeutic effect of the drug is mainly attributed to the components of the essential oil, such as kamazulene and  $\alpha$ -bisabolol, and flavonoids, among which the most important is apigenin. Within this diploma thesis, 22 samples of chamomile flower collected on the Croatian market during 2019 were analyzed, which included the herbal drug *Matricariae flos* available in *in toto* form and crushed drug in the form of filter bags. Quantitative analysis of flavonoids by spectrophotometric method and qualitative analysis of flavonoids by thin layer chromatography were performed. Samples of *in toto* chamomile flower contained between 0.40% and 0.51% of flavonoids, while their share in drug samples available in filter bags was significantly more uneven and ranged widely from 0.16% to 0.43%. It has generally been found that whole chamomile flower heads are a much richer source of flavonoids than the crushed drug present in the form of filter bags. The obtained results indicate significant differences in the content of medicinal substances among different forms of chamomile flower and indicate the importance of quality control of samples from the market as well as strengthening the existing legislation in the field of food and food supplements related to medicinal herbal drugs.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakognoziju  
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### ODREĐIVANJE FLAVONOIDA U KOMERCIJALNIM UZORCIMA KAMILIČINOG CVIJETA

Lucia Mahovlić

#### SAŽETAK

Ljekovita biljna droga *Matricariae flos* ima duge tradiciju primjene u europskoj fitoterapiji, i jedan je od najčešće korištenih čajeva na hrvatskom tržištu. Među širokim spektrom farmakološki i klinički dokazanih učinaka posebno je cijenjena zbog protuupalnih i spazmolitičkih svojstava. Terapijski učinak droge uglavnom se pripisuje sastavnicama eteričnog ulja, poput kamazulena i  $\alpha$ -bisabolola, te flavonoidima među kojima je najznačajniji apigenin. U okviru ovog diplomskog rada analizirana su 22 uzorka kamiličinog cvijeta sakupljena na hrvatskom tržištu tijekom 2019. godine koji su obuhvaćali biljnu drogu *Matricariae flos* dostupnu u in toto obliku i usitnjenu drogu u obliku filter vrećica. Provedena je kvantitativna analiza flavonoida spektrofotometrijskom metodom i kvalitativna analiza flavonoida metodom tankoslojne kromatografije. Uzorci in toto kamiličinog cvijeta sadržavali su između 0,40 % i 0,51 % flavonoida, dok je njihov udio u uzorcima droge dostupne u filter vrećicama bio bitno neujednačeniji i kretao se u širokom rasponu od 0,16 % do 0,43 %. Općenito je utvrđeno da su cjelovite cvjetne glavice kamilice znatno bogatiji izvor flavonoida u odnosu na usitnjenu drogu prisutnu u obliku filter vrećica. Dobiveni rezultati ukazuju na značajne razlike u sadržaju ljekovitih tvari među različitim oblicima kamiličinog cvijeta i ukazuju na važnost kontrole kakvoće uzoraka sa tržišta kao i jačanje postojeće zakonske regulative u području hrane i dodataka prehrani vezano za ljekovite biljne droge.

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

Rad sadrži: 39 stranica, 8 grafičkih prikaza, 4 tablica i 49 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: flavonoidi, *Matricariae flos*, kamiličin cvijet, TLC, spektrofotometrija

Mentor: **Izv. prof. dr. sc. Biljana Blažeković**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Izv. prof. dr. sc. Biljana Blažeković**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Doc. dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Izv. prof. dr. sc. Miranda Sertić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: 30. rujan 2021.

## Basic documentation card

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

Diploma thesis

### DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN COMMERCIAL SAMPLES OF CHAMOMILE FLOWER

Lucia Mahovlić

#### SUMMARY

The herbal drug *Matricariae flos* has a long tradition of use in European phytotherapy and is one of the mostly used teas on the Croatian market. Among the wide range of pharmacologically and clinically proven effects, it is especially valued for its anti-inflammatory and antispasmodic properties. The therapeutic effect of the drug is mainly attributed to the components of the essential oil, such as kamazulene and  $\alpha$ -bisabolol, and flavonoids, among which the most important is apigenin. Within this diploma thesis, 22 samples of chamomile flower collected on the Croatian market during 2019 were analyzed, which included the herbal drug *Matricariae flos* available in in toto form and crushed drug in the form of filter bags. Quantitative analysis of flavonoids by spectrophotometric method and qualitative analysis of flavonoids by thin layer chromatography were performed. Samples of in toto chamomile flower contained between 0.40% and 0.51% of flavonoids, while their share in drug samples available in filter bags was significantly more uneven and ranged widely from 0.16% to 0.43%. It has generally been found that whole chamomile flower heads are a much richer source of flavonoids than the crushed drug present in the form of filter bags. The obtained results indicate significant differences in the content of medicinal substances among different forms of chamomile flower and indicate the importance of quality control of samples from the market as well as strengthening the existing legislation in the field of food and food supplements related to medicinal herbal drugs.

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

Thesis includes: 39 pages, 8 figures, 4 tables and 49 references. Original is in Croatian language.

Keywords: flavonoids, *Matricariae flos*, chamomile flower, TLC, spectrophotometry

Mentor: **Biljana Blažeković, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Blažeković, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Maja Bival Štefan, Ph.D.** *Assistant Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Miranda Sertić, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 30, 2021.