

Analiza sadržaja i sastava eteričnog ulja u uzorcima kamilice uzgojene u Slavoniji

Stanić, Gordana; Blažević, Nikola; Bošnjak, Ivanka; Ostojić, Zvonimir

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik**, 2000, 56, 139 - 147

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:935559>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

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



Analiza sadržaja i sastava eteričnog ulja u uzorcima kamilice uzgojene u Slavoniji

GORDANA STANIĆ¹, NIKOLA BLAŽEVIĆ²,
IVANKA BOŠNJAK¹ i ZVONIMIR OSTOJIĆ³

¹Zavod za farmakognoziju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu,
²Ireks-Aroma, Zagreb i ³Zavod za herbologiju, Agronomski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu

Essential oil of chamomile cultivated in Slavonija

*Summary: Five samples of the drug *Matricariae flos* from the cultivated fields near Kutjevo were studied regarding the content and composition of essential oil. Determined volumetrically the oil content varied from 0.47% to 0.73%. GC analysis of essential oil samples revealed that the main components were bisabolol oxide A (18.2–32.7%) and bisabolol oxide B (23.3–37.6%) followed by spiroethers (6.2–14.1%), chamazulene (7.2–11.8%), bisabolon oxide A (0–9.1%), farnesene (4.1–7.1%) and bisabolol (1.1–4.8%). One of the samples showed certain deviation in its oil composition having the maximum contents of bisabolol oxide B (37.6 %), bisabolol (4.8 %) and chamazulene (11.8 %) but no percentage of bisabolon oxide A at all. The results are discussed in relation to those obtained by the consecutive analysis of herbicide residues.*

(¹Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, ²Ireks-Aroma, Zagreb, ³Department of Herbology, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia)

UVOD

Terapijska primjena pripravaka kamilice temelji se, poglavito, na anti-flogističnom, spazmolitičnom i karminativnom učinku droge *Matricariae flos* (1).

Ljekovite sastavnice kamilice mogu se podijeliti u dvije skupine:

- lipofilne: komponente eteričnog ulja, kumarini, metoksi-flavonoidi, steroli
- hidrofilne: flavonoidni glikozidi, sluzi, fenolkarboksilne kiseline, aminokiseline, kolin

Poznato je da kvalitativni i kvantitativni sastav bioaktivnih tvari u drogama može znatno varirati, ovisno o nizu vanjskih čimbenika. Kad se radi o kultiviranom ljekovitom bilju, značajno utječe na kakvoću droga tehnologija uzgoja, posebice primjena sredstava za zaštitu bilja. Nestručna primjena tih sredstava može promijeniti sadržaj i sastav bioaktivnih tvari kao i dovesti do neželjene kontaminacije droga ostacima pesticida. Danas se ispitivanju čis-

toće droge, posebice sadržaju ostataka herbicida i teških metala, posvećuje jednaka pozornost kao i analizi bioaktivnih sastavnica.

S tog motrišta ispitivali smo uzorke droge *Matricariae flos* koji su nam dostavljeni iz PPK Kutjevo. Budući da su rezultati istraživanja sadržaja ostataka herbicida i teških metala već objavljeni (2), u ovom radu iznosimo rezultate ispitivanja sadržaja i sastava eteričnog ulja u istim uzorcima droge. Prije eksperimentalnog dijela donosimo kraći pregled podataka o sastavu, analitici i biološkim učincima eteričnog ulja kamilice.

ETERIČNO ULJE KAMILICE

Sastav

Godine 1863. francuski kemičar *Piesse* izolirao je iz eteričnog ulja kamilice supstanciju plave boje, koju je nazvao azulen (1). Konačno objašnjenje strukture tog spoja 1954. pokazalo je da se radi o 1,4-dimetil-7-izopropil azulenu (3). Kasnije je otkriven proazulen matricin, biciklički seskviterpenski lakton iz kojega tijekom destilacije s vodenom parom nastaje kamazulen.

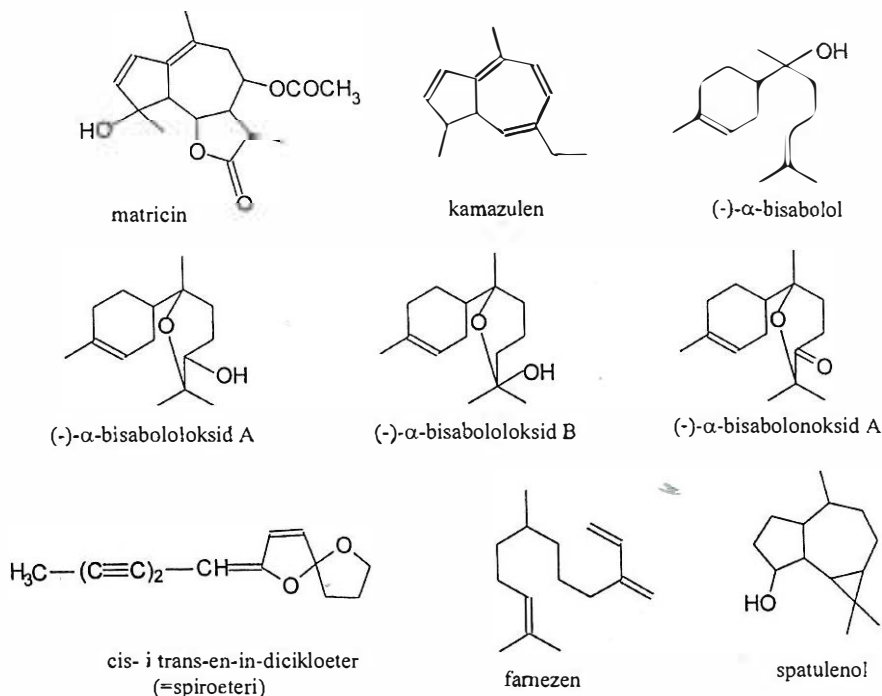
Šorm i suradnici (4) su 1951. izolirali iz eteričnog ulja kamilice monociklični seskviterpenski alkohol (-)- α -bisabolol (=levomentol) te (-)- α -bisabololooksid A. O rješenju strukture tog bisaboloida, kao i o otkriću drugog bisabololooksida, (-)- α -bisabololooksida B, izvijestili su kasnije *Sampath* i suradnici (5). Treći oksidacijski derivat bisabolola je bisabololooksid C koji se u vrlo maloj količini može izdvojiti iz eteričnog ulja kao kristalična supstancija, za razliku od prethodna dva tekuća bisabololooksida (6). Osim bisabolola i spomenutih bisabololooksida, skupini bisaboloida eteričnog ulja kamilice pripada i (-)- α -bisabolonooksid A (7). Od ostalih sastavnica eteričnog ulja značajni su spatulenol i farnezen te, posebice, dva poliina, cis- i trans-en-in-dicikloetera ili spiroetera (8). (Slika 1.)

Analitika

Za izdvajanje eteričnog ulja iz droge *Matricariae flos* primjenjuju se standardne metode: destilacija vodenom parom, ekstrakcija lipofilnim otapalima (diklormetan, n-heksan, petroleter), a u novije vrijeme i ekstrakcija superkritičnim CO₂ (9). Dobiveni se produkti mogu znatno razlikovati glede iskoristivosti te kvalitativnog i kvantitativnog sastava.

Za odjeljivanje, identifikaciju i određivanje sadržaja komponenata eteričnog ulja kamilice primjenjuju se kromatografske metode: tankoslojna, plinska i tekućinska kromatografija visoke moći razlučivanja (HPLC) te denziometrija.

U svrhu analize eteričnog ulja kamilice tankoslojnom kromatografijom predložen je veći broj razvijaača, među kojima su: benzen-etilacetat 95:5 (10), toluen-etilacetat 93:7 (11), kloroform (12), kloroform-toluen-etilacetat 65:30:5 (13). Za detekciju komponenata eteričnog ulja najčešće se primjenjuju vanilin-sulfatna kiselina i anisaldehyd-sulfatna kiselina (11).



Slika 1. Strukture matricina i glavnih komponenata eteričnog ulja droge *Matricariae flos*

Prvi rad, koji se odnosi na analizu sastava eteričnog ulja kamilice plinskom kromatografijom, objavljen je 1968. (14), a sredinom sedamdesetih u tu je svrhu testirana nova metoda, tekućinska kromatografija visoke moći razlučivanja (HPLC). Usporednom analizom eteričnog ulja kamilice tim dvjema metodama, dokazano je da HPLC metoda nema gotovo nikakve prednosti u usporedbi s plinskom kromatografijom. HPLC metoda pokazala se boljom jedino pri odjeljivanju i kvantifikaciji izomernih spojeva, kao što su spiroeteri.

Biolška svojstva

Kamilica je jedna od rijetkih ljekovitih biljaka blagog učinka čija su biološka svojstva potvrđena zamjetnim brojem farmakoloških, mikrobioloških i kliničkih istraživanja. Pri tome su, osim učinaka ekstrakta droge i eteričnog ulja, ispitani učinci pojedinih djelatnih sastavnica.

Antiflogistični učinak kamazulena dokazan je još 1933. godine (15), tj. prije nego što mu je utvrđena struktura. Kasnija su ispitivanja pokazala da jači učinak od kamazulena imaju bisabolol i matricin, te da je bisabolol djelotvorniji i od bisabololoksida A (16). Godine 1975. dokazan je i antiptični učinak bisabolola. Međutim, za antiulkusni učinak pripravaka kamilice nije odgovoran samo bisabolol, već tome pridonose i druge sastavnice droge.

Miller i suradnici (17) ispitivali su utjecaj kamazulena, (-)- α -bisabolola i en-in-dicikloetera na oslobađanje histamina iz mastocita. Najbolji učinak pokazali su en-in-dicikloeteri u koncentraciji većoj od 10^{-4} mol/L. Kamazulen i (-)- α -bisabolol pokazali su neznatan antihistaminski učinak u koncentraciji 10^{-9} – 10^{-5} mol/L, dok su u višim koncentracijama izazivali suprotan učinak, tj. stimulirali su oslobađanje histamina. U novije je vrijeme dokazan i antioksidativni učinak kamazulena (18).

Poznato je da pojedine sastavnice eteričnog ulja pridonose spazmolitičnom učinku kamilice. *Achterrath-Tuckermann* i suradnici (19) dokazali su da bisabolol, bisabololoksidi A i B, kao i eterično ulje kamilice, djeluju spazmolitički, poput muskulotropnog spazmolitika papaverina. Pri tome je bisabolol dvostruko učinkovitiji od bisabololoksida A i B.

O antibakterijskom učinku eteričnog ulja kamilice na gram-pozitivne (*Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*) i gram-negativne (*Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*) bakterije prvi je put izviješteno 1972. godine (20). Kasnijim istraživanjem učinka pojedinih komponenata, kamazulena, bisabolola, bisabololoksida i spiroetera, dokazano je da najjači antibakterijski učinak ima bisabolol. Osim toga, bisabolol, spiroeteri i kamazulen pokazali su u koncentraciji 100–200 μ g/ml fungistatski, a u nekoliko puta većoj koncentraciji fungicidni učinak, na vrste *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* i *Trychophyton rubrum* (1, 21).

EKSPERIMENTALNI DIO

Materijali*

Na proizvodnim površinama PPK Kutjevo pšenica je uzgajana kao pretkultura kamilice. Krajem kolovoza tlo je izorano na dubini od 30 cm., a krajem rujna bila je sjetva. U proljeće slijedeće godine uslijedilo je prihranjivanje dušikovim umjetnim gnojivom (KAN-27 %) i zaštita herbicidima: Afalon

Tablica 1

Sastav tla i agrotehničke mjere pri uzgoju kamilice u radnim jedinicama PPK Kutjevo iz kojih potječu uzorci (1–5) droge *Matricariae flos*

Uzorak	1	2	3	4	5
Rad. jed.	Trenkovo	Ovčara	Kula	Ovčara	Ovčara
Sastav tla	A	B	A	B	B
Sjetva	23.–26.IX	20.IX	20.IX	20.IX	20.IX
Zaštita	14. i 15.IV	31.III	30.III	14. i 15.IV	14. i 15.IV
Žetva	20.V–2.VI	16.–27.V	17.–29.V	16.–27.V	16.–27.V
Herbicidi	Afalon i Fusilade super	Focus ultra	Afalon i Focus ultra	Focus ultra	Focus ultra

A) pseudoglej, B) pseudoglej + pjeskovita ilovača

* Zahvaljujemo Klari Barić, dipl. inž. i Veselku Sesaru, dipl. inž. (PPK Kutjevo) koji su nam dostavili uzorke kamilice kao i podatke o tehnologiji uzgoja.

(linuron), Fusilade super (fluazifop-p-butyl) i Focus ultra (cycloxydim). Berba je obavljena u svibnju. Biljni materijal osušen je strujom toplog zraka (35–45 °C) u duhanskoj sušari.

*Određivanje sadržaja eteričnog ulja u uzorcima droge *Matricariae flos**

Za određivanje sadržaja eteričnog ulja u aparatu po Clevengeru primjenjena je volumetrijska metoda Europske farmakopeje (12). U tikvicu za destilaciju od 1000 mL stavi se 30 g droge i prelije s 300 mL vode. Prije početka destilacije ulije se kroz bočnu cijev aparata 0.5 mL ksilena na stupac vode koji se nalazi u graduiranoj cijevi. Tikvica s drogom i vodom zagrijava se preko azbestne mrežice četiri sata, tako da brzina destilacije iznosi 3–4 mL/min. Iz povećanja volumena ksilenskog sloja odredi se sadržaj eteričnog ulja te izrazi u mL na 100 g droge.

Analiza sastava eteričnog ulja plinskom kromatografijom

Kvalitativni i kvantitativni sastav uzoraka eteričnog ulja kamilice ispitani su pomoću plinskog kromatografa Pye Unicam PU 4550 s plamenoionizacijskim detektorom (FID) i integratorom PU 4810. Za odjeljivanje komponenta eteričnog ulja primijenjena je kapilarna kolona CP-Sil 8 CB (=SE-54 CB) dimenzija 25 m × 0.32 mm uz sljedeće uvjete: temperatura injektora 220 °C, temperatura detektora 250 °C, programirano zagrijavanje kolone 60 °C (1 min), rast temperature od 4 °C/min od 60–220 °C. Plin nosilac bio je vodik, brzine protoka 0.3 ml/min.

REZULTATI I RASPRAVA

U okviru preliminarnih ispitivanja obavljeno je poredbeno određivanje sadržaja eteričnog ulja u jednom uzorku droge *Matricariae flos* (uzorak 4) volumetrijskim (Ph. Eur.III) i gravimetrijskim postupkom (Ph. Jug IV). U tablici 2. navedeni su parametri obiju metoda, kao i vrijednosti sadržaja eteričnog ulja u uzorku 4.

Tablica 2.

Parametri volumetrijskog i gravimetrijskog postupka za određivanje sadržaja eteričnog ulja u drogi *Matricariae flos* (= *Chamomillae flos*)

Postupak	volumetrijski	gravimetrijski
Farmakopeja	Ph. Eur. III	Ph. Jug IV
Količina droge	30 g	10 g
Količina vode	300 ml	400 ml
Organsko otapalo	ksilen	petroleter
Vrijeme destilacije	3 h	2 h
Farmakopejski zahtjev	najmanje 0.4 vol % eter. ulja	najmanje 0.3 % eter. ulja
Sadržaj eter. ulja u uzorku 4	0.57 ml/100 g	0.50 g/100 g

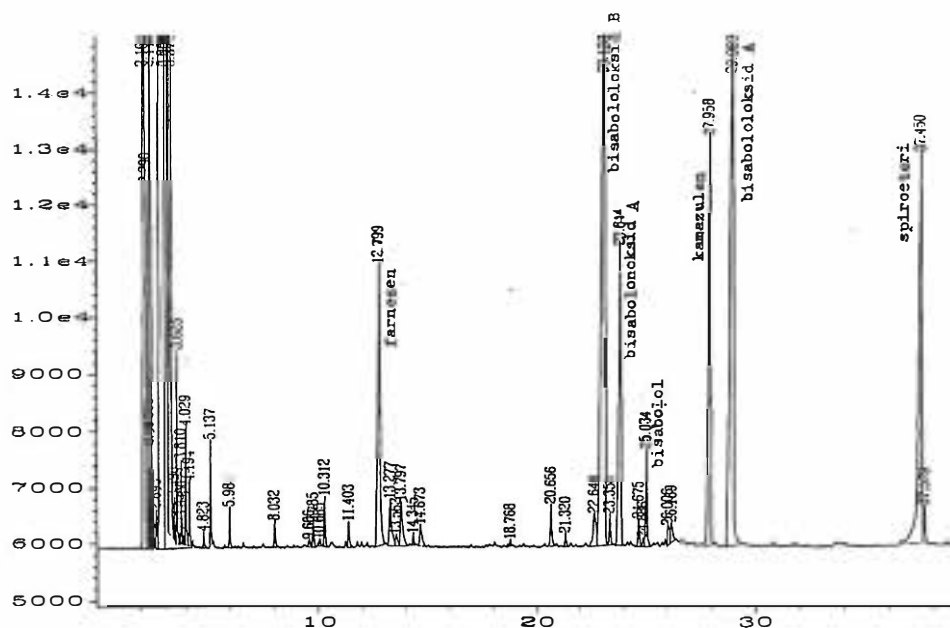
Vidljivo je da su primjenom volumetrijskog i gravimetrijskog postupka dobivene gotovo jednake vrijednosti sadržaja eteričnog ulja, jer treba uzeti u obzir i specifičnu težinu eteričnog ulja.

Iako neki autori smatraju gravimetrijsku metodu točnijom, u praksi se češće primjenjuje brža i jednostavnija volumetrijska metoda. Tom je metodom određen sadržaj eteričnog ulja i u ostalim uzorcima droge *Matricariae flos*, a rezultati su navedeni u tablici 3.

Očevidno je da svi uzorci droge *Matricariae flos* udovoljavaju zahtjevu Europske farmakopeje glede sadržaja eteričnog ulja. Iako nam podaci o ploidnosti sorti kamilice nisu bili dostupni, može se pretpostaviti da uzorci 1, 2 i 3 s višim sadržajem eteričnog ulja (0.73 %, 0.70 %) potječu od tetraploidnih sorti, a uzorci 4 i 5 s nižim sadržajem eteričnog ulja (0.57 % i 0.47 %) od diploidnih sorti.

U svrhu analize sastava eteričnog ulja metodom plinske kromatografije, uzorci droge ponovo su destilirani s vodenom parom ali bez ksilena u graduiranoj cijevi aparata.

Rezultati analize (Tablica 3, Slika 3) pokazuju da je kvalitativni i kvantitativni sastav ispitivanih uzoraka eteričnog ulja dosta ujednačen, te da se radi o kemotipu kamilice s relativno najvišim udjelom bisabololoksida A i B. Zbroj tih dviju komponenata u svim se uzorcima kreće od oko 51 % do 58 %. Treća komponenta po udjelu u ukupnom sastavu eteričnog ulja kod svih su uzoraka, osim kod uzorka 4, spiroeteri (6.2–14.1 %). Slijede kamazulen



Slika 2. Kromatogram eteričnog ulja droge *Matricariae flos*

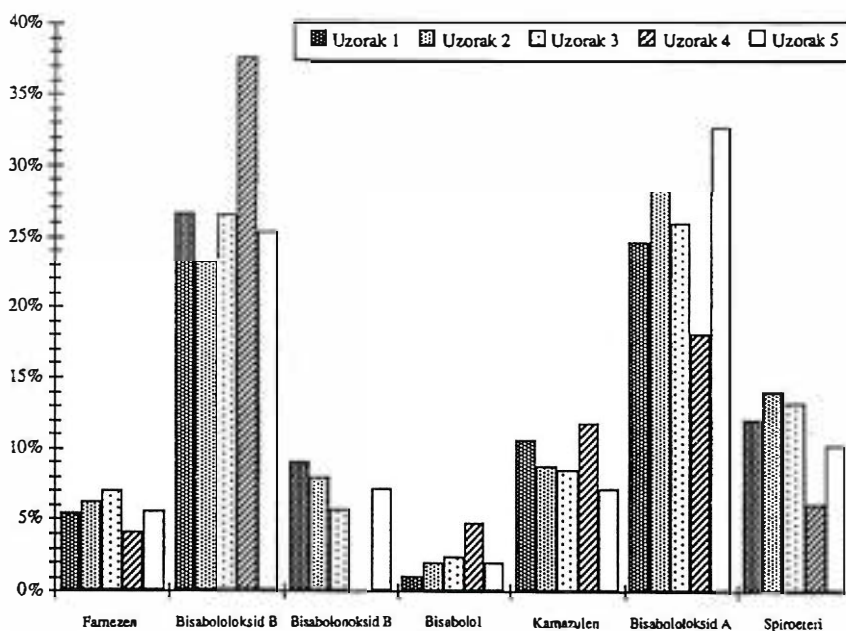
(7.2–11.8 %), bisabolonoksid A (0–9.1 %), farnezen (4.1–7.1 %) te bisabolol (1.1–4.8 %). Razvidno je da prva tri uzorka s najvećom količinom eteričnog ulja (0.70–0.73 %) imaju i najjednačiji sastav eteričnog ulja (Slika 3), dok najveća odstupanja pokazuje uzorak 4. U usporedbi s ostalim uzorcima, uzorak 4 ima najviše bisabololoksida B (37.6 %), bisabolola (4.8 %) i kamazulena (11.8 %), ali je to i jedini uzorak koji nema bisabolonoksida A.

Uspoređivanjem rezultata analize eteričnog ulja s rezultatima analize herbicida (2), ne mogu se ustanoviti neke značajnije korelacije. Tako npr.,

Tablica 3.

Sadržaj eteričnog ulja (vol %) i udio glavnih komponenata u eteričnom ulju uzoraka kamilice (1–5)

Komponenta	1 (0.70 %)	2 (0.73 %)	3 (0.70 %)	4 (0.57 %)	5 (0.47 %)
farnezen	5.4	6.2	7.1	4.1	5.6
bisabololoksid B	26.6	23.3	26.5	37.6	25.3
bisabolonoksid A	9.1	8.0	5.7	0	7.2
bisabolol	1.1	2.0	2.4	4.8	2.0
kamazulen	10.7	8.7	8.6	11.8	7.2
bisabololoksid A	24.7	28.3	26.0	18.2	32.7
spiroeteri	12.1	14.1	13.3	6.2	10.3



Slika 3. Grafički prikaz sadržaja glavnih komponenata u eteričnom ulju uzoraka (1–5) droge *Matricariae flos*

uzorci 4 i 5 potječu od kamilice uzgojene na dvjema ratarskim površinama jedne radne jedinice (Ovčare), na kojima su primijenjene jednake količine istog herbicida (Focus ultra). Kako u uzorku 4, s 0.57 % eteričnog ulja, sadržaj ostataka herbicida iznosi čak 3.16 mg/kg, a u uzorku 5, s 0.47 % eteričnog ulja, taj je sadržaj 1.92 mg/kg, očividno je da veća količina primijenjenog herbicida, nije prouzročila slabiju produkciju eteričnog ulja u uzorku 4, ali bi mogla biti uzrokom već spomenutih odstupanja u sastavu tog eteričnog ulja.

S druge strane, uzorci droge 1, 2 i 3 potječu od kamilice tretirane različitim herbicidima, odnosno kombinacijama herbicida (Tablica 1). I dok su vrijednosti sadržaja ostataka herbicida u tim uzorcima vrlo različite (1.41 mg/kg, 1.80 mg/kg i 2.57 mg/kg), vrijednosti sadržaja (0.70–0.73 %) i sastava eteričnih ulja dobivenih destilacijom tih uzoraka pokazuju najveću ujednačenost.

ZAKLJUČAK

Pet uzoraka droge *Matricariae flos* koji potječu od kamilice kultivirane na proizvodnim površinama PPK Kutjevo ispitano je glede sadržaja i sastava eteričnog ulja. Sadržaj eteričnog ulja određen volumetrijskom metodom iznosio je 0.47–0.73 %. Primjenom metode plinske kromatografije utvrđeno je da su glavne komponente uzoraka eteričnih ulja bisabololoksid A (18.2–32.7 %), bisabololoksid B (23.3–37.6 %), en-in-dicikloeteri (6.2–14.1 %), kamazulen (7.2–11.8 %), bisabolonoksid A (0–9.1 %), farnezen (4.1–7.1 %) i bisabolol (1.1–4.8 %).

Jedan od ispitivanih uzoraka droge pokazao je određeno odstupanje u sastavu eteričnog ulja; relativno najviši sadržaj bisabololoksida B (37.6 %), kamazulena (11.8 %) i bisabolola (4.8 %) te potpunu odsutnost bisabolonoksida A.

Iako bi se spomenuto odstupanje sastava eteričnog ulja moglo dovesti u korelaciju s relativno najvišim sadržajem ostataka herbicida, obavljena istraživanja nisu dostatna za donošenje pouzdanih zaključaka o učinku primijenjenih herbicida na kvalitativni i kvantitativni sastav eteričnog ulja droge *Matricariae flos*.

Literatura – References

1. H. Schilcher, Die Kamille, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1987.
2. B. Momčilović, N. Ivičić, I. Bošnjak, G. Stanić, Z. Ostojić, G. Hrlec, Arh. hig. rada toksikol. 50 (1999) 201.
3. E. Stahl, Naturwissenschaften. 41 (1954) 257.
4. F. Šorm, M. Zaoral, V. Herout, Collect Czechoslov. Chem. Commun. 16 (1951) 626.
5. V. Sampath, M.R. Thakar, S.K. Paknikar, B.K. Sabata, S.C. Bhattacharyya, Indian. J. Chem. 7 (1969) 1060.
6. H. Schilcher, L. Novotny, K. Ubik O. Motl, V. Herout, Arch. Pharm. 309 (1976) 189.
7. J. Hölzl, G. Demuth, Planta Med. 27 (1975) 37.
8. F. Bohlmann, P. Herbst, C. Arndt, U. Schönowski, H. Gleinig, Chem. Ber. 94 (1961) 3193.
9. E Reverchon, F. Senatore, J. Agr. Food Chem. 42 (1994) 154.
10. H. Schilcher, Dtsch. Apoth. Ztg. 104 (1964) 1019.

11. H. Wagner, S. Bladt, E.M. Zgainski, *Drogenanalyse*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1983, 32.
12. *European pharmacopoeia*, Third Edition, Council of Europe, Strasburg, 1997.
13. M. Medić-Sarić, G. Stanić, Ž Maleš, S. Šarić, *J. Chromatogr.* **776** (1997) 355.
14. O. Isaac, H. Schneider, H. Eggenschwiller, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **108** (1968) 293.
15. W. Heubner, F. Grabe, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **171** (1933) 329
16. V. Jakoblev, O. Isaac, K. Thiemer, R. Kunde, *Planta Med.* **35** (1979) 125.
17. T. Miller, U. Wittstock, U. Lindequist, E. Teuscher, *Planta Med.* **62** (1996) 60.
18. E. A. Rekká, P. Kourounakis, P.N. Kourounakis, *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **92** (1996) 361.
19. U. Achterrath-Tuckermann, R. Kunde, E. Flaskamp, O. Isaac, K. Thiemer, *Planta Med.* **39** (1980) 38.
20. M. E. Aggag, R.T. Yousef, *Planta Med.* **22** (1972) 140.
21. M. Szalontai, G. Verzar-Petri, E. Florian, F. Gimpel, *Acta Pharm. Hung.* **46** (1976) 232.

Primljeno 21. III. 2000.