

Kemijski sastav, biološka aktivnost i primjena smilja u medicini i farmaciji

Bilandžija, Lucija; Bilandžija, Barbara; Pollak, Lea; Inić, Suzana

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2022, 78, 229 - 248**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:984246>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

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



Kemijski sastav, biološka aktivnost i primjena smilja u medicini i farmaciji

LUCIJA BILANDŽIJA¹, BARBARA BILANDŽIJA¹,
LEA POLLAK², SUZANA INIĆ¹

¹Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb

²Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Rockefellerova 7, 10000 Zagreb

Uvod

Smilje (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.) je ljekovita i aromatična biljka (slika 1.) koja se od davnina koristi u tradicionalnoj medicini za liječenje različitih poremećaja. Primjena vrste *H. italicum* u medicinske svrhe spominje se još u razdoblju starih Grka i Egipćana, a zadržala se do današnjih dana u tradicionalnoj medicini mediteranskih zemalja. U primjeni su uglavnom cvjetovi, stabljika i listovi smilja jer su bogatiji bioaktivnim sastavnicama u odnosu na podzemne dijelove. U obliku infuza i dekokta služe u liječenju različitih poremećaja, a najčešće probavnog i dišnog sustava te kože (1, 2). Indikacije za tradicionalnu primjenu smilja uključuju: jetrene tegobe, tegobe sa žuči i žučnim putevima (djeluje kao koleretik jer potiče jetru na pojačano stvaranje žuči i kao kolagog jer potiče pražnjenje žučnog mjehura u dvanaesnik), kašalj i prehladu, faringitis, laringitis i bronhitis, astmu i alergije, hematome (sadrži italdone (β -diketoni), spojeve s antikoagulantnim djelovanjem), kožne poremećaje poput alopecije, kožnih upala, dermatomikoza, psorijaze te zacjeljivanje rana. Također, smilje se primjenjuje i u analgetske svrhe (glavobolja, zubobolja, bol u trbuhu) te kod nesаницe. Ipak, učinkovitost upotrebe *H. italicum* u većini ovih indikacija nije još potpuno znanstveno ispitana. Osim toga ispitivanja farmakološkog djelovanja većinom se provode na organskim ekstraktima *H. italicum* dobivenim s različitim otapalima, dok se u tradicionalnoj primjeni koriste uglavnom vodeni ekstrakti odnosno infuzi i dekokti. Vrsta i koncentracija sastavnica



Slika 1. ◀
Mediteransko smilje
(*Helichrysum italicum*
(Roth) G. Don.)

te posljedično učinak ovise o metodi pripreme ekstrakata (2, 3). Danas sve više raste interes farmaceutske i kozmetičke industrije za eteričnim uljem smilja zbog njegovih brojnih pozitivnih farmakoloških učinaka (4).

Taksonomija, rasprostranjenost i morfološke značajke smilja

Smilje je mediteranska biljka koja pripada rodu *Helichrysum* i porodici glavočika (Asteraceae). Rod *Helichrysum* (Miller) obuhvaća preko 600 vrsta od kojih 25 vrsta raste na mediteranskom području. *H. italicum* samoniklo raste na suhim, kamenitim i pjeskovitim staništima mediteranskog područja (Španjolska, Francuska, Italija Hrvatska, Grčka, Cipar, Alžir, Maroko), a obuhvaća šest podvrsta: *H. italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum*, *H. italicum* subsp. *microphyllum* (Willd.) Nyman, *H. italicum* subsp. *picardii* Franco, *H. italicum* subsp. *pseudolitoreum* (Fiori) Bacch. i sur., *H. italicum* subsp. *serotinum* (Boiss.) P. Fourn, *H. italicum* subsp. *siculum* (Jord. & Fourn.) Galbany i sur. (2). Osim na Mediteranu, vrste roda *Helichrysum* rasprostranjene su i u drugim dijelovima svijeta poput istočne i južne Afrike, Madagaskara, središnje Azije, jugoistočne Australije i Novog Zelanda. Sve vrste ovog roda prilagođene su životu na suhim staništima (kserofiti), a mogu rasti i na većim nadmorskim visinama (do 1770 m) (4, 5, 6).

U Hrvatskoj je uz vrstu *H. arenarium* (L.) Moench (pješčano smilje) od posebne važnosti i vrsta *H. italicum* (Roth) G. Don (sredozemno smilje). To je višegodišnja biljka, jakog aromatičnog mirisa, u obliku polugrma visine do 60 cm. Stabljika smilja je razgranata i prekrivena sitnim dlačicama, dok su listovi smilja veličine 2 – 37 x 0,4 – 1,8 mm, na dnu skupljeni u rozetu, a prema vrhu

naizmjenično raspoređeni na stabljici. Listovi su uski, šiljasti i linearni, na rubu uvijeni, s lica zelenkasti, manje dlakavi i s rijetko raspoređenim žlijezdama, a s naličja sivo-zeleni, gusto prekriveni dlačicama i žlijezdama. Debela kutikula i dlačice osiguravaju dobru prilagodbu sušnim uvjetima staništa koje ova biljka nastanjuje. Smilje je ipak najpoznatije po svojim zlatnožutim cvjetovima prema kojima je i dobilo naziv (od grčkih riječi *helios* – sunce i *chrysos* – zlatan). Cvjetovi su skupljeni u cvatove – glavice cilindričnog do usko zvonastog oblika, veličine 4 – 6,5 mm × 2 – 5 mm. Smilje cvate od svibnja do kraja srpnja, a i nakon cvatnje i sušenja zadržava svoju boju zbog čega nosi naziv i „besmrtno cvijeće“. Plod smilja je roška (achenium) koju nalazimo i kod drugih vrsta porodice Asteraceae (4, 7, 8, 9).

Biološki aktivne tvari smilja

Iz različitih ekstrakata *H. italicum* izoliran je velik broj kemijskih spojeva koji pojedinačno ili u sinergiji doprinose farmakološkoj aktivnosti smilja. Biološki aktivne tvari *H. italicum* uključuju: fenolne kiseline (kavena kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulična kiselina, klorogenska kiselina), flavonoide (gnafalin, apigenin, naringenin, luteolin, pinocembrin, tilirozid, halkon-2'-glukozid, naringenin-glikozid, kempferol-3-glukozid), kumarine (eskuletin, skopoletin i izoskopoletin), acetofenone (12-acetoksitremeton, (2,3-dihidro-2-(1-(hidroksimetil)etenil-5-benzofuranil)etanon), pironi (arzanol, metilarzanol, helipiron, mikropiron), triterpene, steroide (β -sitosterol, ursolična kiselina) i eterično ulje. Od svih prisutnih spojeva u vrsti *H. italicum* najzastupljenije su fenolne komponente (flavonoidi, acetofenoni, fluoroglucinoli, kumarini, kumarati, fenolne kiseline i njihovi esteri te drugi derivati) (10, 11).

Kemijski sastav i čimbenici koji utječu na sastav eteričnog ulja smilja

Eterično ulje *H. italicum* sintetizira se i odlaže egzogeno, u žljezdanim dlakama koje su prisutne na površini cvjetova (latice, lapovi) i listova (pricvjetni i listovi stabljike) (6).

Prilagodba na različite okolišne čimbenike, osim što uzrokuje raznolikost morfoloških, kemijskih i genetskih karakteristika vrste *H. italicum*, također utječe i na kvalitativne i kvantitativne značajke eteričnog ulja ove biljke (12). Brojne studije donose sastav i količinu eteričnog ulja vrste *H. italicum* prikupljene na različitim lokacijama u Hrvatskoj (13, 14, 15, 16) i na Mediteranu (1, 12, 17, 18, 19, 20, 21, 22) kao što je prikazano u tablici 1. U provedenim istraživanjima ispitan je utjecaj nadmorske visine i klimatskih čimbenika (temperatura, oborine, izloženosti suncu) (12, 14), stadija razvoja biljke (16) te utjecaj staništa i vrste tla na kojem biljka raste (17) na sastav i količinu eteričnog ulja *H. italicum*.

Tablica 1. ► Glavne sastavnice i sadržaj eteričnog ulja vrste *H. italicum* s različitih područja Hrvatske i Mediterana

lokalitet	metoda	sadržaj eteričnog ulja (%)	broj identificiranih sastavnica	glavne sastavnice	literatura (broj reference)
područje Zadra, Šibenika, Knina	GC-MS	0,020	38	α-pinen, γ-kurkumen, neril acetat, β-selenin, izotalicen, β-kariofilen, α-kurkumen	Malenica Staver i sur., 2018. (13)
područje Brača, Biokova, Tjjarice, Makarske	GC-MS	0,02–0,12	97	neril acetat, α-trans-bergamoten, α-humulen, β-akoradien, ar-kurkumen, rosifoliol	Čavar Zeljković i sur., 2015. (14)
područje Splita	GC-MS	0,12	52	α-pinen, α-cedren, aromadendren, β-kariofilen, neril acetat, geranil acetat	Mastelic i sur., 2005. (15)
različite lokacije duž Jadranske obale	GC-FID GC-MS	0,08–0,32	32	α-pinen, α-terpineol, neril acetat, α-cedren, i-italicen, α-kurkumen, γ-kurkumen, spatulenol	Blažeković i sur., 1995. (16)
botanički vrt u Rimu	GC-MS	0,12	20	neril acetat, α-pinen, nerol, neril fenilacetat, β-kariofilen, bisabolen, azulen	Gismondi i sur., 2020. (1)
otok Sardinija	GC-MS	0,31–0,45	34	nerilacetat, eudezmen-7-(11)-en-4-ol, neril propionat, γ-kurkumen,	Melito i sur., 2016. (12)
otok Elba, Toskana	GC-FID GC-MS	0,01–0,06	115	nerol, neril acetat, eudezm-5-en-11-ol, γ-kurkumen, α-pinen, limonen, 1,8-cineol, neril propanoat	Leonardi i sur., 2013. (17)
nacionalni park Cilento i Vallo di Diano, Kampanija,	GC-FID GC-MS	0,02	44	izoitalicen epoksid, 8-cedren-13-ol, (Z)-α-trans-bergamotol, β-kostol	Mancini i sur., 2011. (18)
otok Elba, Toskana	GC-FID GC-MS	–	18	neril acetat, α-pinen, limonen, γ-kurkumen, neril propionat, nerol	Conti i sur., 2010. (19)
otoci toskanskog arhipelaga	GC-FID GC-MS ¹³ C NMR	0,27–0,78	49	nerol, neril acetat, neril propionat, β-diketoni, eudezm-5-en-11-ol, γ-kurkumen, α-pinen, limonen, ar-kurkumen	Paolini i sur., 2006. (20)

Tablica 1. ► nastavak

lokalitet	metoda	sadržaj eteričnog ulja (%)	broj identificiranih sastavnica	glavne sastavnice	literatura (broj reference)
Toskana, Sardinija, Korzika	GC-FID GC-MS ¹³ C NMR	0,25–0,41	45	α-pinen, neril acetat, β-selinen, β-kariofilen, α-selinen, neril propionat, β-diketoni, nerol, linalol, eudezm-5-en-11-ol	Bianchini i sur., 2003. (21)
otok Amorgos, Grčka	GC-FID GC MS	0,46	24	geraniol, geranil acetat, E-nerolidol, neril acetat	Chinou i sur., 1996. (22)

Čavar Zeljković i sur. ispitali su utjecaj nadmorske visine i klimatskih čimbenika, poput izloženosti suncu, na sastav i sadržaj eteričnog ulja *H. italicum*. Analizirani su uzorci eteričnog ulja *H. italicum* s različitih lokacija (Brač, Biokovo, Tijarica, okolica Makarske) na Jadranskoj obali te je utvrđeno da su uzorci sličnog sastava, uz prisutne značajne razlike u postotnom sadržaju pojedinih komponenti. Tako je postotak oksigeniranih monoterpena i seskviterpena bio veći u uzorcima s Biokova i iz okolice Makarske, čime je pokazano da je razina oksigeniranih monoterpena i seskviterpena u eteričnom ulju veća na većim nadmorskim visinama (uzorak s Biokova) i pri većoj izloženosti suncu (uzorak iz okolice Makarske). Za razliku od oksigeniranih komponenti, razina monoterpenskih ugljikovodika pokazuje suprotan trend (14).

Mastelic i sur. ispitali su sastav i količinu eteričnog ulja smilja sakupljenog u okolici Splita. Najzastupljenije komponente među monoterpenskim ugljikovodicima su α-pinen (10,2 %) i limonen (3,8 %), dok su najzastupljeniji seskviterpenski ugljikovodici α-cedren (9,6 %), aromadendren (4,4 %), β-kariofilen (4,2 %), 2,3,4,7,8,8a-heksahidro-1H-3a, 7-metanoazulen (3,0 %) i ar-kurkumen (2,3 %). Od oksigeniranih komponenti u najvećoj količini su prisutni neril acetat (11,5 %), 2-metilcikloheksilpentanoat (8,3 %), geranil acetat (4,7 %) i 2-metilcikloheksiloktanoat (4,8 %) (15).

Blažeković i sur. su pokazali kako lokacija na kojoj smilje raste utječe i na sadržaj eteričnog ulja (koji se za uzorke s različitih lokacija u Dalmaciji kretao između 0,08 i 0,32 %) i na zastupljenost pojedinih komponenti u eteričnom ulju. Faza rasta biljke također utječe na količinu eteričnog ulja (0,06 do 0,35 %), koja je najveća u fazi prije cvjetanja biljke, dok nema značajan utjecaj na sastav eteričnog ulja. Ispitivanje sadržaja eteričnog ulja *H. italicum* ubranog u Veloj Luci na

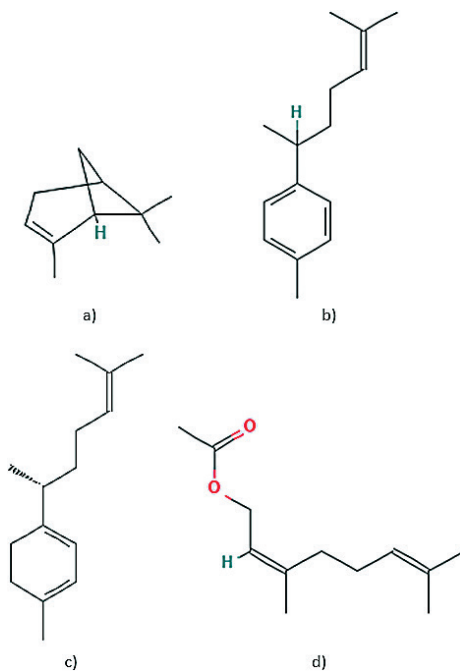
Korčuli u različitim fazama razvoja biljke (rani izbojci, formiranje cvata, prije cvjetanja, za vrijeme cvjetanja, nakon cvjetanja i kasni ljetni izbojci) pokazalo je da je α -pinen, kao jedan od glavnih predstavnika monoterpena, najzastupljeniji u fazama ranih izbojaka (24,58 %) i prilikom formiranja cvata (28,86 %) dok je u maloj količini prisutan za vrijeme cvjetanja (4,15 %) i nakon cvjetanja (4,36 %). S druge strane, α -kurkumen, jedan od najzastupljenijih seskviterpena, prisutan je u vrlo maloj količini u fazi ranih izbojaka (0,44 %) dok je u fazi cvjetanja najzastupljeniji spoj (28,06 %). Dobiveni rezultati istraživanja su pokazali da su monoterpeni dominantni u fazi rasta biljke, dok su seskviterpeni dominantni u fazi cvjetanja i fazi nakon cvjetanja biljke (16).

Melito i sur. istraživali su razliku u sastavu eteričnih ulja *H. italicum* ssp. *microphyllum* s obalnog (0 – 60 m nadmorske visine) i planinskog područja (60 – 1250 m nadmorske visine). Pokazalo se da postoje dva glavna kemotipa, obalni i planinski, pri čemu obalni tip proizvodi više monoterpenskih, a planinski tip više seskviterpenskih sastavnica. Dobiveni rezultati su, osim toga, ukazali na to da nadmorska visina ima utjecaj na sastav eteričnog ulja te da neki spojevi poput nerola, γ -kurkumena, α -kurkumena i italicena pokazuju pozitivnu, dok drugi poput kariofilena, limonena, nerolidola i cis- β -guainena pokazuju negativnu korelaciju s nadmorskom visinom. Uz nadmorsku visinu, i klimatski čimbenici poput prosječne zimske i maksimalne ljetne temperature kao i proljetne, ljetne i jesenske oborine utječu na udio pojedinih sastavnica. Tako je nerolidol pokazao najveću pozitivnu korelaciju sa zimskom, a guaiol s maksimalnom ljetnom temperaturom. Na sadržaj nerola, italicena, kurkumena i bergamotena najviše su pozitivno utjecale proljetne i ljetne oborine dok su na sadržaj limonena najpovoljnije utjecale jesenske oborine (12).

Leonardi i sur. ispitali su količinu i sastav eteričnih ulja dobivenih iz uzoraka *H. italicum* ssp. *italicum* prikupljenih na 7 različitih lokacija na otoku Elbi tijekom različitih perioda u godini (siječanj, svibanj i listopad). Sva eterična ulja bila su karakterizirana visokim sadržajem oksigeniranih monoterpena (38,6 – 62,7 %) dok je sadržaj monoterpenskih i seskviterpenskih ugljikovodika varirao ovisno o uzorku (2,3 – 41,9 % za monoterpenske ugljikovodike i 5,1 – 20,1 % za seskviterpenske ugljikovodike). Uz iznimku nekoliko sastavnica, sadržaj eteričnog ulja nije značajno varirao s obzirom na period prikupljanja (siječanj, svibanj i listopad). Suprotno tomu, vrlo velike razlike primijećene su između uzoraka s različitih lokacija, koje su karakterizirane različitom vrstom tla. Količina eteričnog ulja varirala je između 0,1 – 0,6 %, a prisutne su bile i razlike u sastavnicama prisutnim u eteričnom ulju ovisno o vrsti tla na kojem je biljka rasla. Nadalje, dobiveni rezultati su uspoređeni s prethodno ispitivanim uzorcima skupljenim

na drugim otocima toskanskog arhipelaga. S obzirom na razlike u uzorcima s otoka Elbe i prethodno analiziranih uzoraka s drugih otoka toskanskog arhipelaga (Gorgona, Capraia, Pianosa, Giglio, Monte-cristo i Giannutri), vjerojatno je da su količina i sastav eteričnog ulja usko povezani sa staništem na kojem biljka raste, a posebno s vrstom tla, s obzirom da se ono razlikovalo na navedenim otocima (17).

Studije provedene na različitim lokacijama na Jadranskoj obali (13, 14, 15, 16) pokazuju razlike u sastavu i količini eteričnog ulja smilja. U studijama postoje varijacije, pa su tako u nekim studijama najzastupljenija skupina spojeva u eteričnom ulju *H. italicum* bili seskviterpenski ugljikovodici, dok su u nekim drugim studijama to bili monoterpenski spojevi. Ipak, od pojedinačnih spojeva dominantne sastavnice eteričnog ulja *H. italicum* bile su α -pinen (monoterpenski ugljikovodik), α - i γ -kurkumen (seskviterpenski ugljikovodici) te neril acetat (oksigenirani monoterpen) (slika 2.). Prisutna varijabilnost u kemijskom sastavu eteričnog ulja *H. italicum* posljedica je različitih klimatskih uvjeta (temperatura, broj sunčanih sati, oborine, duljina dana) i okolišnih čimbenika (nadmorska visina, vrsta tla i pH tla) kojima su biljke bile izložene (13).



Slika 2. ► Kemijska struktura (a) α -pinena; (b) α -kurkumena; (c) γ -kurkumena; (d) neril acetata

Biološka aktivnost

Vrsta *H. italicum* ima širok spektar bioloških aktivnosti (10) te stoga i široku primjenu u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji te u proizvodnji parfema (23). Dosadašnja istraživanja različitih ekstrakata i eteričnog ulja smilja pokazala su da smilje ima protuupalno (24, 25, 26, 27, 28, 29), antioksidacijsko (25, 27, 29, 30, 31, 32), antimikrobno (15, 33, 34, 35), antidijabetičko (36, 37), insekticidno i repelentno (19, 38), antineoplastično djelovanje (1, 13, 39) te protektivno djelovanje na kožu (40, 41). Dok su u navedenim studijama protuupalno, antioksidacijsko i antidijabetičko djelovanje ispitivani na različitim

organskim ekstraktima *H. italicum*, ostala djelovanja (antimikrobno, insekticidno i repelentno te antineoplastično djelovanje) ispitana su i za eterično ulje smilja.

Protuupalno djelovanje

Upala, posebice kronična, proces je povezan s nastankom mnogih bolesti, uključujući autoimune bolesti, astmu, aterosklerozu i karcinom. Najvažniji medijatori koji posreduju u procesu upale su prostaglandini i leukotrieni. Prostaglandini i leukotrieni nastaju metabolizmom arahidonske kiseline uz enzime ciklooksigenazu-1 (COX-1) i ciklooksigenazu-2 (COX-2) te 5-lipoksigenazu (5-LOX), a osim posredovanja u upali imaju i različite fiziološke uloge u gastrointestinalnom sustavu, bubrezima, krvnim žilama, mozgu, uterusu. Upravo zbog toga, nesteroidni protuupalni lijekovi inhibirajući njihovu sintezu izazivaju brojne nuspojave pa se javlja potreba za pronalaskom novih lijekova koji će selektivnije inhibirati sintezu samo određenih prostaglandina i leukotriena (24).

Od svih djelovanja *H. italicum* najviše je istraženo njegovo protuupalno djelovanje. Protuupalno djelovanje ispitano je za metanolni ekstrakt *H. italicum* i 4 ekstrakta dobivena iz njega (dobiveni su uparavanjem metanolnog ekstrakta pod sniženim tlakom, otapanjem suhog ostatka u vodi te ekstrakcijom u n-heksanu, diklormetanu, etil acetatu i n-butanolu) na različitim modelima upale inducirane kod miševa. Iako točni mehanizmi djelovanja nisu identificirani pretpostavlja se da je protuupalno djelovanje ekstrakata posljedica njihovog antioksidacijskog djelovanja, inhibicije pro-inflamatornih citokina i učinaka sličnih kortikosteroidima (25). Za antiinflamatorno djelovanje odgovornim se pokazalo više biljnih sastavnica među kojima su acetofenoni, flavonoidi i α -piron floroglucinol.

Acetofenoni 4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon i 4-hidroksi-3-(2-hidroksi-3-izopentenil)acetofenon pokazali su inhibitorni učinak na aktivnost 5-LOX i produkciju leukotriena B₄ u leukocitima štakora, dok je samo 4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon inhibirao i COX-1 i proizvodnju prostaglandina E₂ u ljudskim trombocitima. Također, 4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon pokazao je i analgetski učinak pa bi zbog dvojnog protuupalnog i analgetskog djelovanja mogao poslužiti kao spoj uzor za nove antiinflamatorne lijekove i analgetike (26).

Flavonoidi gnafalin i pinocembrin temelje svoje protuupalno djelovanje na inhibiciji enzima 5-LOX i redukciji proizvodnje leukotriena B₄ u leukocitima štakora te inhibiciji enzimske lipidne peroksidacije (inhibicijom enzima uključenih u proces inicijacije lipidne peroksidacije). Za razliku od gnafalina i

pinocembrina flavonoid tilirozid ima sposobnost hvatanja slobodnih radikala te osim enzimske suprimira i ne-enzimsku (inducirana s Fe²⁺/askorbatom) lipidnu peroksidaciju u jetrenim mikrosomima štakora. Osim toga, tilirozid ima i inhibirajući učinak na komponente sustava komplementa (čini ga tridesetak proteina koji se aktiviraju u postupnoj enzimskoj reakciji tijekom imunološkog odgovora organizma) zbog čega suprimira otpuštanje histamina i drugih upalnih medijatora iz mastocita potaknuto C3a i C5a komponentama komplementa (27).

Ipak, najvažnija protuupalna komponenta izolirana iz *H. italicum* je arzanol, prenilirani heterodimerni floriglucinol α -piron. Ovaj spoj snažno inhibira nuklearni faktor kappa B (*nuclear factor kappa B*, NF- κ B), ključan faktor koji regulira transkripciju gena za proinflamatorne citokine poput interleukina-1 β (IL-1 β), interleukina-6 (IL-6), faktora tumorske nekroze α (TNF- α) te enzime poput COX-2. Osim toga, arzanol djeluje i kao inhibitor enzima 5-LOX, COX-1 i mikrosomalne prostaglandin E₂ sintaze (mPGES). Budući da su COX-1/2 i 5-LOX zapravo dioksigenaze sa željezom u aktivnom mjestu koje se tijekom katalize oksidiraju i reduciraju, pretpostavlja se da je inhibicija ovih enzima posljedica antioksidacijskog djelovanja arzanola, koje mu omogućava prekid redoks ciklusa ili održavanje željeza u inaktivnom, reduciranom stanju (24, 28, 29).

Budući da spojevi *H. italicum* posjeduju protuupalni učinak, različiti pripravci dobiveni od vrste *H. italicum* (najčešće infuzi i dekokti) mogu se primjenjivati za ublažavanje određenih kožnih oboljenja poput psorijaze ili ekcema te kod alergija i astme jer imaju učinak na inhibiciju proizvodnje leukotriena, važnih medijatora u patogenezi alergija i astme (2, 25, 29).

Antioksidacijsko djelovanje

Ispitivanja antioksidacijskog potencijala prirodnih spojeva iz *H. italicum*, ali i drugih biljnih vrsta zanimljiva su prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji radi pronalaska prirodnih antioksidansa koji će biti sigurniji za primjenu od postojećih sintetskih (butil-hidroksitoluen (BHT) i butil-hidroksi anisol (BHA)). Ipak, da bi se ovakvi prirodni antioksidansi mogli primjenjivati, potrebno je ispitati njihovu učinkovitost, biodostupnost i sigurnost primjene *in vivo* (30).

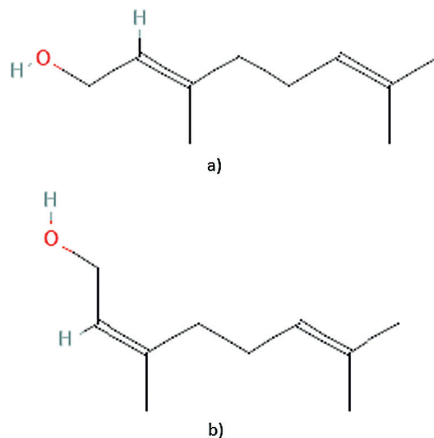
Antioksidacijsko djelovanje blisko je povezano s antiinflamatornim budući da su slobodni radikali uključeni u aktivaciju NF- κ B koji je odgovoran za regulaciju transkripcije gena za proinflamatorne citokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α , itd.) i enzime (COX-2) (29). Mehanizmi antioksidacijskog djelovanja uključuju

sposobnost hvatanja slobodnih radikala uključenih u proces lipidne peroksidacije, inhibiciju enzima uključenih u nastanak reaktivnih kisikovih vrsta (*reactive oxygen species*, ROS) (ciklooksigenaza, lipooksigenaza, NADPH oksidaza, ksantin oksidaza i protein kinaza C) te keliranje metala (željezo, bakar) koji potiču nastanak ROS. Antioksidacijsko djelovanje ispitivano je za metanolni ekstrakt *H. italicum* i za različite frakcije dobivene iz metanolnog ekstrakta (dobivene su na jednak način kao i kod ispitivanja protuupalnog djelovanja). Svi ekstrakti osim onoga u heksanu pokazali su sposobnost hvatanja slobodnih radikala i na taj način inhibiciju lipidne peroksidacije. Među spojevima izoliranim iz ekstrakata *H. italicum* antioksidacijsku aktivnost pokazuju određeni flavonoidi (gnafalin, pinocembrin, tilirozid) i arzanol (25, 27, 31). Kod tilirozida je primijećena veća antioksidacijska aktivnost u odnosu na gnafalin i pinocembrin. Tilirozid značajno inhibira enzimsku i ne-enzimsku lipidnu peroksidaciju zbog inhibicije enzima uključenih u proces inicijacije lipidne peroksidacije, ali i sposobnosti hvatanja slobodnih radikala, dok gnafalin i pinocembrin inhibiraju samo enzimsku lipidnu peroksidaciju budući da njihov mehanizam antioksidacijskog djelovanja ne uključuje hvatanje slobodnih radikala (27). Također, utvrđeno je da tilirozid i gnafalin inhibiraju Cu^{2+} induciranu oksidaciju humanog lipoproteina niske gustoće (*low density lipoprotein*, LDL) keliranjem metala uključenih u produkciju slobodnih radikala, te tako smanjuju oksidacijske modifikacije LDL-a (32). Bakrom katalizirana oksidacija LDL-a je model koji oponaša *in vivo* proces oksidacije s obzirom da aterosklerotične arterijske stijenke sadrže tragove bakrovih iona koji pridonose oksidaciji LDL-a, koja ima važnu ulogu u patogenezi velikog broja bolesti uključujući ateroskleroza, metabolički sindrom, artritis i demenciju. Na tom modelu ispitana je i antioksidacijska aktivnost arzanola. Ispitivanje je pokazalo da prethodni tretman s arzanolom značajno doprinosi zaštiti LDL-a od oksidacijskih oštećenja izazvanih Cu^{2+} ionima, a njegova antioksidacijska aktivnost je posljedica sposobnosti hvatanja slobodnih radikala i u manjoj mjeri mogućnosti keliranja metalnih iona (31).

Antimikrobno djelovanje

Neracionalna upotreba antibiotika, posebno u bolničkom okruženju, dovela je do pojave multirezistentnih bakterija. Jedan od načina na koji ove bakterije osiguravaju otpornost na antibiotike je prekomjerna ekspresija efluksnih pumpi, proteinskih nosača koji iz stanice bakterije mogu izbaciti različite antibiotike i tako ih učiniti neučinkovitim. Stoga, blokiranje efluksnih pumpi pomoću inhibitora može smanjiti minimalnu inhibitornu koncentraciju (*minimum inhibitory concentration*, MIC) i povećati učinkovitost antibiotika (11, 33).

Eterično ulje *H. italicum* sadrži komponente, poput geraniola, koje inhibirajući efluksne pumpe višestruko rezistentnih bakterijskih sojeva pojačavaju učinkovitost antibiotika protiv tih bakterijskih sojeva. Otkriveno je da primjena eteričnog ulja *H. italicum* omogućuje smanjenje MIC i povećanje osjetljivosti višestruko rezistentnih sojeva *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa* na kloramfenikol. Osim na kloramfenikol, eterično ulje *H. italicum* povećalo je osjetljivost bakterija i na klinički značajnije antibiotike poput β -laktama i fluorokinolona norfloksacina (33). Za antimikrobnu aktivnost eteričnog ulja *H. italicum* odgovornim se smatraju spojevi koji sadrže kisik kao što su monoterpenski alkoholi geraniol i nerol (slika 3.) te njihovi acetatni esteri (15).



Slika 3. ► Kemijska struktura (a) geraniola; (b) nerola

Osim na Gram-negativnim bakterijama, antimikrobna aktivnost je ispitivana i na Gram-pozitivnim bakterijama te na gljivicama, korištenjem disk difuzijske metode i određivanjem MIC. Jača antimikrobna aktivnost utvrđena je prema Gram-pozitivnim bakterijama (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) i gljivicama (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) u odnosu na Gram-negativne bakterije (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) (15, 34). Razlika u osjetljivosti Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija vjerojatno je posljedica različite građe njihovog staničnog zida. Naime, stanični zid Gram-pozitivnih bakterija građen je od citoplazmatske membrane i sloja peptidoglikana pa ne djeluju kao snažna barijera prolasku lipofilnih molekula odgovornih za antimikrobnu aktivnost eteričnog ulja za razliku od staničnog zida Gram-negativnih bakterija koji je građen od citoplazmatske membrane, sloja peptidoglikana i vanjske fosfolipidne membrane s lipopolisaharidima. Dobivena saznanja mogla bi biti korisna u razvoju prirodnih konzervansa u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji te u razvoju novih antimikrobnih lijekova (35).

Antidijabetičko djelovanje

Na modelu štakora kod kojih je, pomoću prehrane bogate mastima i šećerima, inducirano stanje inzulinske rezistencije te je značajno povećana njihova tjelesna težina i razina glukoze u krvi, ispitan je učinak metanolno-vodenog ekstrakta *H. italicum* na smanjenje tjelesne težine i razine glukoze u krvi. Skupina štakora, koja je uz standardnu dijetu, primala i ekstrakt *H. italicum* postigla je značajnije smanjenje tjelesne težine od skupine koja nije primala ekstrakt. Također, ekstrakt *H. italicum* je zbog svog antioksidacijskog djelovanja smanjivao oksidacijski stres, što je važno budući da su se upala i oksidacijski stres pokazali povezanima s pretilosti i inzulinskom rezistencijom. Isto tako, ekstrakt je zbog antiinflatornog djelovanja inhibirao upalu posredovanu s TNF- α i Toll-like receptorima (*toll-like receptors*, TLR) smanjujući ekspresiju TNF- α i TLR2 u intestinalnoj mukozi. Antioksidacijsko i protuupalno djelovanje ekstrakta pripisuje se flavonoidima, iako se ne može isključiti niti uloga drugih sastavnica ekstrakta (36). U studiji koju su proveli Garza i sur. je pokazano kako metanolno-vodeni ekstrakt *H. italicum* smanjuje razinu glukoze u krvi kod dijabetičkih db/db miševa, a za što se pretpostavlja da je posljedica povećane ekspresije enzima glukokinaze koji fosforilira glukozu u jetri, nakon čega ona u stanicama jetre podliježe procesu glikolize ili glikogeneze. Osim toga, opažena je smanjena ekspresija odnosno razina mRNA za nekoliko pro-inflamatornih markera (NF κ B, TNF- α i COX-2) u tkivu jetre i u masnom tkivu dijabetičkih db/db miševa, što je važno s obzirom da bi djelovanje na smanjenje kronične upale moglo pridonijeti u liječenju šećerne bolesti tipa 2 (37).

Insekticidno i repelentno djelovanje

Kako sintetski insekticidi, unatoč svojoj učinkovitosti, kod ponavljane primjene mogu imati neželjene učinke na okoliš i ljudsko zdravlje, javlja se potreba za pronalaskom jednako učinkovitih, ali ekološki prihvatljivijih i za ljudsko zdravlje sigurnijih alternativa. Mnoge komponente izolirane iz biljaka pokazale su toksični učinak na komarce koji su vektori mnogih bolesti (malarija, filarijaza, žuta groznica). Istraživanje koje su proveli Conti i sur. pokazalo je da eterično ulje *H. italicum* ima veliku toksičnost prema ličinkama komarca *Aedes albopictus*, koja je ovisna o dozi, te da pri koncentraciji od 300 ppm uzrokuje stopu mortaliteta od 100 % (19). Osim toga, eterično ulje *H. italicum* je pokazalo i repelentni učinak protiv komarca *Aedes aegypti*, neovisno o koncentraciji eteričnog ulja (0,1 – 10 %) pa bi se zbog toga moglo koristiti kao jedna od komponenti u repelentnim formulacijama (38). Ipak, potrebno je još istražiti koje su sastavnice odgovorne za insekticidno djelovanje kao i aktivnost eteričnog ulja *H. italicum* protiv drugih vrsta komaraca (19).

Antineoplastično djelovanje

Antineoplastična aktivnost eteričnog ulja *H. italicum* procijenjena je na stanicama mišjeg melanoma koje su dobar modelni sustav zbog izrazite metastatske sposobnosti i visokog stupnja rezistencije na lijekove. Stanice melanoma miša bile su izložene 24, 48 ili 96 sati različitim razrjeđenjima eteričnog ulja (1:10, 1:50, 1:100) u dimetilsulfoksidu (DMSO) pri čemu je praćeno djelovanje eteričnog ulja na redukciju stanične proliferacije (praćenjem krivulje proliferacije stanica) i citotoksičnost eteričnog ulja (brojanjem mrtvih stanica). Pokazano je da najmanje razrjeđenje eteričnog ulja (1:10) kao i najdulje izlaganje stanica (96 h) imaju najznačajniji učinak iz čega se može zaključiti da eterično ulje *H. italicum* ima antiproliferativna svojstva na način koji je ovisan o dozi i vremenu (1). Osim na modelu stanica mišjeg melanoma, antiproliferativno djelovanje je ispitano i na nekoliko humanih staničnih linija pri čemu je najjači inhibični učinak eterično ulje smilja imalo na stanične linije HeLa (stanice karcinoma cerviksa), MCF-7 (stanice karcinoma dojke) i MIA PaCa-2 (stanice karcinoma pankreasa). Pretpostavlja se da je kod HeLa i MCF-7 staničnih linija mehanizam antiproliferativnog djelovanja indukcija apoptoze dok su kod MIA PaCa-2 stanica uključeni drugi mehanizmi smrti stanice poput starenja i nekroze (13). Kramberger i sur. provedli su ispitivanje citotoksičnosti infuza *H. italicum* na stanične linije Caco-2 (stanice karcinoma debelog crijeva), CCD112CoN (primarne stanice debelog crijeva) i U937 (stanice limfoma). Njegovo citotoksično djelovanje temeljilo se na sposobnosti hvatanja slobodnih radikala i time inhibiciji indukcije oksidacijskog stresa. Toksične koncentracije za U937 stanice su iznosile 5 % v/v, za Caco-2 stanice su iznosile 1 % v/v, a za CCD112CoN stanice iznosile su 2 % v/v (39). Snažno antioksidacijsko djelovanje različitih ekstrakata i eteričnog ulja *H. italicum* moglo bi objasniti antineoplastična svojstva budući da je dokazano da su stanice karcinoma sklonije prekomjernom stvaranju ROS, koje kao sekundarni glasnici signaliziraju nekontroliranu proliferaciju tumorskih stanica (1). U konačnici, ovakvi rezultati mogu poslužiti kao temelj za daljnja istraživanja *H. italicum* kao izvora novih antineoplastičnih lijekova (13).

Primjena u kozmetici

Primjena vrste *H. italicum* u kozmetičkoj industriji temelji se na nekoliko učinaka:

1. Fotoprotektivno i antieritematozno djelovanje ekstrakata *H. italicum* omogućuje njihovu primjenu u kremama za zaštitu od sunca i pripravcima za liječenje opekline uzrokovanih sunčevim zračenjem. Izlaganje ultraljubičastom (UV) zračenju dovodi do povećane proizvodnje metabolita arahidonske

kiseline (prostagandina D₂, PGE₂, PGF_{2α}) koji imaju istaknutu ulogu u nastanku eritema. Do nastanka eritema dovodi i degranulacija mastocita i oslobađanje histamina. Topikalnom primjenom 8 % alkoholne otopine sirovog ekstrakta *H. italicum* i 2 % alkoholne otopine flavonoidne frakcije dobivene iz tog ekstrakta na zamorcima te primjenom flavonoidne frakcije na ljudima, prije i nakon izlaganja UVB zračenju, dokazano je da i ekstrakt i flavonoidna frakcija preveniraju nastanak eritema kod zamoraca i ljudi. Flavonoidna frakcija je također pružila zaštitni faktor 5, a sastojala se od tri monoglikozida (halkon-2'-glukozid, naringenin-glikozid, kempferol-3-glukozid) i četiri aglikona (gnafalin, apigenin, naringenin i luteolin). Pretpostavljeni mehanizam djelovanja flavonoidne frakcije uključuje inhibiciju lipidne peroksidacije, stabilizaciju membrane mastocita i inhibiciju lokalne produkcije prostaglandina u iritiranoj koži, što je uglavnom posredovano luteolinom. Najznačajniji inicijatori lipidne peroksidacije su ROS odnosno točnije, hidroksilni (OH·) i hidroperoksil (HOO·) radikali koji reagiraju s polinezasićenim masnim kiselinama prisutnim u membranama i time iniciraju proces lipidne peroksidacije. Pri tome nastaju lipidni (R•), alkoksi (RO•) i peroksil radikali (ROO•) koji su uključeni u proces propagacije i održavanja lančane reakcije koja dovodi do oštećenja stanične membrane i stanica, a time u konačnici i do oštećenja kožne barijere. Flavonoidi također stabiliziraju membrane mastocita te tako inhibiraju oslobađanje histamina iz mastocita i histaminom stimuliranu proizvodnju prostaglandina i posljedični razvoj upale (2, 40, 42, 43).

2. U određenim patološkim degenerativnim procesima na koži, ali i tijekom normalnog procesa starenja kože dolazi do depolimerizacije hijaluronske kiseline izazvane ROS te do smanjenja razine hijaluronske kiseline. Budući da je hijaluronska kiselina odgovorna za vezanje i zadržavanje vode u koži, starenjem dolazi do suhoće (dehidracije), atrofije i gubitka elastičnosti kože. Stoga, flavonoidi *H. italicum* koji svojim antioksidacijskim djelovanjem sprječavaju depolimerizaciju hijaluronske kiseline mogu pronaći primjenu u kozmetičkim proizvodima protiv starenja kože te proizvodima za njegu suhe i zrele kože (40, 44).
3. Eterično ulje *H. italicum* djeluje kao cikatrizant pa se može primjenjivati u svrhu regeneracije kože. Antioksidacijsko djelovanje eteričnog ulja potpomaže i proces zacjeljivanja rana, sprječavanjem oksidacijskog oštećenja tkiva uzrokovanog slobodnim radikalima. Taj učinak eteričnog ulja već nalazi primjenu u kozmetici (pripravci za tretiranje ožiljaka i drugih nepravilnosti

na koži), a mogao bi se koristiti i u rekonstruktivnoj kirurgiji. Itolidioni, prisutni u eteričnom ulju, djeluju kao flebotonici odnosno jačaju stijenke krvnih žila, povećavaju venski tonus i limfnu drenažu. Zbog flebotoničnog djelovanja eterično ulje se primjenjuje za ublažavanje crvenila i teleangiektazija (sitne proširene krvne žile kože i sluznica) prisutnih kod rozacee, hematoma (modrica), proširenih i upaljenih vena (11).

4. Eterično ulje smilja često se nalazi u formulacijama proizvoda za njegu kože s ciljem odgađanja procesa starenja kože. Proces starenja kože može biti intrinzičan i ekstrinzičan. Dok je intrinzično starenje posljedica prirodnih procesa, ekstrinzično je rezultat pretjerane izloženosti sunčevom zračenju (fotostarenje) koje dovodi do stvaranja slobodnih radikala i lipidnih peroksida. Oni oštećuju ekstracelularni matriks i uzrokuju gubitak elastičnosti kože, a odgovorni su i za nastanak nekih kožnih tumora. Međutim, i intrinzično i ekstrinzično starenje karakterizira povećana aktivnost enzima kolagenaze (odgovoran za razgradnju kolagena) i enzima elastaze (odgovoran za razgradnju elastina u ekstracelularnom matriksu). Stoga bi otkriće novih prirodnih inhibitora ovih enzima, koji bi također imali i protuupalno i antioksidacijsko djelovanje, bilo korisno za razvoj novih formulacija proizvoda za sprječavanje prijevremenog starenja kože. S tim ciljem Fraternali i sur. su istražili antikolagenaznu i antielastaznu aktivnost eteričnog ulja *H. italicum* te aktivnost određenih sastavnica eteričnog ulja (neril-acetat, nerol, linalol, α -pinen, limonen) u jednakim koncentracijama u kojima su prisutne i u eteričnom ulju. Eterično ulje je pokazalo najjači inhibitorski učinak, vjerojatno zbog sinergističkog djelovanja sastavnica. Od pojedinačnih sastavnica slabiji su učinak pokazali α -pinen i limonen pojedinačno i u smjesi dok neril-acetat, nerol i linalol nisu imali učinka (41).

Iako istraživanja pokazuju da *H. italicum* ima velik spektar različitih farmakoloških aktivnosti, većina tih istraživanja provedena su na *in vitro* modelima. Stoga je važno da se daljnja ispitivanja farmakološke aktivnosti različitih ekstrakata i eteričnog ulja provode u *in vivo* uvjetima s ciljem utvrđivanja njihove učinkovitosti i sigurnosti primjene (2).

Zaključak

Smilje se u tradicionalnoj medicini mediteranskih zemalja od davnina primjenjuje u liječenju različitih probavnih, dišnih, kožnih i drugih poremećaja, pa danas postoji velik interes za istraživanjem ove biljke. Dosadašnje

studije uglavnom su usmjerene na utvrđivanje kemijskog sastava i količine eteričnog ulja smilja u ovisnosti o različitim okolišnim čimbenicima te na ispitivanje biološke aktivnosti eteričnog ulja smilja i različitih ekstrakata smilja. Raznolikost kemijskih spojeva koji pojedinačno ili u sinergiji pridonose farmakološkoj aktivnosti smilja, pruža brojne mogućnosti njegove primjene u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Ipak, većina je provedenih istraživanja napravljena na *in vitro* modelima pa je potrebno dobivene rezultate bioloških ispitivanja potvrditi *in vivo* kako bi se osigurala primjena sigurnih i učinkovitih pripravaka smilja.

Sažetak

Smilje (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don) je mediteranska biljka iz porodice Asteraceae koja se od davnina primjenjuje u tradicionalnoj medicini zbog svojih ljekovitih i aromatičnih svojstava. Smilje sadrži širok spektar različitih kemijskih spojeva, a njihova prisutnost i sadržaj u biljci ovise o raznim okolišnim čimbenicima. U radu je dan pregled nekoliko studija koje su ispitale sastav i količinu eteričnog ulja smilja i njegovu biološku aktivnost, kao i biološku aktivnost različitih ekstrakata. Rezultati navedenih istraživanja potvrdili su brojna pozitivna farmakološka djelovanja eteričnog ulja i organskih ekstrakata smilja u modelima *in vitro*. Potvrda tih rezultata *in vivo* otvara mogućnost uspješne i sigurne primjene preparata smilja u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

5-6
2022

Chemical composition, biological activity and use of immortelle in medicine and pharmacy

L. Bilandžija, B. Bilandžija, L. Pollak, S. Inić

Abstract Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don) is a Mediterranean plant from the Asteraceae family that has long been used in traditional medicine due to its medicinal and aromatic properties. Immortelle contains a wide range of different chemical compounds whose presence and content in the plant depend on various environmental factors. The aim of this review is to provide an overview of several studies that examined the composition and amount of immortelle essential oil and its biological effects, as well as biological effects of different immortelle extracts. The results of these studies confirmed a number of positive pharmacological effects of essential oil

and organic immortelle extracts in *in vitro* models. Confirmation of these results *in vivo* opens the possibility of successful and safe application of immortelle preparations in the pharmaceutical and cosmetic industry.

1. Gismondi A, Di Marco G, Canini A. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil: Composition and potential antineoplastic effect. *S Afr J Bot.* 2020; 133:222–226.
2. Viegas DA, Palmeira-de-Oliveira A, Salgueiro L, Martinez-de-Oliveira J, Palmeira-de-Oliveira R. *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data. *J Ethnopharmacol.* 2014; 151:54–65.
3. Marković S. Fitoaromaterapija: monografije esencijalnih ulja i ljekovitih biljaka: temelji fitoaromaterapije. 2. izdanje. Zagreb: Centar Cedrus, 2010.
4. Rajić M, Bilić M, Aladić K, Šimunović D, Pavković T, Jokić S. Od tradicionalne uporabe do znanstvenog značaja: Cvijet smilja. *Glasnik zaštite bilja.* 2015; 38(6):16–26.
5. Perrini R, Morone-Fortunato I, Lorusso E, Avato P. Glands, essential oils and *in vitro* establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman. *Ind Crop Prod.* 2009; 29:395–403.
6. Rodrigues AM, Silva L, Falé PLV, Serralheiro ML, Ascensão L. Glandular Trichomes and Biological Activities in *Helichrysum italicum* and *H. stoechas*, Two Asteraceae Species Growing Wild in Portugal. *Microsc. Microanal.* 2015; 21(5):91–92.
7. Pohajda I, Dragun G, Puharić Visković L. Smilje. Zagreb: Savjetodavna služba, 2015.
8. Galbany-Casals M, Saez L, Benedi C. A taxonomic revision of *Helichrysum* sect. *Stoechadina* (Asteraceae, Gnaphalieae). *Can J Bot.* 2006; 84:1203–1232.
9. Gelenčir Jo, Gelenčir Ja. Atlas ljekovitog bilja. Zagreb: Prosvjeta, 1991.
10. Maksimovic S, Tadic V, Skala D, Zizovic I. Separation of phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An analysis of different isolation techniques and biological activity of prepared extracts. *Phytochemistry.* 2017; 138:9–28.
11. Guinoiseau E, Lorenzi V, Luciani A, Muselli A, Costa J, Casanova J, Berti L. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Badajoz: Formatex Research Center, 2013.
12. Melito S, Petretto GL, Podani J, Foddai M, Maldini M, Chessa M, Pintore G. Altitude and climate influence *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* essential oils composition. *Ind Crop Prod.* 2016; 80:242–250.
13. Malenica Staver M, Gobin I, Ratkaj I, Petrovic M, Vulinovic A, Dinarina-Sablic M, Broznic D. *In vitro* Antiproliferative and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the Flowers and Leaves of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Growing in Central Dalmatia (Croatia). *J Essent Oil-Bear Plants.* 2018; 21(1):77–91.
14. Čavar Zeljković S, Šolić ME, Maksimović M. Volatiles of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don from Croatia. *Nat Prod Res.* 2015; 29(19):1874–1877.

15. Mastelic J, Politeo O, Jerkovic I, Radosevic N. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. *Chem Nat Compd.* 2005; 41(1):35–40.
16. Blažeković N, Petričić J, Stanić G, Maleš Ž. Variations in yields and composition of immortelle (*Helichrysum italicum*, Roth Guss.) essential oil from different locations and vegetation periods along Adriatic coast. *Acta Pharm.* 1995; 45:517–522.
17. Leonardi M, Ambryszewska KE, Melai B, Flamini G, Cioni PL, Parri F, Pistelli L. Essential-Oil Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from Elba Island (Tuscany, Italy). *Chem Biodivers.* 2013; 10:343–345.
18. Mancini E, De Martino L, Marandino A, Scognamiglio MR, De Feo V. Chemical Composition and Possible *in Vitro* Phytotoxic Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum*. *Molecules.* 2011; 16:7725–7735.
19. Conti B, Canale A, Bertoli A, Gozzini F, Pistelli L. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* 2010; 107:1455–1461.
20. Paolini J, Desjobert JM, Costa J, Bernardini AF, Buti Castellini C, Cioni PL, Flamini G, Morelli I. Composition of essential oils of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil subsp. *italicum* from Tuscan archipelago islands. *Flavour Fragr. J.* 2006; 21:805–808.
21. Bianchini A, Tomi P, Bernardini AF, Morelli I, Flamini G, Cioni PL, Usai M, Marchetti M. A comparative study of volatile constituents of two *Helichrysum italicum* (Roth) Guss. Don Fil subspecies growing in Corsica (France), Tuscany and Sardinia (Italy). *Flavour Fragr. J.* 2003; 18:487–491.
22. Chinou IB, Roussis V, Perdetzoglou D, Loukis A. Chemical and Biological Studies on Two *Helichrysum* Species of Greek Origin. *Planta Med.* 1996; 62:377–379.
23. Ninčević T, Grdiša M, Šatović Z, Jug-Dujaković M. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, biological activity, biochemical and genetic diversity. *Ind Crop Prod.* 2019; 138:111487.
24. Bauer J, Koeberle A, Dehm F, Pollastro F, Appendino G, Northoff H, Rossi A, Sautebin L, Werz O. Arzanol, a prenylated heterodimeric phloroglucinyl pyrone, inhibits eicosanoid biosynthesis and exhibits anti-inflammatory efficacy *in vivo*. *Biochem Pharmacol.* 2011; 81:259–268.
25. Sala A, Recio MC, Giner RM, Manez S, Tournier H, Schinella G, Rios JL. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Helichrysum italicum*. *J Pharm Pharmacol.* 2002; 54, 365–371.
26. Sala A, Recio MC, Schinella GR, Manez S, Giner RM, Rios JL. A new dual inhibitor of arachidonate metabolism isolated from *Helichrysum italicum*. *Eur J Pharmacol.* 2003; 460:219–226.
27. Sala A, Recio MC, Schinella GR, Manez S, Giner RM, Cerda-Nicolas M, Rios JL. Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. *Eur J Pharmacol.* 2003; 461:53–61.

28. Appendino G, Ottino M, Marquez N, Bianchi F, Giana A, Ballero M, Sterner O, Fiebich BL, Munoz E. Arzanol, an Anti-inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol r-Pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *microphyllum*. *J Nat Prod*. 2007; 70:608–612.
29. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich de Buschiazzo P, Ríos JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci*. 2002; 70:1023–1033.
30. Rosa A, Deiana M, Atzeri A, Corona G, Incani A, Melis MP, Appendino G, Dessi MA. Evaluation of the antioxidant and cytotoxic activity of arzanol, a prenylated α -pyrone–phloroglucinol etherodimer from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*. *Chem-Biol Interact*. 2007; 165:117–126.
31. Rosa A, Pollastro F, Atzeri A, Appendino G, Melis MP, Deiana M, Incani A, Loru D, Dessi MA. Protective role of arzanol against lipid peroxidation in biological systems. *Chem Phys Lipids*. 2011; 164:24–32.
32. Schinella GR, Tournier HA, Máñez S, Buschiazzo PM, Recio MC, Ríos JL. Tiliroside and gnapthaliin inhibit human low density lipoprotein oxidation. *Fitoterapia*. 2007; 78: 1–6.
33. Lorenzi V, Muselli A, Bernardini AF, Berti L, Pages JM, Amaral L, Bolla JM. Geraniol Restores Antibiotic Activities against Multidrug-Resistant Isolates from Gram-Negative Species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53(5):2209–2211.
34. Bouzid D, Nouioua W, Soltani E, De Haro JP, Angeles Esteban M, Zerroug MM. Chemical constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil and their antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*. *Saudi Pharm J*. 2017; 25:780–787.
35. Nostro A, Germano MP, D'Angelo V, Marino A, Cannatelli MA. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lett Appl Microbiol*. 2000; 30:379–384.
36. Garza AL, Etxeberria U, Haslberger A, Aumueller E, Martinez JA, Milagro FI. *Helichrysum* and Grapefruit Extracts Boost Weight Loss in Overweight Rats Reducing Inflammation. *J Med Food*. 2015; 18(8):890–898.
37. Garza AL, Etxeberria U, Palacios-Ortega S, Haslberger AG, Aumueller E, Milagro FI, Martinez JA. Modulation of hyperglycemia and TNFa-mediated inflammation by *Helichrysum* and grapefruit extracts in diabetic db/db mice. *Food Funct*. 2014; 5:2120–2128.
38. Drapeau J, Fröhler C, Touraud D, Kröckel U, Geier M, Rose A, Kunz W. Repellent studies with *Aedes aegypti* mosquitoes and human olfactory tests on 19 essential oils from Corsica, France. *Flavour Fragr J*. 2009; 24:160–169.
39. Kramberger K, Jenko Pražnikar Z, Baruca Arbeiter A, Petelin A, Bandelj D, Kenig S. A Comparative Study of the Antioxidative Effects of *Helichrysum italicum* and *Helichrysum arenarium* Infusions. *Antioxidants*. 2021; 10(3):380.
40. Maffei Facino R, Carini M, Franzoi L, Pirola O, Bosisio E. Phytochemical characterization and radical scavenger activity of flavonoids from *Helichrysum italicum* G. Don (Compositae). *Pharmacol Res*. 1990; 22(6):709–721.

41. Fraternali D, Flamini G, Ascricchi R. *In Vitro* Anticollagenase and Antielastase Activities of Essential Oil of *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don. *J Med Food*. 2019; 22(10):1041–1046.
42. Hruza LL, Pentland AP. Mechanisms of UV-Induced Inflammation. *J Investig Dermatol*. 1993; 100(1):35–41.
43. Wölfle U, Esser PR, Simon-Haarhaus B, Martin SF, Lademann J, Schempp CM. UVB-induced DNA damage, generation of reactive oxygen species, and inflammation are effectively attenuated by the flavonoid luteolin *in vitro* and *in vivo*. *Free Radic. Biol. Med*. 2011; 50:1081–1093.
44. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol*. 2012; 4(3):253–258.

Primljeno 2. studenoga 2021.