Jasna Nikolić i Dragomir Milovanović

Razlike u morfološkoj građi i količini hipericina među tri vrste roda *Hypericum* (Guttiferae)

Istraživanje je vršeno u periodu od 10. do 22.07.2005. Biljke su prikupljene u okolini Istraživačke stanice Petnica. Prikupljeno je po trideset uzoraka svake vrste. Cilj istraživanja bio je da se utvrde razlike među vrstama roda Hypericum. Poređenja su vršena na osnovu morfologije i količine hipericina. Rezultati merenja dužine kruničnih i čašičnih listića ukazuju na značajnu razliku između ove tri vrste, vezano za debljinu stabala, značajna razlika ne postoji, kao i kod broja cvetova na jednoj cvetnoj grani. Poređenjem količine hipericina u ovim vrstama ukazuju da vrste Hypericum perforatum (Lindl) i Hypericum hyssopifolium(Lindl) imaju tri puta veću koncentraciju od biljaka iz vrste Hypericum hirsutum (Lindl).

Uvod

Vrste roda *Hypericum* imaju široku amplitudu zastupljenosti u našoj zemlji (Josifović 1982). Pripadnici ovog roda poznati su po svojim lekovitim svojstvima pa se koriste kako u farmakologiji tako i u narodnoj medicini. Koristi se u obliku čaja za lečenje grčeva u želucu, sluzavosti pluca, bubreznih bolesti, jetre, žuči, slezine, mokraćne bešike, hroničnog kašlja, astme, protiv povišene kiseline u želucu, gastritisa, neredovne i obilne menstruacije, belog pranja, hemoroida i dr. Spolja protiv opekotina, za zarašćivanje rana (kantarionovo ulje) (Berger 2002).

U ovom radu tri vrste roda *Hypericum* (Guttiferae), koje su prikupljene u okolini IS Petnica, su proučavane sa stanovišta morfologije i količine hipericina koja je izolovana iz droge.

U aktivne sastojke droge spadaju naftanoidi u koje se ubrajaju hipericin, pseudohipericin i dr. Hipericin je fluorescirajući crveni pigment iz grupe diantrona, specifičan za rod, od koga potiču crne tačkice i crtice po biljnim organima. Hipericin i pseudohipericin su lokalizovani u žlezdama cvetova, listova i stabljika. Od svih organa biljke Cvetovi sadrže najviše hipericina, zatim listovi, dok stablo skoro da ne sadrži ovaj sastojak. Podzemni organi ga uopšte nemaju. Sadržaj hipericina se menja u toku vegetacije – najviše ga ima neposredno pre cvetanja kada je biljka u pupoljcima. Biljka sadrži značajnu količinu tanina (oko 10%) pa se zbog toga ubraja u važnije taninske droge. Etarsko ulje takođe predstavlja lekoviti sastojak biljke; droga sadrži od oko 0.05 do 0.35% etarskog ulja. Droga je svojstvenog mirisa, oporog, nagorkog i aromatičnog ukusa. (Bombardelli et al. 1995; Chatterjee et al. 1998).

U ovom radu istraživani su pojedini morfometrijski karakteri (dužina čašičnih i kruničnih listića, broj cvetova na cvetnoj grani, debljina stabla) i količina hipericina kod tri vrste roda *Hypericum* (Hypericaceae). Cilj istraživanja bio je da se utvrdi postojanje razlika između vrsta roda *Hypericum* (Hyperaceae) na osnovu morfologije i količine izolovanog hipericina.

Materijal i metode

Istraživanje je vršeno u periodu od 10. do 22. 07. 2005. Biljke su prikupljene u okolini Istraživačke stanice Petnica. Najpre je biljni materijal determinisan, pri čemu se došlo do zaključka da se radi o tri vrste roda Hypericum: *Hypericum perforatum* (Lindl), *Hipericum hirsutum* (Lindl), i *Hypericum hysspifolium* (Lindl). (Josifović 1982) Prikupljeno je po trideset uzoraka svake vrste.

Jasna Nikolić (1987), Niš, Jovana Ristića 23/20, učenica 3. razreda gimnazije "Bora Stanković", Niš

Dragomir Milovanović (1988), Beograd, Zagorska 24, učenik 2. X gimnazije "Mihajlo Pupin" na Novom Beogradu

MENTOR:

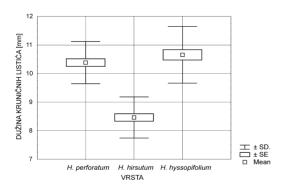
Vlada Jovanović, student Biološkog fakulteta Univerziteta u Begradu Merenja su urađena binokularnom lupom model MBS-9, a zatim je biljni materijal prenesen u sušnicu gde je sušenje vršeno na 80°C tokom 30 minuta. 0.8 g sprašene droge je preneto u 60 ml 80% acetona; sadržaj je uparen do suva u vakuum uparivaču. (M. Rokić, usmena informacija). Posle vakuum uparavanja, uzorak je rastvoren u 5 mL metanola, a zatim je 1 mL sadržaja rastvoren u 9 ml metanola. Koncentracija je određivana spektrofotometrijskom metodom, absorpcija je merena na 590 nm. Na osnovu izmerene apsorbance izračunat je procentualni sadržaj S naftodiantrona izraženog kao hipericin prema jednačini:

$$S = \frac{125 \cdot A}{m \cdot E} [g/cm^3]$$

gde je A je apsorbanca na 590 nm, E specifični apsorpcioni koeficijent koji za hipericin iznosi 870, a m je masa ispitivane supstance u gramima. (Kovačević 2000)

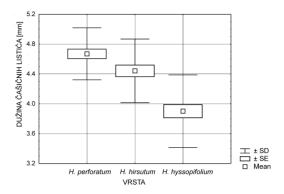
Rezultati i diskusija

Podaci su obrađeni u programu Statistica 5.0 (publiched by Stat Soft), primenom analize varijanse i t-testa za nezavisne uzorke. Rezultati merenja dužine kruničnih i čašičnih listića ukazuju na značajnu razliku između ove tri vrste, što se kasnije dovodi u vezu sa količinom hipericina koja je nađena u ovim



Slika 1. Srednje vrednosti dužine krunčnih listića uzoraka biljaka Hypericum perforatum, Hypericum hirsutum i Hypericum hyssopifolium

Figure 1. Average values of petals for *Hypericum perforatum*, *Hypericum hirsutum* and *Hypericum hyssopifolium* species



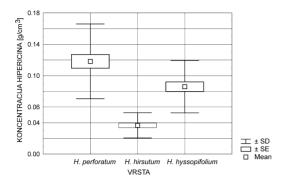
Slika 2. Dužine čašičnih listića uzoraka biljaka *Hypericum* perforatum, *Hypericum* hirsutum i *Hypericum* hyssopifolium

Figure 2.

Average values of sepals for *Hypericum perforatum*, *Hypericum hirsutum* and *Hypericum hyssopifolium*species

biljkama. Po srednjoj dužini kruničnih listića *H. Perforatum* i *H. hyssopifolium* se statistički značajno razlikuju od vrste *H. hirsutum* (p < 0.001), dok se međusobno ne razlikuju (slika 1). Što se tiče srednje dužine kruničnih listića, sve tri vrste se međusobno statistički značajno razlikuju (p < 0.01), pri čemu su čašični listići najduži kod vrste *H. Perforatum*, a najmanji kod vrste *H. hyssopifolium*. *U debljini stabla i broju cvetova na jednoj cvetnoj grani ne postoji statistički značajna razlika između ove tri vrste*.

Hipericin je izolovan iz sve tri vrste, pri čemu je najveća koncentracija dobijena za H. perforatum $(0.12 \pm 0.01 \text{ g/cm}^3)$, potom za *H. hyssopifolium* $(0.09 \pm 0.007 \text{ g/cm}^3)$. Najmanja koncentracija izolovana je iz vrste H. hirsutum (0.037 ± 0.003) g/cm³). Sve tri vrste se međusobno značajno razlikuju po koncentraciji hipericina u dobijenim ekstraktima na nivou značajnosti koji ne prelazi 0.005 (slika 3). Poređenja na osnovu statistički obrađenih podataka dobijenih vrednosti za koncentraciju hipericina ukazuju da vrste Hypericum perforatum i Hypericum hyssopifolium imaju dva do tri puta veću koncentraciju od biljaka iz vrste Hypericum hirsutum. Poređenjem grafikona na slikama 1 i 3, uočava se da vrste H. perforatum i H. hysspifolium, koje imaju veću koncentraciju hipericina imaju i veću dužinu kruničnih listića.



Slika 3. Količina hipericina ekstrahovanog iz vrsta Hypericum perforatum, Hypericum hirsutum i Hypericum hyssopifolium

Figure 3. Hypericin concentrations extracted from *H. perforatum*, *H. hirsutum* and *H. hyssopifolium* species

Inače, sa morfološke tačke gledišta postoje razlike između ove tri vrste u pogledu dužine kruničnih i čašičnih listića, debljine stabla i broja cvetova na jednoj cvetnoj grani. Međutim, statistički bitna razlika se uočava kod dužine kruničnih listića koji su kod pripadnika vrste *H. hirsutum* značajno manji od listića kod vrsta *H. hyssopifolium* i *H. perforatu*. Ako uzmemo u obzir i podatak da su sekretorni kanali A i B tipa koji su bogati hipericinom lokalizovani u listovima i perijantu biljke (Ciccarelli *et al.* 2001), može se donekle objasniti pojava da je upravo kod ovih vrsta gde je veličina ovih delova izraženijaa, veća i količina hipericina.

Zaključak

Vrste Hypericum perforatum i Hypericum hyssopifolium su daleko bogatije hipericinom nego vrsta Hypericum hirsutum i to je posledica statistički bitne razlike koja se uočava kod dužine čašičnih i kruničnih listova koji zapravo i jesu delovi biljke u kojima je hipericin najskoncentrisaniji.

Da bi se utvrdio potencijalni uticaj intenziteta svetlosti na ispitivane faktore, naročito na količinu hipericina, neophodno je još jednom ponoviti ispitivanje na istim vrstama vodeći računa o intenzitetu svetlosti na staništu i svetlosnom užitku biljaka.

Zahvalnost. Koristimo ovu priliku da se zahvalimo mentoru Vladi Jovanoviću, studentu Biološkog fakulteta u Beogradu, kao i Milošu Rokiću, studentu

Hemijskog fakulteta u Beogradu, na stručnim savetima i pomoći prilikom pronalaženja najboljeg načina za izolovanje hipericina.

Literatura

Berger-Butterk. 2002. Ontogenic variation regarding hypericin and hyperforin levels in four accessions of *Hypericum perforatum* L. Herbs Spices. *Med. Plants*, **9**: 95.

Bombardelli E., Morazzoni P. 1995. Hypericum perforatum. *Fitoterapia*, **66**: 43.

Ciccarelli D., Cesare A., Pagni A. 2001. Translucent Glands and Secretory Canals in *Hypericum perforatum*. *Anals of Botany*, **88**: 637.

Chatterjee S., Bhattacharya S. K., Wonnemann M., Singer A., Muller W. E. 1998. Hyperforin as a Possible Antidepressant Component of *Hypericum* Extracts. *Life Sci.*, **63**: 499.

Josifović M. 1982. Flora Srbije-III tom. Beograd: SANU

Kovačević N. 2000. Osnovi farmakognozije, Beograd: Farmaceutski fakultet

Jasna Nikolić and Dragomir Milovanović

Differences in Morphological Characteristics and Hypericin Content Between Three *Hypericum* Species

Research is done in period from 10th to 22th July 2005. Plants are collected in the area of Petnica Science Center. 30 samples were collected of each kind. The goal of research was to establish distinction between Hypericum kind. Comparison was done on basis of morphology and quantity of hipericin. Measurment results of lenght of leaves show important distinction between these three kinds, concerning thikness of stem, there is no significant difference, as well as in number of flowers on one blooming stem. Comparing quantity hipericin in these kind shows that *Hypericum perforatum* (Lindl) and *Hypericum hyssopifolium* (Lindl) have three times higher concentration then the ones from *Hypericum hirsutum* (Lindl) plants.