

ISSN 1512-8245



**AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE**

RADOVI

KNJIGA XCI

Odjeljenje medicinskih nauka

Knjiga 30

Centar za medicinska istraživanja

Knjiga 1

Redakcioni odbor

Jela Grujić-Vasić, Faruk Konjhodžić, Slobodan Loga

Urednik

Džemal Rezaković

**redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine**

SARAJEVO 2002

FARMAKOGNOŠKO ISPITIVANJE VRSTA⁰⁾
Ruta graveolens L. I *Ruta divaricata* Ten. (*Rutaceae*)

Jela Grujić-Vasić¹⁾, Sulejman Redžić²⁾,
Darko Jakšić³⁾ i Azijada Ibrulj³⁾

Sažetak. Vrsta *Ruta graveolens* je biljka koja raste u Južnoj Evropi, dobro je proučena; sadrži etersko ulje, rutin, kvercetin, šećere, alkalioide. Visok nivo fitohemijske istraženosti uvjetovao je i široki spektar primjene ove vrste u savremenoj fitoterapiji. Nasuprot tome, vrsta *Ruta divaricata* je vrlo slabo proučena.

U ovom radu ispitane su navedene vrste ruta na sadržaj tanina kao i na prisustvo i osobine sluzi. Također su vršena i mikroskopska istraživanja građe vegetativnih organa. Sadržaj tanina određen je spektrofotometrijskom metodom i kod vrste *R. graveolens* ima vrijednost 1,33 %, a kod vrste *R. divaricata* 1,28 %. Prisustvo tanina ispitano je hromatografijom na tankom sloju. Pri ispitivanju sluzi određen je broj i faktor bubrenja.

Upotrebljena metoda hromatografije na tankom sloju uz uslove koje smo koristili može uspješno poslužiti za identifikaciju ispitivanog biljnog materijala. Vrijednosti za broj i faktor bubrenja za obadvije ispitivane vrste imaju vrlo slične vrijednosti. Komparativnom analizom mikroskopske građe vegetativnih organa kod vrsta *R. graveolens* i *R. divaricata* nisu uočene signifikantne razlike na ovom nivou istraživanja.

Ključne riječi: *Ruta graveolens* L, *Ruta divaricata* Ten., tanini, sluzi, hromatografija na tankom sloju (TLC), mikroskopija.

Uvod

U modernoj farmaciji biljne sirovine imaju sve veći značaj. Imajući tu činjenicu u vidu, u ovom radu vršena su farmakognoška istraživanja biljnih vrsta *Ruta graveolens* L. i *Ruta divericata* Ten..

Rod *Ruta* L. (*Rutaceae*) predstavljen je sa preko 50 vrsta, uglavnom rasprostranjenih u sjevernoj hemisferi (1). U flori BiH zastupljena je sa dvije vrste: *R. graveolens* L. i *R. divaricata* Ten. (2). Prema Flora Europea (3),

⁰⁾ Ovaj rad je dijelom finansiran iz sredstava projekta "Fitofarmaka za 21. stoljeće - teorijski i praktični aspekt", ugovor broj 04-39-6171/51/01.

¹⁾ Centar za medicinska istraživanja Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

²⁾ Prirodno matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu

³⁾ Zavod za kontrolu lijekova Federacije Bosne i Hercegovine

vrsta *R. divaricata* je podvedena pod nešto šire rasprostranjenu vrstu *R. graveolens*. Ime *Ruta* potiče od grčke riječi *rhyesfhai* = spriječiti, jer se biljka od davnina smatra ljekovitom.

Obje vrste su rasprostranjene na Balkanskom poluotoku i Krimu i još ponegdje u Mediteranskom području. Često su kultivisane u vrtovima južne i centralne Evrope.

Ruta graveolens je višegodišnja zeljasta biljka sa drvenastim korjenom, visine 20-50 cm (90cm). Listovi su režnjevito neparno perasto dijeljeni, tamnozeleno boje, uglavnom goli, sa jasnim centralnim nervom samo sa ventralne strane. Kod nekih oblika listovi su više-manje mesnati, plavozelene boje, presvučeni tankim slojem kutikule. Cvjetovi su skupljeni u korimb-cvasti. Biljka ima optimum u submediteranskim kamenjarama reda *Scorzonero-Chrysopogonetalia*, te na degradiranim staništima termofilnih niskih šuma i šikara reda *Ostyo-Carpinetalia orientalis*.

Dobro je istražena kao ljekovita biljka koja se pominje u mnogim farmakopejama (4,5,6) i od davnina je smatraju ljekovitom. Dobro je poznata i u Bosni i Hercegovini. Nasuprot tome, *Ruta divaricata* je endemična vrsta i malo proučavana. To je višegodišnja zeljasta biljka sa odrvenjelim stablom, do 60cm. Po svojoj morfologiji dosta slična prethodnoj vrsti.

U ovome je radu ispitivan nadzemni dio navedenih biljaka. Vršena su i mikroskopska ispitivanja preparata obje vrste. U cilju boljih upoznavanja razlika između ove dvije vrste, a u nastavku ranijih istraživanja vršeno je ispitivanje vrste i sadržaj tanina kao i prisustvo sluzi i njihovih osobina. Kod obje biljke ispitivana je i njihova antimikrobna efikasnost.

U radu su korištene metode koje se primjenjuju u savremenoj farmaceutskoj nauci. Osnovni cilj rada je da se izvrši komparativna analiza dominantnih aktivnih principa i mikroskopije ove dvije vrste uz upotrebu odgovarajućih instrumentalnih tehnika i da se da prilog boljem poznavanju ovih biljnih materijala.

Materijali i metode

Karakteristike biljnog materijala

Materijal za mikroskopsku analizu vegetativnih organa vrsta roda *Ruta* skupljen je u submediteranskom pojasu, nizvodno od D. Jablanice, na nadmorskoj visini oko 300 m, zapadnoj ekspoziciji, nagibu terena do 25 stepeni, krečnjačkoj geološkoj podlozi i plitki i rendzinama, u zajednici kamenjara (za *R. divaricata*) a za vrstu *R. graveolens* u privatnom vrtu u Sarajevu u kojem se ova kultura gaji u posljednjih 30 godina. Od svake vrste uzeti su uzorci od 5-10 individua, fiksirani u standardnim fiksativima. Preparati su posmatrani na svjetlosnom mikroskopu, marke Reichardt.

Materijal za fitohemijska istraživanja od vrste *R. divaricata* sakupljen je na padinama planine Biokovo, na nadmorskoj visini od oko 250 m, južnoj ekspoziciji terena, krečnjačkoj geološkoj podlozi i plitkim zemljištima tipa rendzine. Materijal vrste *R. graveolens* potiče sa istog lokaliteta kao i za mikroskopska istraživanja. Za fitohemijska ispitivanja korišten je nadzemni dio biljke, osušen u tankom sloju na sobnoj temperaturi i pulveriziran neposredno prije ispitivanja.

Fitohemijska ispitivanja

Ispitivanje sadržaja tanina. Istraživanja sadržaja tanina izvršena su prema Ph. Jug. III. Mjerenja su bila više puta ponavljana a dobiveni rezultati su bili dobro reproducirajući. Sadržaj tanina za obje ispitivane vrste imao je bliske vrijednosti (tab. 1). Identifikacija tanina vršena je metodom hromatografije na tankom sloju po Stahl-u. Uslovi za razvijanje hromatograma: hromatografske ploče (stacionarna faza) F-254 Merck, a za pojačanje fluorescence kao reagens za prskanje hromatograma služio je 10%-tni rastvor AlCb u 90 % etanolu. Kao mobilna faza korištena je smjesa etil acetat - aceton-N-butanol-amonijak (10%), u omjeru 37,5 : 30 : 22,5 : 7,5. Čistoća korištenih rastvarača u navedenoj smjesi bila je p.a. Merck. Detekcija: UV 254 nm ("Desagua"). Kao standardni rastvor služila je Ac. tanicum ("Kemika") 10 mg/1. Mrlje tanina imale su Rf vrijednost 0,90.

Ispitivanje sluzi. Identifikacija sluzi vršena je histohemijskim reakcijama (Ph. Jug III), a određen je i broj bubrenja (Ph Jug III) i faktor bubrenja (7). Rezultati su dati u tabeli 1.

Ispitivanje antimikrobne djelatnosti. U radu je ispitivana i antimikrobna efikasnost navedenih uzoraka metodom difuzije na agaru. Ispitivano je njihovo antimikrobno djelovanje na gram-pozitivne i gram-negativne bakterije (*Streptococcus* i *Meningococcus*). Rezultati ovih ispitivanja ukazuju na antimikrobnu efikasnost ovih biljnih materijala.

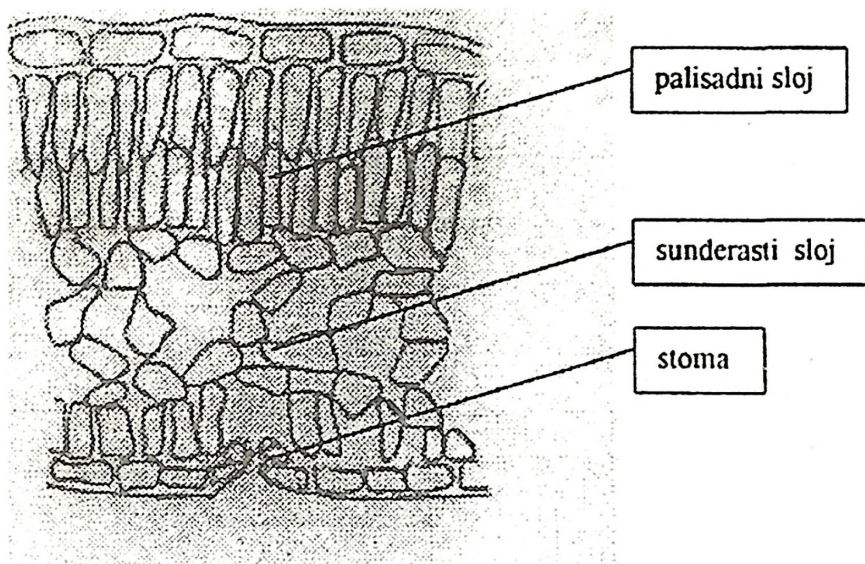
Rezultati i diskusija

Mikroskopija istraživanih vrsta

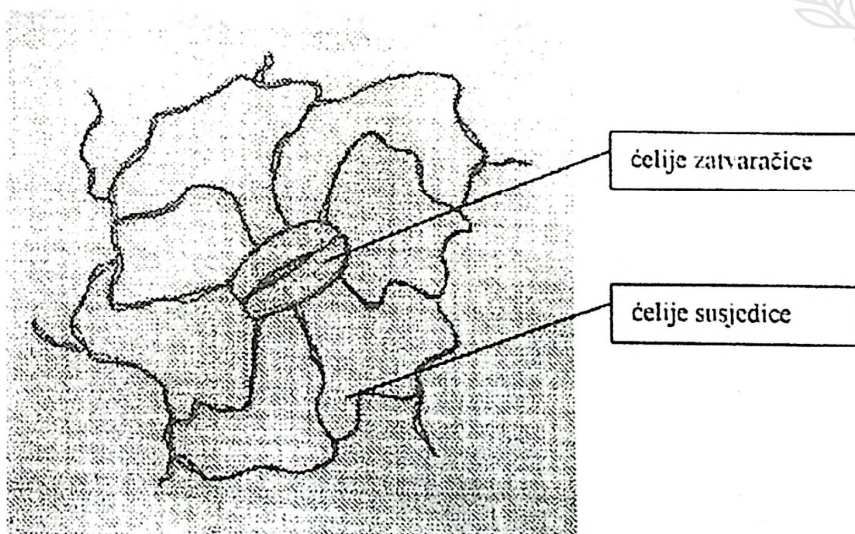
Kod vrste *R. graveolens* stablo je sa primarnom građom, u donjim dijelovima prelazi u sekundarnu građu. Na poprečnom presjeku stabla jasno se vidi formiran kambijalni prsten koji prema vani produkuje elemente sekundarnog floema sa pravilnim parenhimskim stanicama, iznad kojih je sloj primarne kore. Veoma je jasan sloj skrobne sare.

Na samoj periferiji kod mladih izdanaka se nalazi epiderma, koja često alternira sa peridermom na starijim dijelovima stabla.

Prema unutra kambijalni prsten produkuje elemente sekundarnog ksilema, a u središtu se nalazi centralna šupljina.



Slika 1. Poprečni presjek lista vrste *Ruta graveolens*



Slika 2. Plošni presjek lista vrste *Ruta graveolens*

Na poprečnom presjeku lista mezofil se jasno diferencira na palisadni dvoredni sloj i sunđerasti dio prema naličju lista (Sl. 1). Stome su uglavnom postavljene na naličju, po obliku ćelija zatvaračica i susjedica pripada Helleborus tipu (Sl. 2)

Kod vrste *R. divaricata* stablo je u pravilu sa primarnom građom, koje kod starijih stabljika poprima sekundarnu građu. Na poprečnom presjeku jasno se diferencira ambijum koji prema vani producira sekundarnu koru, koja se dalje nadovezuje na primarnu koru. Prema centralnom dijelu kambij produkuje sekundarni ksilem, a u centru je centralna supljina. Listovi su neparno perasto razdjeljeni, liske duguljasto linearne, žuckastozeleni, često sa slabim mirisom. Međutim, postoje i oblici sa intenzivnim prilično opijajućim mirisom. Na poprečnom presjeku mezofil se diferencira na palisadno i sunđerasto tkivo. Palisadne ćelije su zbijene, poredane u dva niza, a ćelije transpiracijskog tkiva su izodijametričnog oblika. Stome su uglavnom na ventralnoj strani, koje odgovaraju Helleborus tipu građe.

Komparativnom analizom mikroskopske građe vegetativnih organa kod *R. graveolens* i *R. divaricata* nisu uočene signifikantne razlike na ovom nivou spoznaje. Postoje razlike u debljini kutikule, broju stoma, te organizaciji mezofila lista. U pravilu kod termofilnije vrste '*R. divaricata*', listovi su sa izraženijom kutikulom, naglašenijom vanjskom stijenkom epidermskih stanica, te nešto zbijenijim palisadnim ćelijama.

Fitohemijska istraživanja

Dobiveni rezultati fitohemijskih istraživanja ukazuju da *Ruta graveolens* i *Ruta divaricata* sadrže tanine a njihov sadržaj ne pokazuje znatne razlike kod ispitivanih uzoraka (tab.1). Prisustvo tanina u nadzemnim dijelovima ovih biljnih materijala moglo se odrediti metodom hromatografije na tankom sloju po Stahl-u, koristeći uslove koji su dati u eksperimentalnom dijelu. Navedeni biljni materijali sadrže sluzi koje imaju približno istu vrijednost za broj bubrenja i faktor bubrenja.

Tabela 1. Vrijednosti za sadržaj tanina, broj i faktor bubrenja

Uzorci	Broj bubrenja	Faktor bubrenja	Sadržaj tanina (%)
<i>Ruta graveolens</i>	4,75	2,375	1,33
<i>Ruta divaricata</i>	4,60	2,30	1,28

Preliminarna ispitivanja efikasnosti djelovanja na gram pozitivne i gram negativne bakterije (*Streptococcus* i *Meningococcus*) pokazuju da ovi biljni materijali imaju izražena antimikrobna djelovanja na navedene bakterije.

Ispitivanja vršena u ovom radu potvrđuju izraženu sličnost, u više aspekata, *R. graveolens* i endemične vrste *R. divaricata*.

Zaključci

Komparativnom analizom mikroskopske građe vegetativnih organa *Ruta graveoleus* L. i *Ruta divaricata* Ten na ovom nivou spoznaje nisu uočene signifikantne razlike.

U radu provedena fitohemijska istraživanja evidentno pokazuju da ispitivani uzorci *Ruta graveoleus* L. i *Ruta divaricata* Ten imaju vrlo bliske vrijednosti za sadržaj tanina, broj i faktor bubrenja.

Hromatogrami na tankom sloju, dobiveni u uslovima predstavljeni u ovom radu, mogli su korisno poslužiti za određivanje prisustva tanina u ispitivanim *Ruta* vrstama.

Preliminarna ispitivanja efikasnosti djelovanja na gram pozitivne i gram negativne bakterije (*Streptococcus* i *Meningococcus*) pokazuju da ispitivani biljni materijali imaju izražena antimikrobna djelovanja na navedene bakterije.

SUMMARY

This paper presents results of investigation of kind and quantity of tannins and characteristics of mucilage in *Ruta graveolens* and *Ruta divaricata*. First grows naturally in South Europe. It has been well investigated and is often mentioned in pharmaceutical literature. Includes etherical oils, rutin, quercetin and sugars. *Ruta divaricata* Ten. isn't so well investigated. It grows in Mediterranean region. It is characterized with very distinctive smell. Also, micro-morphological features of vegetative organs were observed. Dried plant material, pulverized before, was used in this investigation.

Presence of tannins was detected by thin layer-chromatography (TLC). Quantity of tannins was measured with spectrophotometric method. Content of tannins was 1,33 % for *Ruta graveolens* and 1,28 % for *Ruta divaricata*. Also, determination of swelling number and swelling factor was done. Comparative analysis of microscopic features of vegetative organs of *Ruta graveolens* L. and *Ruta divaricata* Ten. shows no-significant differences on this level.

Key words: *Ruta graveolens* L., *Ruta divaricata* Ten., tanins, mucilage, thin-layer chromatography (TLC), microscopy.

LITERATURA

1. Diklić N.: *Familija Rutaceae. In Flora SR Srbije*, Josifovic M. Beograd.1973: Vol. V, 62-66.
2. Domac R.: *Ruta L. In Mala flora Hrvatske i susjednih područja*, Školska Knjiga Zagreb. 1973:174.

3. Townsend C.C.: *Ruta*. In *Flora Europaea*, Tutin T.G. et al. University Press, Cambridge 1968: Vol. II, 227-228.
4. *British herbal Pharmacopeia*, 1983:183-184.
5. Penso G.: *Index Plantarum Medicinalium Totius Mundi Eorumque Synonymorum*, O.E.M.F. Milano. 838.
6. *Savez farmaceutskih društava Jugoslavije*, Priručnik o lekovitim biljkama za farmaceute i lekare. Beograd. 1989: 161-162.
7. Jakšić D., Grujić-Vasić J., Ibrulj A., Redžić S.: *Comparative Research of Tannins and Mucilage of Ruta graveolens and Ruta divaricata*, Abstracts- International Congress and 48th Meeting of the Society for Medicinal Plant Research. Zurich. 2000: P4A/11.

