

## Studium flavonoidů v československých druzích rodu *Hypericum*

### Flavonoide in tschechoslowakischen *Hypericum*-Arten

Irena L e i f e r t o v á

Katedra botaniky přírodovědecké fakulty University Karlovy, Benátská 2, Praha 2

Došlo 25. ledna 1966

**A b s t r a k t** — Gegenstand der vorliegenden Arbeit bildet das Studium der Flavonoide folgender tschechoslowakischer *Hypericum*-Arten: *Hypericum hirsutum* L., *H. humifusum* L., *H. maculatum* Cr., *H. montanum* L., *H. perforatum* L., *H. tetrapterum* Fr. Es konnte nachgewiesen werden, dass diese Arten Flavone der Quercetin-Reihe enthalten, und zwar Hyperin, Quercitrin, Rutin und Quercetin. Nach dem Gehalt der obgenannten Stoffe lassen die untersuchten *Hypericum*-Arten in drei Gruppen einteilen: in die erste Gruppe gehören Arten, die Hyperin und Quercitrin enthalten (*H. hirsutum*, *H. maculatum*, *H. montanum*, *H. tetrapterum*), die zweite Gruppe mit Rutin, Hyperosid und Quercitrin bildet die Art *H. perforatum*, die dritte Gruppe ist durch den Gehalt von Hyperosid und Rutin charakterisiert (*H. humifusum*). Es ist bemerkenswert, dass diese Gliederung der untersuchten *Hypericum*-Arten auf Grund des Flavon-Gehaltes mit der bisher nur auf Grund von morphologischen Merkmalen ausgestellten systematischen Gliederung (in Subsektionen nach KELLER 1895) gut übereinstimmt und demnach der Flavon-Gehalt ein weiteres diakritisches Merkmal bilden dürfte (was allerdings die Untersuchung weiterer Arten dieser grossen Gattung noch bestätigen muss). Da es sich bei *H. perforatum* um eine polymorphe, stark veränderliche Art handelt, wurden bei ihr vier von unterschiedlichen Standorten stammende Proben zur Untersuchung verwendet; diese enthalten Hyperin, Rutin und Quercitrin, die Anwesenheit von Quercetin ist jedoch unregelmässig. Die durch das Studium tschechoslowakischer Arten aus der Gattung *Hypericum* gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass der Gehalt an Flavonoiden eine wertvolle Merkmalsgruppe für chemotaxonomische Fragen bei dieser Gattung bilden kann.

Nať třezalky tečkované (*Hypericum perforatum* L.) dochází nejen u nás, ale i v jiných státech hojného užití k přípravě různých léčivých přípravků. Používá se při mnoha indikacích vnitřně i zevně (SCHINDLER 1954, HOPPE 1958). Hlavní účinnou látkou třezalky je hypericin, tj. dimethylhexahydroxynaftodiantron (BROCKMANN et al. 1953, 1954).

Průzkumem obsahových látek třezalky tečkované se zabývalo mnoho autorů (JERZMANOWSKA 1937, GRIMS 1959 a, b, MICHALUK et al. 1956, 1960, KUČERA 1958a, b). Kromě hypericinu byla v ní nalezena celá řada flavonolu, jako hyperin, rutin, kvercitrin, kvercetin a další látky, jako cholin, organické kyseliny, silice apod. Při sběru natě třezalky tečkované dochází snadno k záměně jinými druhy rodu *Hypericum*. Z toho důvodu MICHALUK (1961) a GRIMS et WEBER (1959) rozšířil svůj výzkum i na některé další druhy *Hypericum*.

Studiem flavonoidů v československých druzích rodu *Hypericum* se dosud nikdo nezabýval. Taxonomické zpracování rodu *Hypericum* z území ČSSR podává ve své diplomové práci ZELENÝ (1959).

Jako pokusného materiálu bylo použito planě rostoucích rostlin z území ČSSR (tab. 1). Vzorky byly sbírány v roce 1960–1964. Po sběru byly rostliny sušeny volně na vzduchu při teplotě 20–25° C. Usušené drogy byly uchovávány v papírových sáčcích a před hodnocením práškovány (síta IV). K průzkumu byly použity všechny československé druhy *Hypericum* s výjimkou *H. pulchrum* L. a *H. elegans* STEPH.

Tab. 1. Přehled vzorků použitých k pokusům

Druh	Část rostliny	Lokalita
<i>Hypericum hirsutum</i> L.	nať	V okolí Milovic — Morava
<i>Hypericum humifusum</i> L.	nať	U Kyjovic v údolí — Slezsko
<i>Hypericum maculatum</i> Cr.	nať	V okolí Hor. Lípové — Slezsko
<i>Hypericum montanum</i> L.	nať	Palavské kopce — Morava
<i>Hypericum perforatum</i> L. 1	nať	Pouzdřanské kopce — Morava
<i>Hypericum perforatum</i> L. 2	nať	U obce Dubravka — Slovensko
<i>Hypericum perforatum</i> L. 3	nať	Stráně u Suchých Lazec — Slezsko
<i>Hypericum perforatum</i> L. 4	nať	V okolí Olomouce — Morava
<i>Hypericum tetrapterum</i> Fr.	nať	V okolí Uvalna — Slezsko

Důkaz flavonolu ve výše uvedených druzích rodu *Hypericum* bylo provedeno pomocí papírové chromatografie, a to jednoduchou metodou vzestupně v soustavě A (n-butanol—kyselina octová—voda v poměru 4 : 1 : 5) papír Whatman č. 1 20 × 50 cm a dvourozměrnou chromatografií v soustavě A a v soustavě B (2% kyselina octová) papír Whatman č. 1 (27 × 27 cm). Výluh pro chromatografii byl připraven podle metody HÄNSELA a HÖRRHAMMERA (1954) a nanášen v množství 0,02–0,03 ml ve srovnání se standartními vzorky rutin, kvercitrinu, hyperinu a kvercetin v 0,1% metanolicím roztoku. Chromatogramy byly nejprve prohlédnuty ve viditelném a ultrafialovém světle a dále detegovány Wilsonovým činidlem a roztokem chloridu hlinitého. Chlorofyl, který se nepodařilo odstranit ani 6–8hodinovou extrakcí chloroformem, se od ostatních látek oddělil a putoval jako ohraničená skvrna s čelem chromatogramu. Byly nalezeny hodnoty Rf jednotlivých složek extraktů v soustavě A: chlorofyl Rf kolem 1,0, kvercetin Rf kolem 0,72, kvercitrin Rf kolem 0,74, hyperin Rf kolem 0,5, rutin Rf kolem 0,40; tab. 2, obr. 1. V ultrafialovém světle lze identifikovat kvercetin jako žlutozeleně fluoreskující skvrnu, rutin, hyperin, kvercitrin jako tmavěhnědé skvrny. Po detekci 1% etanolovým roztokem chloridu hlinitého hyperin, kvercitrin a rutin dával skvrnu žlutě fluoreskující, kvercetin skvrnu modře fluoreskující. V soustavě B byly nalezeny Rf hodnoty (tab. 2, obr. 1): kvercetin Rf hodnota

Tab. 2. Hodnoty Rf standardních vzorků

Vzorek	Hodnota Rf soustava A	Hodnota Rf soustava B
kvercitrin	0,74	0,20
kvercetin	0,72	0,00
hyperin	0,50	0,11
rutin	0,40	0,28

Soustava A: n-butanol—kyselina octová—voda (4 : 1 : 5)

Soustava B: 2% kyselina octová

kolem 0,00, hyperin Rf hodnota kolem 0,10, kvercitrin Rf hodnota kolem 0,20, rutin Rf hodnota kolem 0,28.

Přehled výsledků papírové chromatografie extraktu jednotlivých vzorků tab. 3. Hodnoty Rf sou stanoveny z 10 chromatogramů, ve srovnání ze standartními vzorky. Hyperin se vyskytuje ve všech vzorcích, přítomnost rutin, kvercitrinu a kvercetin je nepravdělná.

Tab. 3. Přehled výsledků papírové chromatografie

Druh	Hp	Rt	Kv	K
<i>H. hirsutum</i>	+	—	+	+
<i>H. humifusum</i>	+	+	—	—
<i>H. maculatum</i>	+	—	+	+
<i>H. montanum</i>	+	—	+	+
<i>H. perforatum</i> 1	+	+	+	—
<i>H. perforatum</i> 2	+	+	+	+
<i>H. perforatum</i> 3	+	+	+	+
<i>H. perforatum</i> 4	+	+	+	—
<i>H. tetrapterum</i>	+	—	+	+

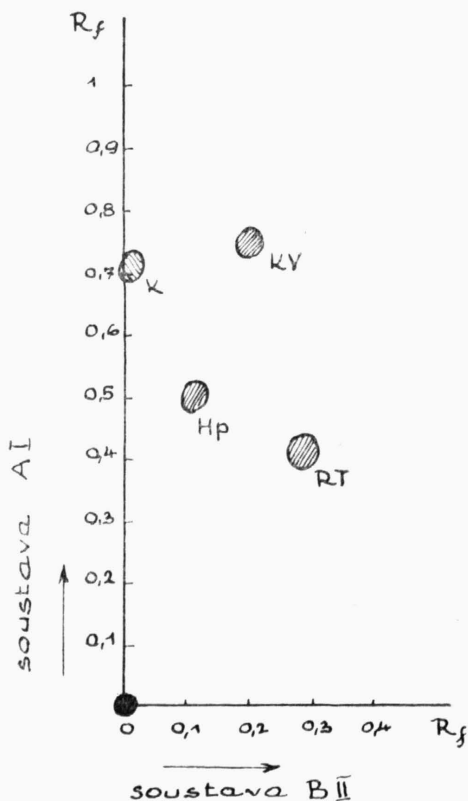
Hp — hyperin\*, Rt — rutin, Kv — kvercitrin\*, K — kvercetin.

\* Za poskytnutí vzorků hyperinu a kvercitrinu děkuji prof. dr. H ö r h a m m e r o v i (Institut für Farmakognosie, München).

### Hodnocení výsledků a diskuse

Jak výsledky papírové chromatografie ukazují, byla nalezena ve všech zkoušených druzích rodu *Hypericum* skupiny flavonoidů kvercetinové řady, a to: hyperin, kvercitrin, rutin a volný kvercetin. Hyperin se vyskytuje ve všech vzorcích. Přítomnost rutinu, kvercitrinu a kvercetin u je nepravidelná.

GRIMS (1959c) provedl hodnocení šesti druhů rodu *Hypericum* (*H. perforatum*, L., *H. androsaemum* L., *H. acutum* MOENCH., *H. hirsutum* L., *H. montanum* L., *H. calycinum* L.), které dělí podle obsahu hypericinu na dvě skupiny. Uvádí, že všechny druhy obsahující hypericin mají stejnou skupinu flavonoidů. Tyto údaje popírá MICHALUK (1961), který provedl hodnocení jedenácti druhů rodu *Hypericum* (*H. tomentosum* L., *H. degenii* BORN., *H. undulatum* SCHOU., *H. hirsutum* L., *H. polyphyllum* BOISS. HEIDR., *H. acutum* MOENCH., *H. maculatum* CR., *H. perforatum* L., *H. ascyron* L., *H. hircinum* L., *H. hookerianum* WIGHT et ARNOTT.). Podle výsledků MICHALUKA všechny přezkoušené druhy



Obr. 1.

Schéma chromatogramu standardních látek  
Soustava A — n-butanol—kyselina octová—  
voda (4 : 1 : 5). Soustava B — 2% kyselina  
octová

Kv — kvercitrin, K — kvercetin,  
Hp — hyperin, Rt — rutin

obsahují hyperin, kvercitrin a volný kvercetin nezávisle na přítomnosti hypericinu, rutin nalézá sporadicky. Je možné, že po přezkoušení celého rodu bude možno z fytochemického hlediska hodnotit rod *Hypericum* podle obsahu hypericinu, ovšem z chemotaxonomického hlediska bude pravděpodobně pro rod *Hypericum* podstatnější otázka obsahu flavonoidů.

Ve výše uvedených pracích není zmínka o taxonomii. Je známo, že obsáhlé zpracování rodu *Hypericum* najdeme v práci KELLERA (1895). Československé druhy rodu *Hypericum* podle KELLERA patří do sekce *Hypericum*. Z devíti subsekcí této sekce jsou u nás zastoupeny pouze tři, a to: subsekce *Oligostema* BOISSIER. Fl. or. 1, 785, 1867 (*H. humifusum*), subsekce *Homotaecium* KELLER. (*H. hirsutum*, *H. maculatum*, *H. tetrapterum*, *H. montanum*) a subsekce *Heterotaeminum* KELLER (*H. perforatum*). Podle získaných výsledků lze zkoušet různé druhy rozdělit podle obsahu flavonoidů do tří skupin (tab. 3). Do první skupiny druhy obsahující hyperin, kvercitrin a kvercetin (*H. hirsutum*, *H. maculatum*, *H. montanum*, *H. tetrapterum*), do druhé skupiny druhy obsahující rutin, kvercitrin a hyperin (*H. perforatum*), do třetí skupiny druhy obsahující hyperin a rutin (*H. humifusum*). Volný kvercetin lze považovat za vedlejší produkt, který mohl vzniknout při sušení, úpravě nebo skladování vzorku, ovšem tuto domněnku by bylo záhodno experimentálně ověřit.

U druhu *H. perforatum* byly k průzkumu sebrány vzorky ze čtyř stanovišť, a to vzhledem k tomu, že se jedná o polymorfní druh. Ve všech vzorcích byl nalezen rutin, hyperin a kvercitrin, naproti tomu přítomnost volného kvercetinu nebyla pravidelná.<sup>1)</sup>

Výsledky získané při tomto studiu ukazují, že obsah flavonoidů je v korelaci s morfoloickými znaky zkoušených druhů a může tedy přispět k chemotaxonomickému zpracování rodu *Hypericum*. Jistě při dalším průzkumu bude nutné přihlídnout i k biogenetické řadě flavonoidních látek.

#### L i t e r a t u r a

- BOISSIER E. (1867): Fl. orientalis 1, 785. — Basileae—Geneve.
- BROCKMANN H. et SANNE W. (1953): Zur biosynthese des Hypericins. — Naturwissenschaften 40 : 509—11.
- BROCKMANN H. et PAMPUS E. (1954): Die Isolierung des Pseudohypericins. — Naturwissenschaften 41 : 86—88.
- GRIMS M. (1959a): Bestimmungsmethoden und ein Rückblick auf die Hypericingehalt einiger einheimischer *Hypericum* Arten. — Acta pharm. jug. 9 : 59—68.
- (1959b): A Contribution to the Knowledge of the Flavonoids of the Plant *Hypericum perforatum* and some other *Hypericum* species. — Acta pharm. jug. 9 : 119—122.
- GRIMS M. et WEBER K. (1959): Beitrag zur Kenntnis der photodynamischen Farbstoffe der Pflanze *Hypericum perforatum*. — Acta pharm. jug. 9 : 39—58.
- HÄNSEL R. et HÖRHAMMER L. (1954): Phytochemisch systematische Untersuchung über die Flavonglykoside der Betulaceen. Arch. pharm. 287 : 117—26.
- HOPPE H. A. (1958): Drogenkunde. — Hamburg.
- JERZMANOWSKA Z. (1937): Studium rodzaju *Hypericum perforatum*. — Wiad. farmaceut. 64 : 527—29.
- KELLER R. (1895): in Engler A und Prantl K. Die natürlichen Pflanzenfamilien. — Leipzig.
- KUČERA M. (1958a): *Hypericum perforatum* I. — Českoslov. Farm. 7 : 391—93.
- (1958b): *Hypericum perforatum* II. — Českoslov. Farm. 7 : 436—38.
- MICHALUK A., BRUNARSKA Z., BEDNARSKA D. (1956): Badania nad flavonoidami *Hypericum perforatum* L. — Diss. pharm. 8 : 47—50.
- (1960): Badania nad flavonoidami w gatunkach rodzaju *Hypericum* I. — Diss. pharm. 12 : 311—323.

<sup>1)</sup> Obsah flavonoidů a druhů *Hypericum perforatum* bude dále sledován.

— (1961): Badania nad flavonoidami w gatunkach rodzaju *Hypericum* II. — Diss. pharm. 13 : 73—79.

SCHINDLER H. (1954): Die Inhaltsstoffe von Heilpflanzen und prüfungsmethoden für pflanzliche tincturen. — *Arzneimittel-Forsch.* 4 : 401—404.

ZELÉNÝ V. (1959): Studie o československých třezalkách (*Hypericum* [Tourn.]) L. — Diplomová práce. Katedra botaniky UK.

## Zprávy o literatuře

P. H. Davis et J. Cullen:

### The Identification of Flowering Plant Families

Oliver and Boyd, Edinburgh and London 1965, 122 str., 6 obr., cena 12 s. 6 d. (Kniha je v knihovně ČSBS).

Tato nevelká knížka je příručkou k určení krytosemenných čeledí severního mírného pásma, a to jak původních, tak introdukovaných. Kromě širšího použití je určena také studentům přírodních věd, jimž autoři práci připsali.

Použití klíče pro začátečníky usnadňuje morfologický slovníček, připojený na konci, a stručný výklad k důležitým znakům, které mohou působit obtíže při určování. Zvláštní pozornost je věnována vzájemnému postavení květních částí a typu placentace. Podle hypogynického, perigynického nebo epigynického postavení květních obalů rozlišují autoři šest typů květů, které tvoří jedny ze základních bodů určovacího klíče. Polemisiují s názory, které zavrhuji používání tohoto znaku pro diakritické účely a naopak jej pokládají — při dostatečném objasnění a definování termínů — za velmi platný. Zůstává však faktem, že mezi typy jsou plynulé přechody a už při orientačním prověření klíče lze zjistit, že řazení čeledí do jednotlivých skupin na základě tohoto znaku není vždy jednoznačné. Pro vyjádření typu placentace užívají autoři běžné termíny a pro názornost připojují schematické obrázky, někdy v různých variantách.

Hlavní součástí knížky je vlastní určovací klíč. Forma klíče je dichotomická, s odstavováním protiznaků na stejnou zarážku, při čemž dvojice bodů nejsou za sebou (jak je to běžné v našich pracích), nýbrž druhý bod následuje až po vyčerpání celého obsahu prvního. Tento působ je značně nepřehledný, zvláště pokud je klíč obsáhlejší a protiznaky jsou pak od sebe i několik stránek vzdálené.

Klíč obsahuje 225 čeledí a je pro větší přehlednost rozdělen do jedenácti více méně přirozených skupin, vždy s novým číslováním. K určení jednotlivých skupin slouží úvodní dvanáctá část klíče. Klíč je založen především na květních znacích; kromě už zmíněné epi- či hypogynie a placentace je to hlavně srůstání květních obalů, rozlišení jejich kruhů, souměrnost květů a srůstání i počet plodolistů. Vegetativní znaky se uplatňují až v dalších bodech klíče; nejdůležitější z nich jsou růstová forma, postavení listů a přítomnost palistů.

Důsledně přirozené rozdělení je v klíči zachováno pouze mezi dvouděložnými (skupiny 1—10) a jednoděložnými (skupina 11). Zdá se však, že ani zde to není nejvhodnější řešení pro účely klíče, protože autoři jsou nuceni klást téměř před všechny použité znaky příslovce „obvyčejně“, což svědčí o jejich nízké diakritické hodnotě. Lepší řešení by asi bylo použít i zde umělých skupin. Z ostatních znaků, použitých při charakteristice skupin, se ukázal jako dosti nepřesný znak přirůstání k okvětním částem, které odlišuje skupiny 5 a 6. Souvisí to se speciálně definovaným pojmem perigynické zony, neboť zde je často obtížné rozhodnout, zda tyčinky přirůstají k této perigynické zóně nebo už ke koruně.

Při ověřovacím určování našich čeledí jsem zjistil několik nedopatření, která znesnadňují nebo znemožňují určení některých našich typů: čeleď *Polygonaceae* je ve skupině 5 zařazena pouze v úseku s oboupohlavnými květy, kdežto rody s různopohlavnými květy z klíče vypadají; čeleď *Saxifragaceae* obsahuje vedle typů synkarpických i typy částečně nebo úplně apokarpické; v příslušné skupině 1 vak *S.* nejsou; čeleď *Rosaceae* má být ve skupině 1 (apokarpické typy) na dvou místech: s okvětní a tyčinkami perigynickými a též hypogynickými; druhá eventualita v klíči chybí; čeleď *Empetraceae* má, jak shodně udávají všechny popisy, rozlišený kalich a korunu, a tedy nepatří do skupiny 5, nýbrž do skupiny 3.

Doplňkem klíče jsou krátké popisy čeledí, podané formou zkratk a symbolů, které mají sloužit jako kontrola určení. V taxonomickém pojetí čeledí se autoři většinou přidrželi širšího rozsahu. U několika velmi širokých čeledí jsou připojeny zvláštní klíče k určení užších čeledí.

I když zkušenější botanik zpravidla čeledi neurčuje, pro začátečníka je takováto příručka velmi cenná. Své poslání dobře splňuje.

P. Tomšovic