

UNIVERZITET U BEOGRADU

FARMACEUTSKI FAKULTET

Ljuboš J. Ušjak

**HEMIJSKA I FARMAKOLOŠKA  
KARAKTERIZACIJA  
ODABRANIH TAKSONA RODA  
*HERACLEUM* L. (APIACEAE),  
AUTOHTONIH ZA JUGOISTOČNU  
EVROPU**

doktorska disertacija

Beograd, 2019

UNIVERZITET U BEOGRADU

FARMACEUTSKI FAKULTET

Ljuboš J. Ušjak

**HEMIJSKA I FARMAKOLOŠKA  
KARAKTERIZACIJA  
ODABRANIH TAKSONA RODA  
*HERACLEUM* L. (APIACEAE),  
AUTOHTONIH ZA JUGOISTOČNU  
EVROPU**

doktorska disertacija

Beograd, 2019

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Ljuboš J. Ušjak

**CHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL  
CHARACTERISATION OF SELECTED  
TAXA OF THE GENUS  
*HERACLEUM* L. (APIACEAE),  
AUTOCHTHONOUS FOR  
SOUTHEASTERN EUROPE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019

Doktorska disertacija je urađena na Katedri za farmakognoziju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta.

Deo eksperimenata urađen je na Institutu za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije, i Katedri za organsku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Mentor

---

Prof. dr Silvana Petrović, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Članovi komisije

1. \_\_\_\_\_  
Dr sc. Milica Drobac, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

2. \_\_\_\_\_  
Dr sc. Marina Soković, naučni savetnik  
Univerzitet u Beogradu,  
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

3. \_\_\_\_\_  
Dr sc. Tatjana Stanojković, viši naučni saradnik  
Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd

4. \_\_\_\_\_  
Dr sc. Marjan Niketić, naučni i muzejski savetnik  
Prirodnjački muzej, Beograd

Datum odbrane \_\_\_\_\_



*Najveću zahvalnost izražavam svom mentoru prof. dr Silvani Petrović na ukazanom poverenju, i na stručnom vođenju, korisnim savetima, nesebičnoj pomoći i podršci tokom svih eksperimenata, kao i pisanja doktorske disertacije.*

*Posebna zahvalnost dr sc. Milici Drobac, vanr. prof. na podršci, pomoći prvenstveno pri analizi hemijskog sastava etarskih ulja i korisnim savetima prilikom pisanja doktorske disertacije.*

*Dr sc. Marjanu Niketiću posebno se zahvaljujem na prikupljanju i identifikaciji biljnog materijala, svemu što me je naučio o multivarijantnoj statističkoj analizi, kao i korisnim savetima prilikom pisanja doktorske disertacije.*

*Velika zahvalnost dr sc. Marini Soković na ispitivanju antimikrobne, a dr sc. Tatjani Stanojković na ispitivanju citotoksične aktivnosti etarskih ulja, kao i na sugestijama prilikom pisanja doktorske disertacije. Takođe, zahvalnost dr sc. Ani Ćirić, sa Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, na angažovanju prilikom ispitivanja antimikrobne, a dipl. biol. Nađi Grozdanić, sa Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, prilikom ispitivanja citotoksične aktivnosti etarskih ulja.*

*Prof. dr Veletu Teševiću i masteru hemije Ivani Sofrenić, sa Katedre za organsku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, najlepše se zahvaljujem na pomoći u analizi sterola i triterpena plodova, a prof. dr Veletu Teševiću i na snimanju i tumačenju  $^1\text{H}$  NMR spektra izobergaptena. Zahvaljujem se dr sc. Milošu Petkoviću, sa Katedre za organsku hemiju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta, na snimanju  $^1\text{H}$  i ROESY NMR spektara odabranih dihlormetanskih ekstrakata, prof. dr Nejcju Joganu, sa Katedre za biologiju Biotehničkog fakulteta Univerziteta u Ljubljani, na pomoći prilikom pronalaženja staništa biljaka u Sloveniji, i dr sc. Bojanu Zlatkoviću, sa Katedre za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu, na prikupljanju uzoraka *Heracleum verticillatum* 2012. god.*

*Veliko hvala prof. dr Nadi Kovačević na ukazanom poverenju kroz uključivanje na projekat Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (br. 173021).*

*Zaposlenima na Katedri za farmakognoziju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta izražavam veliku zahvalnost na podršci tokom izrade doktorske disertacije.*

*Zahvaljujem se mojim najbližima na velikoj podršci i razumevanju.*

## Hemijska i farmakološka karakterizacija odabranih taksona roda *Heracleum* L. (Apiaceae), autohtonih za jugoistočnu Evropu

### Sažetak

Predmet istraživanja doktorske disertacije je devet taksona roda *Heracleum* (Apiaceae): *H. sphondylium*, *H. sibiricum*, *H. montanum*, *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i *H. verticillatum* iz grupe *H. sphondylium*, i *H. orphanidis*, svi iz (tipske) sect. *Heracleum*, kao i *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sect. *Wendia*.

Gasnom hromatografijom sa FID i MS detekcijom analiziran je sastav etarskih ulja izolovanih destilacijom vodenom parom iz podzemnih organa, listova, cvasti i plodova. U uljima podzemnih organa dominirali su monoterpeni i/ili fenilpropani (taksoni grupe *H. sphondylium*), ili (*Z*)-falkarinol (*H. orphanidis* i *H. austriacum*); u uljima plodova alifatični estri oktilacetat (sect. *Heracleum*) ili oktilheksanoat (*H. austriacum*), a u uljima listova i cvasti alifatični estri (*H. orphanidis*) ili seskviterpeni i/ili fenilpropani. S obzirom da je u pojedinim uljima utvrđeno prisustvo furanokumarina koji mogu delovati fototoksično, definisan je bezbednosni profil ulja, tj. utvrđen njihov maksimalni dozvoljeni dnevni unos.

U dihlormetanskim ekstraktima podzemnih organa i plodova svih taksona identifikovano je ukupno 12 furanokumarina (LC-MS metodom pomoću standardnih supstanci ili na osnovu UV, MS, <sup>1</sup>H i ROESY NMR spektara), od kojih su dominantni bili pimpinelin, bergapten, biakangelikol, heraklenin i/ili imperatorin.

Hemosistematski značaj komponenti etarskih ulja (u slučaju podzemnih organa i plodova i komponenti njihovih *headspace* frakcija) i furanokumarina utvrđen je multivarijantnom statističkom analizom (PCA, nMDS i UPGMA).

U uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata plodova gasnom hromatografijom (GC-FID i GC-MS) analizirane su masne kiseline (dominantna je bila petroselinska), steroli (najzastupljeniji je bio  $\beta$ -sitosterol) i triterpeni.

Antimikrobna aktivnost etarskih ulja pokazana je mikrodilucionom metodom na po osam sojeva bakterija i mikromiceta (u nekim slučajevima MIK su bile niže ili bliske 0,1 mg/mL); selektivna citotoksičnost MTT testom na tumorske HeLa, LS174 i A549 ćelije (u nekim slučajevima IC<sub>50</sub> su bile niže ili bliske 30  $\mu$ g/mL; ulja uglavnom nisu

inhibirala rast normalnih MRC-5 ćelija). Etarska ulja su pokazala slab anti-DPPH potencijal. Sastav aktivnih zona u TLC-DPPH testu ispitan je gasnom hromatografijom (dominirali su oksidovani terpeni i fenilpropani).

**Ključne reči:** taksoni roda *Heracleum*, etarska ulja, furanokumarini, masne kiseline i nesaponifikovane supstance, GC-FID i GC-MS, LC-MS, multivarijantna statistička analiza, antimikrobna aktivnost, citotoksična aktivnost, anti-DPPH potencijal.

**Naučna oblast:** Farmacija.

**Uža naučna oblast:** Farmakognozija.

**UDK broj:** 543.2/9:[582.794.1:616-092.9(043.3)  
582.794.1(430:497.1)(043.3)

## **Chemical and pharmacological characterisation of selected taxa of the genus *Heracleum* L. (Apiaceae), autochthonous for Southeastern Europe**

### **Abstract**

This doctoral dissertation focuses on nine *Heracleum* taxa (Apiaceae): *H. sphondylium*, *H. sibiricum*, *H. montanum*, *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* and *H. verticillatum*, belonging to group *H. sphondylium*, and *H. orphanidis*, all from the (type) sect. *Heracleum*, as well as *H. austriacum* subsp. *siifolium* from sect. *Wendia*.

By GC-FID and GC-MS, the composition of essential oils isolated by hydrodistillation from underground parts, leaves, flowers and fruits was analysed. Underground parts oils were dominated by monoterpenes and/or phenylpropanoids (*H. sphondylium* group), or (*Z*)-falcarinol (*H. orphanidis* and *H. austriacum*); fruit oils by aliphatic esters octyl acetate (sect. *Heracleum*) or octyl hexanoate (*H. austriacum*), and leaf and flower oils by aliphatic esters (*H. orphanidis*) or sesquiterpenes and/or phenylpropanoids. Considering that in some of these oils potentially phototoxic furanocoumarins were detected, safety profile of the oils, i.e. their maximum daily intake was estimated.

In dichloromethane extracts of underground parts and fruits of investigated taxa, a total of 12 furanocoumarins were identified (by LC-MS using standard compounds or based on UV, MS, <sup>1</sup>H and ROESY NMR spectra), among which pimpinellin, bergapten, byakangelicol, heraclenin and/or imperatorin were dominant.

Chemosystematic significance of essential oil components (in the case of underground parts and fruits, of their headspace fraction components as well) and furanocoumarins was demonstrated using multivariate statistics (PCA, nMDS and UPGMA).

In oily supernatants of fruit dichloromethane extracts, by GC-FID and GC-MS, fatty acids (petroselinic acid was dominant), sterols ( $\beta$ -sitosterol was the most abundant) and triterpenes were analysed.

Antimicrobial activity of the essential oils was showed by microdilution method on eight bacteria and eight fungi (in some cases MICs were lower or around 0.1 mg/mL); selective cytotoxicity by MTT test on cancer HeLa, LS174 and A549 cells (in some

cases IC<sub>50</sub> were lower or around 30 µg/mL; oils mostly did not inhibit growth of normal MRC-5 cells). Essential oils showed weak anti-DPPH potential. The composition of their active zones in TLC-DPPH test was analysed by GC-FID and GC-MS (oxygenated terpenes and phenylpropanoids were dominant).

**Keywords:** *Heracleum* taxa, essential oils, furanocoumarins, fatty acids and unsaponifiable compounds, GC-FID and GC-MS, LC-MS, multivariate statistics, antimicrobial activity, cytotoxic activity, anti-DPPH potential.

**Academic expertise:** Pharmacy.

**Major in:** Pharmacognosy.

**UDC number:** 543.2/9:[582.794.1:616-092.9(043.3)  
582.794.1(430:497.1)(043.3)

## SADRŽAJ

<b>UVOD</b> .....	1
1. Rod <i>Heracleum</i> L. ....	1
1.1. Ispitivani predstavnici sekcije <i>Heracleum</i> .....	3
1.1.1. Grupa <i>Heracleum sphondylium</i> L. ....	3
1.1.2. <i>Heracleum orphanidis</i> Boiss. ....	12
1.2. <i>Heracleum austriacum</i> subsp. <i>siifolium</i> (Scop.) Nyman iz sekcije <i>Wendia</i> .....	13
2. Sekundarni metaboliti vrsta roda <i>Heracleum</i> .....	15
2.1. <i>Etarska ulja</i> .....	15
2.2. <i>Kumarini</i> .....	24
2.2.1. <i>Fototoksičnost furanokumarina</i> .....	46
2.3. <i>Ostali sekundarni metaboliti</i> .....	47
3. Ispitivani primarni metaboliti roda <i>Heracleum</i> .....	48
4. Primena biljaka roda <i>Heracleum</i> u homeopatiji, narodnoj medicini i ishrani .....	53
4.1. <i>Primena u homeopatiji</i> .....	53
4.2. <i>Primena u narodnoj medicini</i> .....	53
4.3. <i>Primena u ishrani</i> .....	54
5. Farmakološka aktivnost biljaka roda <i>Heracleum</i> .....	55
5.1. <i>Antimikrobna aktivnost</i> .....	55
5.1.1. <i>Antimikrobna aktivnost etarskih ulja</i> .....	56
5.1.2. <i>Antimikrobna aktivnost ekstrakata</i> .....	58
5.2. <i>Citotoksično i hemopreventivno delovanje</i> .....	60
5.3. <i>Antioksidantni potencijal</i> .....	62
5.4. <i>Insekticidno i repelentno delovanje</i> .....	63
5.5. <i>Antikonvulzivna aktivnost</i> .....	64
5.6. <i>Antihipertenzivna, antihiperlipidemijska i antihiperholesterolemijska aktivnost</i> .....	64
5.7. <i>Antiinflamatorna i analgetska aktivnost</i> .....	65
5.8. <i>Imunomodulatorna aktivnost</i> .....	66
5.9. <i>Antidijabetička aktivnost</i> .....	66
5.10. <i>Antiholinesterazna aktivnost</i> .....	67
5.11. <i>Sedativno delovanje</i> .....	67

5.12. Ispitivanje uticaja na reproduktivnu sposobnost .....	67
<b>CILJ</b> .....	68
<b>MATERIJAL I METODE</b> .....	69
1. Biljni materijal .....	69
2. Aparatura .....	75
3. Izolovanje, kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja i <i>headspace</i> frakcija ....	76
3.1. Izolovanje etarskih ulja .....	76
3.2. Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja .....	80
3.3. <i>Headspace</i> ekstrakcija .....	82
4. Izrada dihlormetanskih ekstrakata .....	82
5. Kvalitativna i kvantitativna analiza furanokumarina .....	85
6. Statistička analiza .....	87
7. Priprema uzoraka i kvalitativna i kvantitativna analiza masnih kiselina, sterola i triterpena .....	88
7.1. Saponifikacija i esterifikacija masnih kiselina .....	88
7.2. Kvalitativna i kvantitativna analiza masnih kiselina .....	88
7.3. Silanizacija sterola i triterpena .....	89
7.4. Kvalitativna i kvantitativna analiza sterola i triterpena .....	90
8. Ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja .....	90
8.1. Testirani mikroorganizmi .....	90
8.2. Hranljive podloge .....	91
8.3. Ispitivanje antibakterijske aktivnosti .....	91
8.4. Ispitivanje antifungalne aktivnosti .....	92
9. Ispitivanje citotoksične aktivnosti etarskih ulja .....	92
9.1. Čelijske linije .....	92
9.2. Tretman čelijskih linija .....	93
9.3. Određivanje čelijskog preživljavanja – <i>MTT test</i> .....	93
10. Ispitivanje antiradikalske aktivnosti etarskih ulja .....	94
10.1. <i>DPPH test</i> .....	94
10.2. <i>TLC-DPPH test</i> .....	95

<b>REZULTATI I DISKUSIJA</b> .....	96
1. Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja ispitivanih taksona roda <i>Heracleum</i> i hemosistematski značaj njihovih komponenti.....	96
1.1. <i>Etarska ulja podzemnih organa</i> .....	96
1.2. <i>Isparljive komponente podzemnih organa ispitivane headspace GC-FID i GC-MS metodom</i> .....	110
1.3. <i>Etarska ulja plodova</i> .....	118
1.4. <i>Isparljive komponente plodova ispitivane headspace GC-FID i GC-MS metodom</i> .....	132
1.5. <i>Etarska ulja listova i cvasti</i> .....	140
1.6. <i>Sadržaj furanokumarina u etarskim uljima</i> .....	170
2. Kvalitativna i kvantitativna analiza i hemosistematski značaj furanokumarina podzemnih organa i plodova.....	175
2.1. <i>Kvalitativna analiza furanokumarina</i> .....	175
2.2. <i>Kvantitativna analiza furanokumarina i statistička obrada podataka</i> .....	188
3. Kvalitativna i kvantitativna analiza masnih kiselina, sterola i triterpena dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda <i>Heracleum</i> .....	200
3.1. <i>Masne kiseline</i> .....	200
3.2. <i>Steroli i triterpeni</i> .....	204
4. Farmakološka aktivnost etarskih ulja ispitivanih taksona roda <i>Heracleum</i> .....	206
4.1. <i>Antimikrobna aktivnost</i> .....	206
4.2. <i>Citotoksična aktivnost</i> .....	221
4.3. <i>Antiradikalska aktivnost</i> .....	226
<b>ZAKLJUČCI</b> .....	231
<b>LITERATURA</b> .....	235
<b>PRILOG</b> .....	260



## UVOD

### 1. Rod *Heracleum* L.

Rod *Heracleum* L. pripada porodici Apiaceae Lindley (Umbelliferae Juss. 1789. Gen. Plant.: 218) i subporodici Apioideae Drude.

Porodici Apiaceae čine jednogodišnje, dvogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, vrlo retko polužbunovi. Stabljike su većinom sa šupljim internodijama, a pošto imaju dobro razvijen kolenhim mogu dostići visinu preko 3 m i debljinu do 5 cm. Listovi su uglavnom naizmenično raspoređeni i obično su krupni (prvenstveno prizemni listovi). Najčešće su jednom ili više puta perasto deljeni, retko su celog oboda ili usečeni. Lisna drška ili lisna pri osnovi prelaze u lisni rukavac.

Cvetovi su sitni, uglavnom dvopolni i najčešće aktinomorfnе simetrije, a ponekad se po obodu štita nalaze i cvetovi zigomorfnе simetrije. Mogu biti grupisani u proste štitove, kada imaju oblik glavica, a mnogo češće u složene štitove, kada se bočne grane prvog reda ne završavaju cvetovima, već prostim štitovima. Manji ili veći broj priperaka može biti razvijen ispod glavnog štita i obrazuje omotač involukrum, a ispod štitića involucelum. Cvetovi se sastoje iz pet čašičnih i pet kruničnih listića, pet prašnika, i dva oplodna listića. Čašica je najčešće slabo razvijena. Krunični listići su slobodni, po obodu dvorežnjeviti ili usečeni, ređe celi, često sa vrhovima povijenim prema unutrašnjosti. Kod zigomorfnih cvetova krunični listići su nejednaki, tj. veći listići se nalaze na spoljnoj strani cvasti. Najčešće su beli, žuti ili crveni (Nikolić, 1973a).

Plod je šizokarpijum. Kada je zreo raspada se na dva jednosemena merikarpijuma koji su sa unutrašnje (ventralne, trbušne) strane većinom pljosnati, a sa spoljašnje (dorzalne, leđne) strane ispupčeni. Svaki merikarpijum obično sadži po pet glavnih, uzdužnih rebara (primarna rebra - *juga primaria*) u kojima se nalaze sprovodni snopići (tri dorzalna, tj. leđna i dva lateralna, tj. bočna). U udubljenjima između glavnih rebara, tj. brazdama često se javljaju i sporedna rebra (sekundarna rebra - *juga secundaria*). U perikarpu merikarpijuma nalaze se sekretorni kanali sa etarskim uljem (*vittae*). Na dorzalnoj strani prisutni su ispod brazdi (*vittae vallecularis*), a ređe ispod glavnih rebara (*vittae intrajugalis*). Javljaju se i na ventralnoj strani (*vittae commissuralis*). Seme je vrlo različitog oblika i građe i često prirasta za perikarp (Jančić i Lakušić, 2017; Nikolić, 1973a).

Familija Apiaceae obuhvata 434 roda, sa više od 3700 vrsta rasprostranjenih uglavnom na severnoj hemisferi u oblastima sa umerenom klimom (Stevens, 2001–). U Flori Srbije je zastupljena sa 53 roda i 138 vrsta (Nikolić, 1973a).

Rod *Heracleum* obuhvata dvogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, sa zadebljalim korenim i prstasto usečenim, ili prstasto ili perasto deljenim listovima. Cvetovi u vršnim štitovima su hermafroditni, fertilni, a u bočnim štitovima većinom muški. Cvetovi po obodu štita su aktinomorfne ili zigomorfne simetrije. Čašica je sa pet zubaca. Krunični listići su zelenkasti, žućkasti, beli ili ružičasti do crveni, obrnuto jajasti i usečeni. Brakteje su odsutne ili u malom broju, brakteole najčešće prisutne (Brummitt, 1968; Matevski, 2005; Mandenova, 1951; Nikolić, 1973b). Šizokarpijumi su eliptični, obrnuto jajasti ili okruglasti, goli ili dlakavi. Merikarpijumi su spljošteni sa dorzalne strane, krilatog oboda i uglavnom sa pet tankih rebara (tri dorzalna i dva lateralna). Shodno tome, između rebara su najčešće prisutne četiri brazde. Sekretorni kanali sa etarskim uljem (*vittae*) su smeđi do tamnosmeđi, lako uočljivi, linearni, često blago prošireni u terminalnom delu i uglavnom kraći od merikarpa. Na dorzalnoj strani, ispod svake brazde, nalazi se po 1(-2) *vittae vallearis*. Na ventralnoj strani su 2(-6) *vittae commissuralis*, koje kod pojedinih taksona mogu biti i odsutne (Brummitt, 1968; Davis, 1972; Mandenova, 1951; Matevski, 2005; Nikolić, 1973b; Pu i Watson, 2005).

Rod je dobio naziv po heroju iz grčke mitologije, Heraklu ili Herkulu, zbog lekovitosti ili habitusa biljaka (Nikolić, 1973b). Obuhvata oko 120 taksona rasprostranjenih pretežno na severnoj hemisferi u uslovima umerene klime. Njegovi centri diverziteta su planine Kavkaz u jugozapadnoj Aziji i Hengduan u južnoj Kini (Bahadori i sar., 2016). U flori Evrope opisano je 18 autohtonih taksona ovog roda (Brummitt, 1968; Hartvig, 1986). Prema konceptu Mandenove (1951) (na osnovu anatomije plodova, prvenstveno dimenzija i oblika *vittae vallearis* i prisustva, odnosno odsustva *vittae commissuralis*, kao i boje cvetova) ovih 18 taksona raspoređeno je u šest sekcija:

- *H. sect. Heracleum* obuhvata devet taksona grupe *H. sphondylium* L., kao i *H. orphanidis* Boiss. i *H. carpaticum* Porc.;
- *H. sect. Wendia* (Hoffm.) DC. obuhvata *H. austriacum* L. i *H. humile* Sm.;
- *H. sect. Vocontia* (Calest.) Thell. obuhvata *H. pumilum* Vill. (syn. *H. minimum* Lam.);

- *H. sect. Apiifolia* Manden. obuhvata *H. ligusticifolium* M. Bieb.;
- *H. sect. Villosa* Manden. obuhvata *H. stevenii* Manden. i
- *H. sect. Pubescentia* Manden. obuhvata *H. pubescens* M. Bieb.

Za jugoistočnu Evropu autohtono je 12 taksona ovog roda: osam iz grupe *H. sphondylium*, *H. orphanidis* i *H. carpaticum* iz sekcije *Heracleum*, kao i *H. austriacum* subsp. *siifolium* (Scop.) Nyman i *H. humile* iz sekcije *Wendia* (Logacheva i sar., 2008; Mandenova, 1951; Satzyperova, 1984; Tonascia, 1992).

### 1.1. Ispitivani predstavnici sekcije *Heracleum*

Plodovi predstavnika ove sekcije imaju tanke *vittae vallecularis*, koje se postepeno šire u terminalnom delu i obično pružaju do dve trećine ploda. *Vittae commissuralis* su šire i najčešće se pružaju do polovine ploda. Na **Slici 1** prikazan je poprečni presek ploda predstavnika ove sekcije (*H. sphondylium*). Cvetovi su beli, zelenožuti ili ružičasti (Mandenova, 1951). Od 11 predstavnika ove sekcije iz flore Evrope u okviru ove doktorske disertacije ispitivano je osam.



**Slika 1.** Poprečni presek ploda *H. sphondylium* (Bradley i Fell, 1966): A - dorzalna strana, B - ventralna strana; 1 - *vittae vallecularis*, 2 - *vittae commissuralis*

#### 1.1.1. Grupa *Heracleum sphondylium* L.

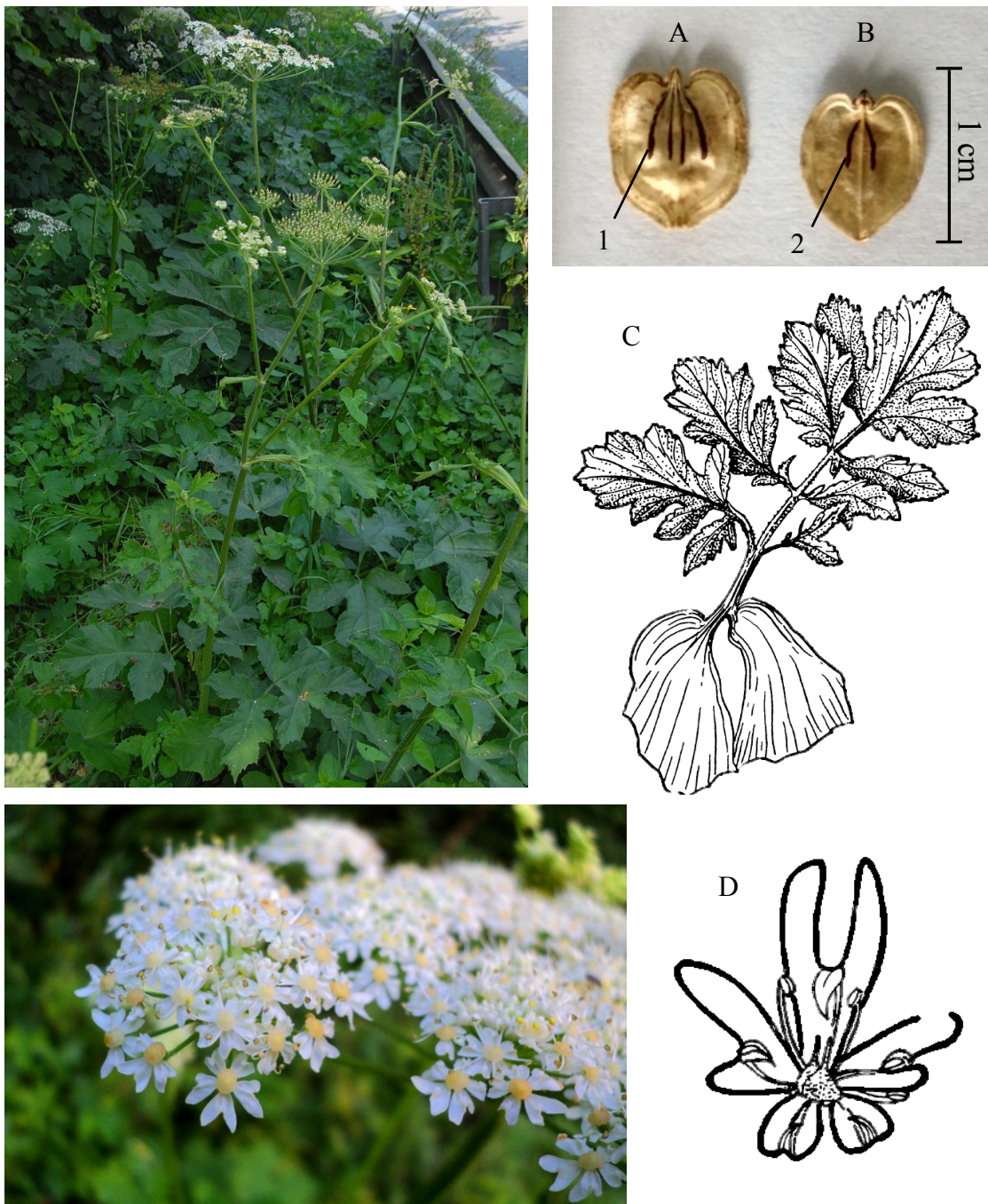
U flori Evrope opisano je devet predstavnika grupe *H. sphondylium*: *H. sphondylium*, *H. sibiricum* L., *H. montanum* Schleich. ex Gaudin, *H. ternatum* Velen., *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (Bertol.) F. Pedrotti & Pignatti, *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (Guss.) F. Pedrotti & Pignatti, *H. verticillatum* Pančić i *H. transsilvanicum* Schur, autohtoni za jugoistočnu Evropu, kao i *H. alpinum* L. (Brummitt, 1968; Tonascia, 1992).

Predstavnici ove grupe su dvogodišnje ili višegodišnje biljke. Stabljika je visine do 250(-350) cm, prečnika 4-20 mm, gola do gusto dlakava. Listovi variraju od prostih i plitko prstasto usečenih do perasto deljenih sa 3(-9) segmenata tupo ili testerasto nazubljenog oboda. Sa naličja su meko ili grubo gusto dlakavi, ili su pak sa malo dlaka (barem po nervima), dok su sa lica goli ili sa malo dlaka. Gornji listovi su manji, sedeći, sa proširenim rukavcem. Štitovi su prečnika do 20 cm, sa najčešće 15-45 zraka. Krunični listići su zelenkasti, žućkasti, beli ili ružičasti do crveni, obodni cvetovi su zigomorfne ili aktinomorfne simetrije. Plodnik je go ili maljav. Šizokarpijumi su dimenzija 5-12 × 4-10 mm, eliptični, obrnuto jajasti ili okruglasti, a *vittae* širine do 0,4 mm (Brummitt, 1968; Matevski, 2005; Nikolić, 1973b).

U okviru ove doktorske disertacije ispitivano je sedam taksona iz ove grupe.

***Heracleum sphondylium* L.**, syn. *H. sphondylium* subsp. *sphondylium* (Tonascia, 1992). Narodni nazivi: mečja šapa, medveđi dlan, medveđa stopa, vučja šapa, blatarica, paponjak, popanak, obična šapika, šapica (sr.), common cow parsnip, common hogweed (eng.), Bärenklau, Wiesen Bärenklau (nem.), berce (fr.), barszcz (pl.), борщевик обыкновенный (ru.) (Lesinger, 2006; Łuczaj, 2010; Reduron i sar., 2015; Satzyperova, 1984; Tucakov, 1997; Vračarić i sar., 1977) (**Slika 2**).

Uglavnom dvogodišnja biljka, čiji su veći donji listovi perasto deljeni, sastavljeni od 3-7 segmenata, koji su često perasto usečeni. Na naličju su meko ili grubo dlakavi. Štitovi su sa 12-25 zrakova. Cvetovi su beli, retko ružičasti, obodni zigomorfne simetrije. Autohtona je u zapadnoj i severnoj Evropi, kao i nekim delovima istočne i centralne Evrope i Mediterana. Naturalizovana je u mnogim delovima sveta. Pretežno raste na nižim nadmorskim visinama (Brummitt, 1968; Hassler, 2018; Online Atlas of the British and Irish flora, 2018).

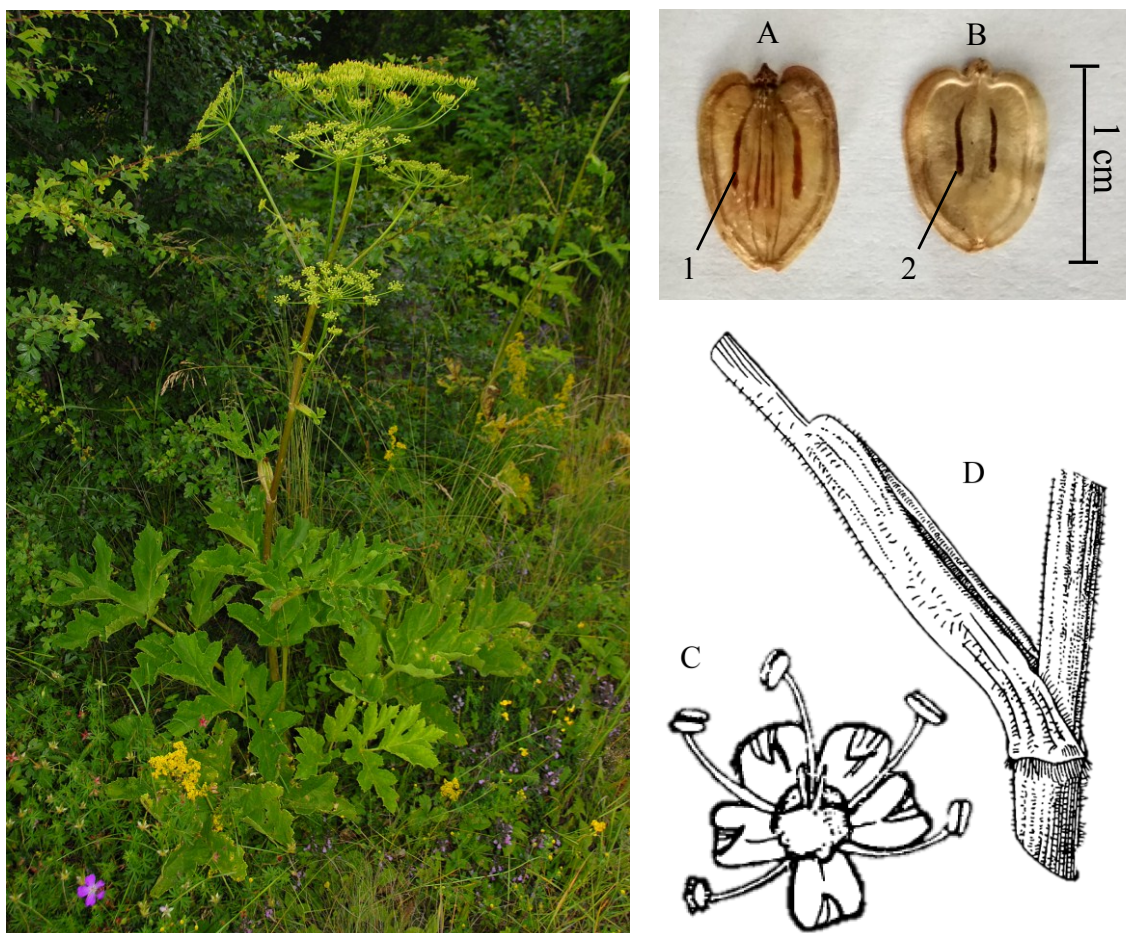


**Slika 2.** *Heracleum sphondylium*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallearularis*), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - *vittae commissuralis*), C - list, D - cvet sa oboda cvasti (slike 2C i D preuzete iz Satzyperova, 1984)

***Heracleum sibiricum* L.**, syn. *H. sphondylium* subsp. *sibiricum* (L.) Simonkai (Nikolić, 1973b; Peev, 1982). Narodni nazivi: mečja šapa, mečja šapa velika (sr.), siberian cow parsnip, siberian hogweed (eng.), сибирски девесил (bg.), борщевик сибирский (ru.) (Nikolić, 1973b; Peev, 1982; Satzyperova, 1984) (**Slika 3**).



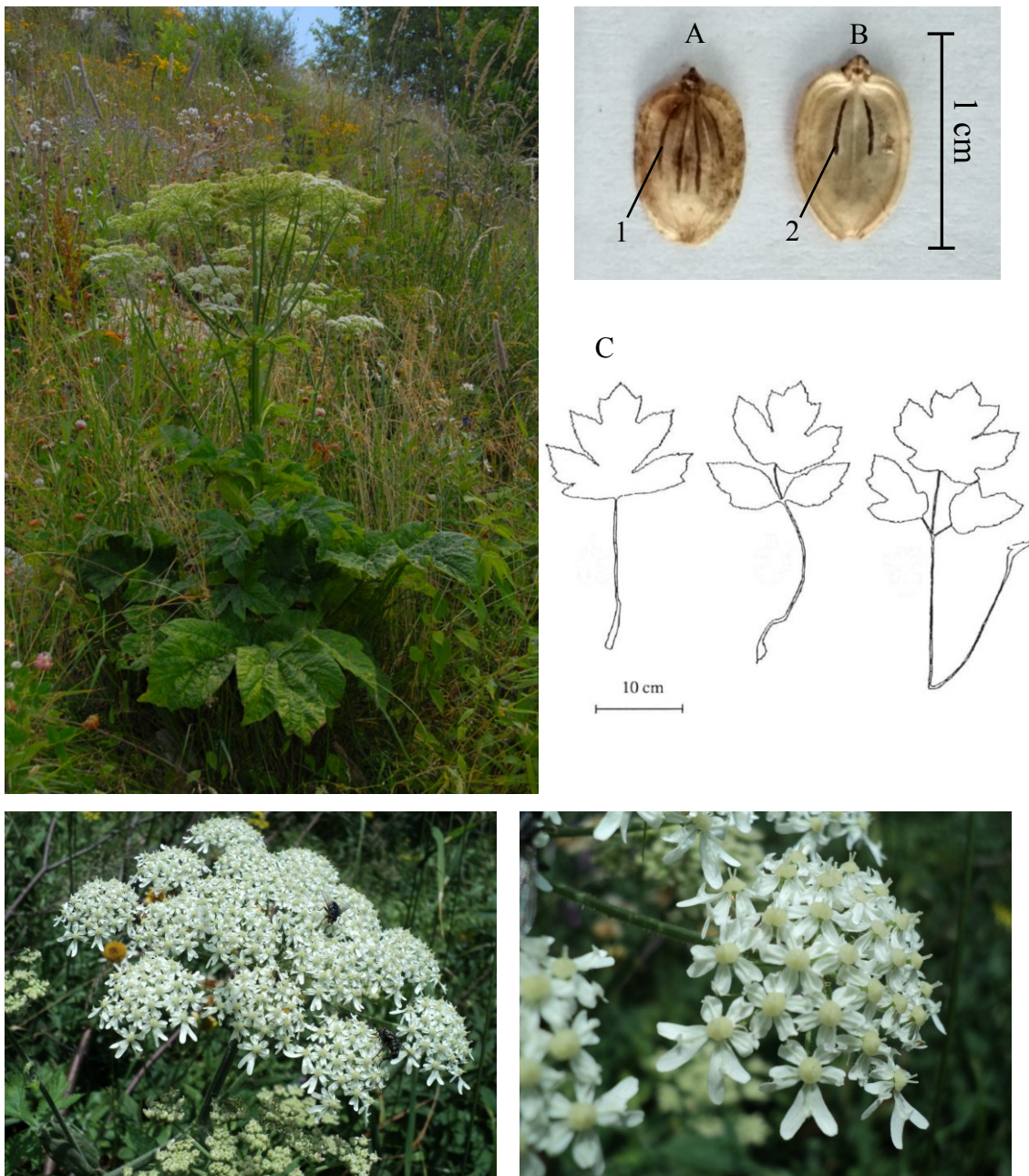
Uglavnom dvogodišnja biljka čiji su veći donji listovi perasto deljeni, sastavljeni od 3-7 srcasto jajastih segmenata. Donji segmenti su na dugim drškama. Po obodu su krupno dvostruko nazubljeni do perasto usečeni. Vršni listovi su izduženi i trorežnjeviti ili trodelni. Na naličju oko nerava su čekinjasto dlakavi. Štitovi su sa 8-20 zrakova. Cvetovi su žućkasti, zelenkasti ili retko purpurni, obodni su aktinomorfne simetrije. Raste pored brdskih potoka, na livadama, pašnjacima i u šumama. Autohtona je u istočnoj Evropi, u Sibiru, na Balkanskom i Skandinavskom poluostrvu, kao i u nekim delovima centralne Evrope. Naturalizovana je u Severnoj Americi (Brummitt, 1968; Euro+Med, 2006–; Hassler, 2018; Nikolić, 1973b; Peev, 1982).



**Slika 3.** *Heracleum sibiricum*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallearis*), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - *vittae commissuralis*), C - cvet sa oboda cvasti, D - deo stabljike sa zalistkom (slike 3C i D preuzete iz Satzyperova, 1984)

***Heracleum montanum* Schleich. ex Gaudin, syn. *H. sphondylium* subsp. *elegans* (Crantz) Schübl. & G. Martens (Brummitt, 1968; Martinčić, 1999). Narodni naziv: mountain hogweed (eng.) (Reduron i sar., 2015) (Slika 4).**

Uglavnom dvogodišnja biljka čiji su veći donji listovi skoro uvek sastavljeni od 3 segmenta, sa naličja ponekad meko vunasto dlakavi. Zrakova ima 12-25(-30). Cvetovi su beli, obodni su zigomorfne simetrije. Rasprostranjena je u planinskim delovima centralne Evrope, međutim njeno stanište se prostire i južno sve do Sicilije i južne Španije, kao i do istočne Rusije (Brummitt, 1968; Martinčić, 1999).



**Slika 4.** *Heracleum montanum*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallearularis*), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - *vittae commissuralis*), C - listovi (slika 4C preuzeta iz Tonascia, 1992)



*Heracleum ternatum* Velen., syn. *H. sphondylium* subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt (Brummitt, 1968; Davis, 1972; Nikolić, 1973b; Peev, 1982). Narodni nazivi: mečja šapa trorežnjevita (sr.), ternate hogweed (eng.), триделен девесил (bg.) (Peev, 1982; Reduron i sar., 2015) (Slika 5).



**Slika 5.** *Heracleum ternatum*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallearularis*), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - *vittae commissuralis*)



Uglavnom dvogodišnja biljka čiji su veći donji listovi skoro uvek sastavljeni od 3 segmenta, koji su obično manje ili više zaobljeni ili zašiljeni. Segmenti su na dugačkim drškama. Srednji segment je veći, srcasto okruglast, sa 3-5 dubokih, po obodu zupčastih isečaka. Na naličju oko nerava su čekinjasto dlakavi. Zrakova ima 10-30. Cvetovi su zelenkasti, obodni su aktinomorfne simetrije. Rasprostranjena je u šumama i šikarama planinskih predela Balkanskog poluostrva i severne i centralne Male Azije, kao i severnih i centralnih Apenina (Brummitt, 1968; Davis, 1972; Nikolić, 1973b; Peev, 1982).

***Heracleum pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (Bertol.) F. Pedrotti & Pignatti, syn. *H. sphondylium* subsp. *pyrenaicum* (Lam.) Bonnier & Layens, *H. pollinianum* Bertol. (Hartvig, 1986; Nikolić, 1973b; Pignatti, 1982). Narodni nazivi: šapica (sr.), Pyrenees hogweed (eng.) (Reduron i sar., 2015; Vračarić i sar., 1977) (Slika 6).**



**Slika 6.** *Heracleum pyrenaicum* subsp. *pollinianum*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - vittae vallearis), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - vittae commissuralis)

Višegodišnja biljka čiji su listovi prosti, perasto usečeni, sa 5-7 šiljatih ili zatupastih, trouglastih i po obodu dvostruko testerastih režnjeva. Na naličju su meko ili



grubo dlakavi, do kovrdžavo maljavi. Zrakova ima 12-45. Cvetovi su beli, obodni su zigomorfne simetrije. Raste po livadama subalpijskog područja, na krečnjačkim osulinama i u šikarama poleglim borova. Rasprostranjena je na planinama zapadnog i centralnog Balkanskog poluostrva, kao i u istočnim Alpima (Hartvig, 1986; Nikolić, 1973b; Pignatti, 1982).

***Heracleum pyrenaicum* subsp. *orsinii* (Guss.) F. Pedrotti & Pignatti, syn. *H. sphondylium* subsp. *orsinii* (Guss.) H. Neumayer, *H. orsinii* Guss. (Brummitt, 1968; Pignatti, 1982). Narodni naziv: šapica (sr.) (Vračarić i sar., 1977) (Slika 7).**



**Slika 7.** *Heracleum pyrenaicum* subsp. *orsinii*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - vittae vallecularis), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - vittae commissuralis)



Višegodišnja biljka čiji su listovi prosti, sa 5-7 šiljatih, zaoštrenih režnjeva, na naličju meko ili grubo dlakavi. Zrakova ima 12-45. Cvetovi su zelenkasti, obodni su aktinomorfne simetrije. Ova biljka je rasprostranjena na krečnjačkim osulinama planina zapadnog Balkanskog poluostrva, kao i severnih i centralnih Apenina (Brummitt, 1968; Pignatti, 1982).

***Heracleum verticillatum* Pančić**, syn. *H. sphondylium* subsp. *verticillatum* (Pančić) Brummitt (Brummitt, 1968; Hartvig, 1986; Matevski, 2005; Nikolić, 1973b; Peev, 1982). Narodni naziv: мъхнат девесил (bg.) (Peev, 1982) (**Slika 8**).



**Slika 8.** *Heracleum verticillatum*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallearis*), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - *vittae commissuralis*)

Uglavnom dvogodišnja biljka čiji su veći donji listovi perasto deljeni, sastavljeni od 5-7 segmenata. Segmenti su često perasto, oštro usečeni i oštro nazubljeni. Listovi (kao i mladi izdanci) su obrasli nežnim, mekim dlakama. Vršni štit je sa 30-40 zrakova. Cvetovi su beli, retko ružičasti, obodni su zigomorfne simetrije. Stabljika je u gornjem delu pršljenasto razgranata.

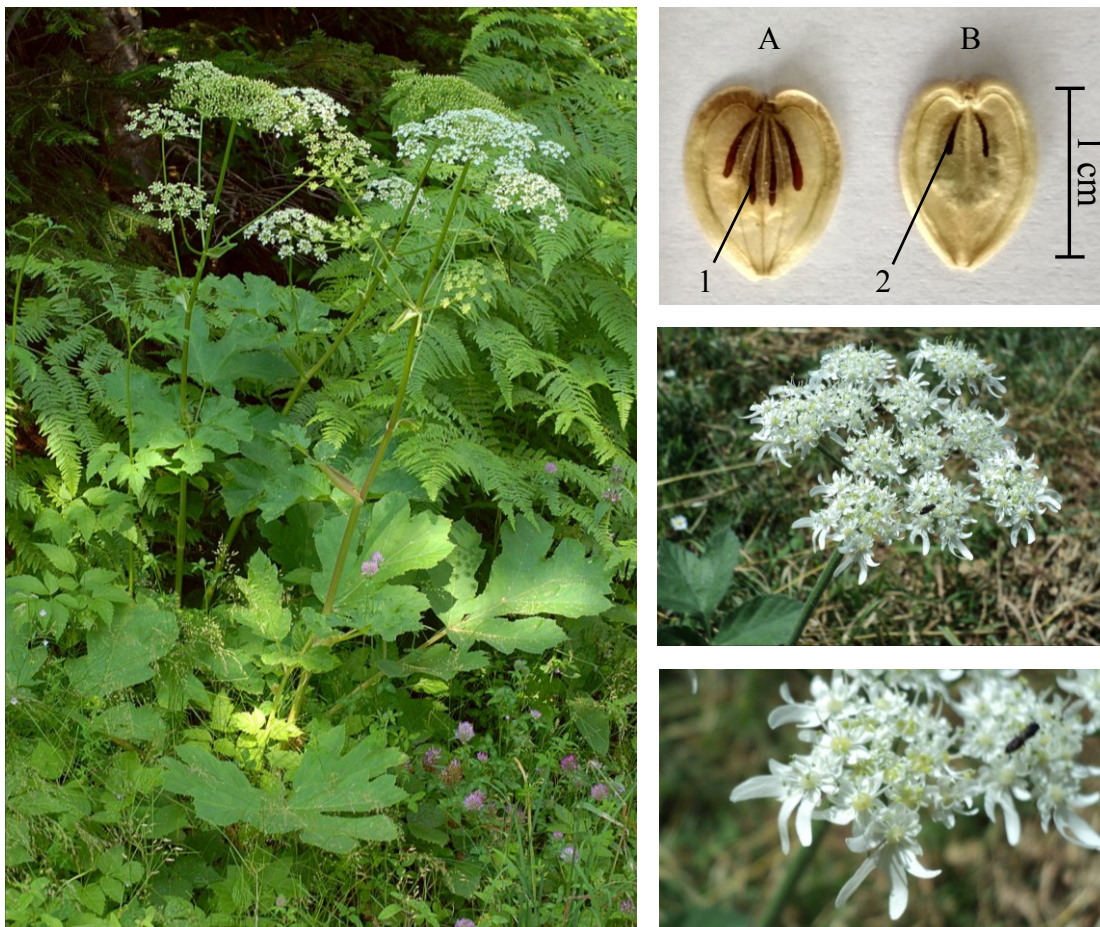
Vrsta je endemska. Njeno rasprostranjenje je ograničeno na silikatne planinske masive centralnog dela Balkanskog poluostrva (istočna Srbija, zapadna i južna Bugarska, severoistočna Grčka i zapadna Makedonija). Nastanjuje vlažna mesta pored planinskih potoka u subalpijskom pojasu (Brummitt, 1968; Hartvig, 1986; Matevski, 2005; Nikolić, 1973b; Peev, 1982).

### **1.1.2. *Heracleum orphanidis* Boiss.**

Višegodišnja biljka sa tankim, rebrastim stablom, visine do 50 cm, koje je u gornjem delu malo granato, maljavo ili žlezdasto dlakavo. Listovi su trodelni, ređe nedeljeni, trorežnjeviti, srcasti ili okruglasti, razređeno kratko dlakavi. Lisni režnjevi su po obodu krupno tupo nazubljeni, 2 bočna segmenta su klinasto jajasta, a središnji je trodelan. Štit je sa 6-9 žlezdasto dlakavih zrakova, prečnika oko 5 cm. Cvetovi su beli, obodni su zigomorfne simetrije. Involukruma nema, involuceum je sastavljen od sitnih linearnih listića. Plodnik je dlakav. Šizokarpijum je široko jajast ili okruglast, veličine oko 10 mm, sa neznatno izraženim rebrima (**Slika 9**).

Endemska je vrsta centralnog dela Balkanskog poluostrva (Makedonija, severna Grčka i južna Srbija) i nastanjuje šume makedonskog bora (*Pinus peuce* Griseb.) i subalpijske pašnjake sa silikatnim zemljištem (Hartvig, 1986; Matevski, 2005; Stevanović, 1986).





**Slika 9.** *Heracleum orphanidis*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallecularis*), B - ventralna strana merikarpijuma (2 - *vittae commissuralis*)

### 1.2. *Heracleum austriacum* subsp. *siifolium* (Scop.) Nyman iz sekcije *Wendia*

*Vittae vallecularis* predstavnika sekcije *Wendia* su manje-više podjednako široke celom dužinom, ponekad zauzimaju i polovinu širine brazdi i obično se pružaju do između trećine i polovine merikarpijuma. *Vittae commissuralis* izostaju. Cvetovi su beli ili ružičasti (Mandenova, 1951).

*Heracleum austriacum* subsp. *siifolium* je višegodišnja biljka sa tankim poprečno ispruganim rizomom. Visine je 40-65 cm, u donjem delu gola, a u gornjem obično dlakava. Listovi su perasto deljeni, sa 2-3 para segmenata. Lisne drške i listovi su sa obe strane mestimično dlakavi, retko goli. Segmenti su sedeći (retko najniži sa kratkom drškom), okrugli, ponekad urezani kod baze, i tupo ili testerasto nazubljeni. Štit je sa 5-12 dlakavih zrakova, prečnika do 9 cm. Linearne ili trouglaste brakteje i brakteole su obično prisutne. Krunični listići su ružičasti ili crveni, obodni cvetovi su zigomorfne

simetrije. Šizokarpijum je  $6-9 \times 7-11$  mm, obično široko objajast (**Slika 10**). Endemska je podvrsta jugoistočnih Alpa (Brummitt, 1968; Pignatti, 1982).



**Slika 10.** *Heracleum austriacum* subsp. *siifolium*: A - dorzalna strana merikarpijuma (1 - *vittae vallecularis*), B - ventralna strana merikarpijuma (*vittae commissuralis* izostaju)

## 2. Sekundarni metaboliti vrsta roda *Heracleum*

Vrste roda *Heracleum* su aromatične biljke. Najveći sadržaj etarskog ulja obično je u plodovima. Za sve biljne organe, prvenstveno koren i plodove, takođe je karakteristično i prisustvo kumarina, najčešće furanokumarina. Od ostalih sekundarnih metabolita, u taksonima roda *Heracleum* identifikovani su poliacetileni, fitosteroli, lignani, iridoidi, flavonoidi, fenilpropani, fenoli i fenolkarboksilne kiseline, kao i jedan antrahinon i alkaloid (Bahadori i sar., 2016).

### 2.1. Etarska ulja

U **Tabeli 1** prikazani su literaturni podaci koji se odnose na prinos i hemijski sastav do sada ispitivanih etarskih ulja biljaka ovog roda, izolovanih destilacijom vodenom parom. Najveći broj ovih podataka odnosi se na etarska ulja izolovana iz plodova. U većini slučajeva njihovi dominantni sastojci su bili alifatični estri (Başer, 2002). Pretpostavlja se da je biološka funkcija alifatičnih estara solubilizacija fototoksičnih furanokumarina i povećanje njihove apsorpcije kroz kožu ili u digestivnom traktu. Na taj način oni doprinose odbrambenoj funkciji furanokumarina (Maggi i sar., 2014). Najčešći su estri *n*-oktanol, uglavnom oktilacetat, a slede ga oktilheksanoat i oktiloktanoat. Značajno je istaći i prisustvo estara *n*-heksanola, prvenstveno heksilbutanoata (Bahadori i sar., 2016).

Bicchi i sar. (1990) ispitivali su i sastav etarskih ulja izolovanih direktno iz pojedinih sekretornih kanala plodova *H. sphondylium*. Plodovi su sakupljeni u avgustu i septembru u blizini Trenta u Italiji. Etarska ulja su direktno uzorkovana isecanjem bočnih rebara zajedno sa sprovodnim snopićima i sekretornim kanalima (*vittae intrajugalis*), kao i delova sa sekretornim kanalima sa ventralne strane (*vittae commissuralis*). Etarska ulja su iz isečenih delova ekstrahovana heksanom i analizirana gasnom hromatografijom. Etarsko ulje koje je izolovano iz *vittae commissuralis* bilo je bogato alifatičnim estrima, prvenstveno oktilacetatom (34,6 i 18,1%) i oktilheksanoatom (24,5 i 30,5%), a etarsko ulje izolovano iz *vittae intrajugalis* pretežno je sadržalo terpene, najviše limonen (5,8 i 36,8%). Dodatno, u etarskom ulju izolovanom iz *vittae commissuralis* detektovani su furanokumarini. Isti autori su analizirali i sastav etarskog ulja izolovanog iz celog ploda destilacijom vodenom parom. Odsustvo slabije isparljivih jedinjenja, tj. furanokumarina, iz etarskog ulja izolovanog



na ovaj način ukazalo je da metoda izolovanja utiče na sastav etarskog ulja (Bicchi i sar., 1990).

Za razliku od većine prethodno ispitivanih etarskih ulja plodova taksona roda *Heracleum* u kojima su dominirali alifatični estri, u uljima plodova nekih azijskih vrsta ovog roda najzastupljeniji su bili monoterpeni, npr.  $\beta$ -pinen (22,3%) u ulju *H. aquilegifolium*, bornilacetat (51,2%) u ulju *H. rigens*, i limonen (70,0%) u ulju *H. candolleianum* (Jagannath i sar., 2012; John i sar., 2007; Karuppusamy i Muthuraja, 2010). Zajedničko za ove vrste je da sa još nekoliko srednjeazijskih i indohimalajskih taksona spadaju u *H. sect. Tetrataenium* DC., a u nekim klasifikacijama i u poseban rod *Tetrataenium* (DC.) Manden. (Satzyperova, 1984).

Sastav etarskih ulja ostalih delova i organa taksona roda *Heracleum* bio je mnogo raznovrsniji. Naime, u etarskim uljima nadzemnih delova u cvetu ili plodu, kao i u uljima listova, cvasti i podzemnih organa, među najzastupljenijim komponentama nalazili su se različiti monoterpeni, seskviterpeni, fenilpropani i alifatični estri. U etarskim uljima stabljika dominirali su monoterpeni, fenilpropani i alifatični estri, dok seskviterpeni jesu bili prisutni, ali nisu bili dominantni (Bahadori i sar., 2016; Mojab i Nickavar, 2003; Tkachenko, 1994).

Od taksona koji su predmet ove doktorske disertacije, pored etarskog ulja plodova *H. sphondylium* (osim u blizini Trenta u Italiji, sakupljenih i u Trondhajmu u Norveškoj i Treflezu u Francuskoj), do sada je ispitivan hemijski sastav ulja stabljika, listova i cvasti ove vrste (iz okoline Trenta) (Bicchi i sar., 1990; Falahati-Anbaran i sar., 2018; Pavela i sar., 2017), kao i ulja plodova *H. ternatum* (sakupljenih u okolini Denizlija i Ankare u Turskoj, i na Sibilinskim planinama i Umbrijsko-Markeškim Apeninima u Italiji) (İşcan i sar., 2003; 2004; Maggi i sar., 2014; Pavela i sar., 2017), i nadzemnih delova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (sakupljenih na planini Eta u Grčkoj, kao *H. sphondylium* subsp. *pyrenaicum*), *H. sibiricum* (sakupljenih na planini Vidlič u Srbiji) i *H. orphanidis* (sakupljenih na planini Baba u Makedoniji) (Evergetis i sar., 2009; Miladinović i sar., 2013; Mileski i sar., 2016).



**Tabela 1.** Prinosi i najzastupljenije komponente prethodno ispitivanih etarskih ulja taksona roda *Heracleum*

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. afghanicum</i> Kitam.	Plodovi	1,5 ( <i>V/m</i> )	Heksilbutanoat (34,3), oktilacetat (21,1), oktilbutanoat (6,9).	Karimi i Ito, 2012
<i>H. anisactis</i> Boiss. & Hohen.	Plodovi	0,8 ( <i>m/m</i> )	Oktilacetat (48,7), oktilbutanoat (16,8), oktil-2-metilbutanoat (7,8).	Radjabian i sar., 2014
<i>H. antasiaticum</i> Manden.	Plodovi	4,8	Etilkaprilat (29,8), heksilbutanoat (21,5), oktilacetat (17,4).	Ibadullaeva, 2000
<i>H. aquilegifolium</i> C.B. Clarke	Plodovi	1,3 ( <i>V/m</i> )	$\beta$ -Pinen (22,3), 1,8-cineol (20,3), $\beta$ -felandren (12,4).	Karuppusamy i Muthuraja, 2010
<i>H. argaeum</i> Boiss. & Balansa	Plodovi	1,2	Heksilbutanoat (39,1), oktilacetat (7,1), oktilbutanoat (6,1).	Başer i sar., 1998
<i>H. candolleanum</i> Gamble	Plodovi	0,5 ( <i>V/m</i> )	Limonen (70,0), oktilacetat (7,2), bornilacetat (5,8).	John i sar., 2007
<i>H. candolleanum</i>	Plodovi	0,4	Metilcinamat (22,4), heksilheksanoat (21,7), <i>n</i> -oktanol (11,8).	Purushothaman i Ravi, 2013
<i>H. crenatifolium</i> Boiss.	Plodovi	5,5	Oktilacetat (88,4), <i>n</i> -oktanol (3,1), ( <i>Z</i> )-4-oktenilacetat (1,0).	Tosun i sar., 2008
<i>H. crenatifolium</i>	Plodovi	3,7 ( <i>m/m</i> )	Oktilacetat (93,7), <i>n</i> -oktanol (1,1), oktilizovalerat (1,0).	İşcan i sar., 2004
<i>H. dulce</i> Fisch.	Plodovi	2,4-3,1	Oktilacetat (40,0), oktilbutanoat (26,0), oktiloktanoat (20,0).	Tkachenko, 1993
<i>H. gorganicum</i> Rech. f.	Plodovi	3,1 ( <i>m/m</i> )	Heksilbutanoat (33,2), oktilacetat (18,4), heksil-2-metilbutanoat (10,3).	Radjabian i sar., 2014
<i>H. grandiflorum</i> Steven ex M. Bieb.	Plodovi	4,4-4,7	Oktilacetat (39,0), oktilheksanoat (13,0), oktilbutanoat (7,0).	Tkachenko, 1993
<i>H. lasiopetalum</i> Boiss.	Plodovi	0,3 ( <i>V/m</i> )	2-Etilheksilacetat (34,5), <i>n</i> -oktanol (6,5), <i>n</i> -heksanol (5,1).	Pirbalouti i sar., 2013
<i>H. leskovii</i> Grossh.	Plodovi	4,3-7,4	Oktilacetat (65,0), oktilbutanoat (9,3), oktiloktanoat (6,1).	Tkachenko, 1993
<i>H. mantegazzianum</i> Sommier & Levier	Plodovi	5,5-7,1	Oktilbutanoat (32,0), oktilacetat (18,0), heksilbutanoat (9,2).	Tkachenko, 1993

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	3,0	Oktilacetat (19,9), heksil-2-metilbutanoat (10,8), <i>n</i> -oktanol (10,1).	Skalicka-Woźniak i sar., 2017
<i>H. maximum</i> W. Bartram	Plodovi	0,4	Oktilacetat (65,6), oktilbutanoat (7,9), <i>n</i> -oktanol (6,2).	St-Gelais i sar., 2017
<i>H. moellendorffii</i> Hance	Plodovi	6,4 ( <i>V/m</i> )	Oktilacetat (63,8), oktilbutanoat (12,2), <i>n</i> -oktanol (11,5).	Li i sar., 2013
<i>H. moellendorffii</i>	Plodovi	2,4-3,1	Oktilacetat (51,0), oktilbutanoat (13,4), oktiloktanoat (10,2).	Tkachenko, 1993
<i>H. nanum</i> Satzyp.	Plodovi	4,2-7,1	Oktilacetat (41,0), oktilbutanoat (20,0), heksilbutanoat (7,4).	Tkachenko, 1993
<i>H. paphlagonicum</i> Czeczott	Plodovi	7,4	Oktilacetat (31,5), heksilbutanoat (17,0), oktilheksanoat (10,2).	Başer i sar., 2000
<i>H. pastinacifolium</i> K. Koch	Plodovi	1,1 ( <i>m/m</i> )	Oktilacetat (59,5), oktilbutanoat (9,7), oktil-2-metilbutanoat (7,8).	Radjabian i sar., 2014
<i>H. persicum</i> Desf.	Plodovi	1,6 ( <i>m/m</i> )	Heksilbutanoat (50,6), oktilacetat (9,8), heksilheksanoat (8,7).	Ebadollahi i sar., 2014
<i>H. persicum</i>	Plodovi	3,8 ( <i>m/m</i> )	Oktilacetat (20,5), heksilbutanoat (17,7), oktil-2-metilbutanoat (10,0).	Radjabian i sar., 2014
<i>H. persicum</i>	Plodovi	4,0 ( <i>V/m</i> )	Heksilbutanoat (56,5), oktilacetat (16,5), heksil-2-metilbutanoat (5,2).	Hajhashemi i sar., 2009
<i>H. persicum</i>	Plodovi	–	Heksilbutanoat (39,0), oktilacetat (22,3), ( <i>E</i> )-4-dodecenilacetat (7,8).	Moshafi i sar., 2009
<i>H. persicum</i>	Plodovi (17 populacija)	1,6-4,9 ( <i>m/m</i> )	Oktilacetat (7,5-40,8), heksilbutanoat (13,3-43,8), heksil-2-metilbutanoat (4,8-11,9).	Radjabian i sar., 2013
<i>H. persicum</i>	Plodovi (10 populacija)	2,2-8,3	Heksilbutanoat (14,5-26,41), oktilacetat (13,8-24,5), oktil-2-metilbutanoat (1,1-9,9).	Hasani i sar., 2017

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. persicum</i>	Plodovi (nezreli)	5,23 (m/m)	Heksilbutanoat (22,5), oktilacetat (19,0), heksilizobutanoat (9,1).	Sefidkon i sar., 2004
<i>H. persicum</i>	Plodovi (zreli)	3,7 (m/m)	Heksilbutanoat (35,5), oktilacetat (27,0), heksilizobutanoat (3,2).	Sefidkon i sar., 2004
<i>H. platytaenium</i> Boiss.	Plodovi	5,2	Oktilacetat (72,3), heksilbutanoat (2,3), <i>n</i> -oktanol (2,1).	Kürkçüoğlu i sar., 1995
<i>H. platytaenium</i>	Plodovi	6,8	Oktilacetat (76,7), heksilbutanoat (2,5), <i>n</i> -oktanol (1,1).	Kürkçüoğlu i sar., 1995
<i>H. platytaenium</i>	Plodovi	–	Oktilacetat (85,5), oktilheksanoat (3,1), ( <i>Z</i> )-4-oktenilacetat (1,6).	Akcin i sar., 2013
<i>H. platytaenium</i>	Plodovi	6,5 (V/m)	Oktilacetat (87,9).	Özkırım i sar., 2012
<i>H. platytaenium</i>	Plodovi	2,0 (m/m)	Oktilacetat (87,6), oktilheksanoat (3,0), ( <i>Z</i> )-4-oktenilacetat (2,1).	İşcan i sar., 2004
<i>H. rawianum</i> C.C. Towns.	Plodovi	1,9 (m/m)	Oktilacetat (75,4), heksilbutanoat (6,6), oktilbutanoat (4,4).	Radjabian i sar., 2014
<i>H. rechingeri</i> Manden.	Plodovi	2,2 (m/m)	Heksilbutanoat (38,4), oktilacetat (13,8), heksil-2-metilbutanoat (7,5).	Radjabian i sar., 2014
<i>H. rechingeri</i>	Plodovi	1,8 (m/m)	Oktilacetat (95,3), elemicin (2,5), <i>n</i> -oktanal (1,2).	Najafabadi i sar., 2011
<i>H. rigens</i> Wall.	Plodovi	–	Bornilacetat (51,2), $\alpha$ -pinen (22,6), limonen (9,6).	Jagannath i sar., 2012
<i>H. siamicum</i> Craib	Plodovi	1,2 (m/m)	Oktilacetat (65,3), o-cimen (10,3), limonen (7,5).	Kuljanabgavad i sar., 2011
<i>H. sosnowskyi</i> Manden.	Plodovi	5,1	Oktilacetat (39,5), heksil-2-metilbutanoat (14,4), <i>n</i> -oktanol (8,6).	Synowiec i Kalemba, 2015
<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	0,7 (m/m)	Oktilacetat (66,6), oktil-2-metilbutanoat (6,8), oktilizobutanoat (4,6).	Pavela i sar., 2017
<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	–	Oktilacetat (78,7), oktilbutanoat (5,7), apiol (2,3).	Falahati-Anbaran i sar., 2018
<i>H. ternatum</i>	Plodovi	5,3 (m/m)	Oktilbutanoat (37,7), oktilacetat (31,6), apiol (9,3).	İşcan i sar., 2004

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. ternatum</i>	Plodovi	3,7 (m/m)	<i>n</i> -Oktanol (50,3), oktilbutanoat (24,6), oktilacetat (7,3).	İşcan i sar., 2003
<i>H. ternatum</i>	Plodovi <sup>1</sup>	0,4	Oktilacetat (60,2 i 61,0), oktilbutanoat (10,1 i 9,4), oktilheksanoat (4,8 i 8,3).	Maggi i sar., 2014; Pavela i sar., 2017
<i>H. ternatum</i>	Plodovi	0,4	Oktilacetat (54,9), oktilbutanoat (13,4), <i>n</i> -oktanol (4,0).	Maggi i sar., 2014
<i>H. sprengelianum</i> Wight & Arn.	Plodovi	1,1 (V/m)	$\beta$ -Pinen (22,3), 1,8-cineol (20,3), $\beta$ -felandren (12,4).	Karuppusamy i Muthuraja, 2011
<i>H. antasiaticum</i>	Cvasti	0,8	Oktil-4-metilvalerat (86,0).	Tkachenko i Zenkevich, 1993
<i>H. persicum</i>	Cvasti	0,8 (m/m)	( <i>E</i> )-Anetol (38,6), $\gamma$ -terpinen (17,8), mircen (13,5).	Sefidkon i sar., 2002
<i>H. rechingeri</i>	Cvasti	0,8 (m/m)	Elemicin (39,5), oktilacetat (25,0), ( <i>E</i> )-kariofilen (10,3).	Najafabadi i sar., 2011
<i>H. stevenii</i>	Cvasti	0,3	Oktilacetat (73,0), mircen (5,1), sabinen (4,1).	Tkachenko, 1994
<i>H. aconitifolium</i> Woronow	Listovi	0,1	Limonen (13,9), $\beta$ -elemene (9,2), <i>p</i> -cimen (3,7).	Tkachenko, 2010
<i>H. antasiaticum</i>	Listovi	0,2	Oktilacetat (44,7), $\alpha$ -zingiberen (7,4), miristicin (6,1).	Tkachenko, 2010
<i>H. candicans</i> Wall. ex DC.	Listovi	–	Germakren D (29,5), sabinen (12,4), $\alpha$ -pinen (5,7).	Chauhan i sar., 2014
<i>H. candicans</i>	Listovi	0,3 (V/m)	Germakren D (18,5), 1,8-cineol (11,8), sabinen (2,9).	Joshi, 2016
<i>H. candolleanum</i>	Listovi	0,1 (V/m)	Sabinen (13,2), limonen (9,2), ( <i>E</i> )-kariofilen (8,6).	John i sar., 2007
<i>H. leskovii</i>	Listovi	0,1	Limonen (15,3), oktilacetat (12,3), citronelilacetat (9,5).	Tkachenko, 2010
<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	0,3	Limonen (50,4), ( <i>E</i> )-anetol (20,7), $\gamma$ -terpinen (4,4).	Tkachenko, 2010

<sup>1</sup> Sakupljeni na Umbrijsko-Markeškim Apeninima 2011. god. (Maggi i sar., 2014) i 2015. god. (Pavela i sar., 2017).

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. persicum</i>	Listovi	1,1 (m/m)	(E)-Anetol (60,2), (E)- $\beta$ -ocimen (8,4), terpinolen (7,7).	Sefidkon i sar., 2002
<i>H. rechingeri</i>	Listovi	0,4 (m/m)	Oktilacetat (29,5), elemicin (23,1), (E)-kariofilen (9,3).	Habibi i sar., 2010
<i>H. sprengelianum</i>	Listovi	1,3 (V/m)	1,8-Cineol (21,2), $\beta$ -pinen (16,2), $\beta$ -felandren (11,3).	Karuppusamy i Muthuraja, 2011
<i>H. stevenii</i>	Listovi	0,03-0,04	Oktilacetat (35,0), oktiloktanoat (15,0), oktil-4-metilvalerat (12,0).	Tkachenko, 1994
<i>H. stevenii</i>	Listovi	0,03-0,04	Oktilacetat (30,0), oktiloktanoat (19,0), limonen (1,1).	Tkachenko, 1994
<i>H. voroschilovii</i> Gorovoj	Listovi	0,1	$\beta$ -Elemene (10,8), amil-3-metilbutanoat (10,5), limonen (7,9).	Tkachenko, 2010
<i>H. wilhelmsii</i> Fisch. & C.A. Mey.	Listovi	0,3	Limonen (60,2), $\alpha$ -tujen (7,1), 4-terpinenol (5,9).	Tkachenko, 2010
<i>H. persicum</i>	Listovi	0,9 (m/m)	(E)-Anetol (47,5), 1-(4-metoksifenil)-2-propanon (18,1), anisaldehyd (8,9).	Sefidkon i sar., 2002
<i>H. anisactis</i>	Herba	0,3 (V/m)	Miristicin (93,5).	Torbati i sar., 2013
<i>H. dissectum</i> Ledeb.	Herba	0,1 (m/m)	$\alpha$ -Pinen (22,2), mircen (10,9), kesan (8,8).	Papageorgiou i sar., 1985
<i>H. lanatum</i> Michx.	Herba	0,1 (V/m)	$\beta$ -Felandren (14,0), lavandulilacetat (8,9), biciklogermakren (7,9).	Kharkwal i sar., 2014
<i>H. moellendorffii</i>	Herba	0,7 (V/m)	Apiol (11,0), $\beta$ -pinen (9,2), $\alpha$ -terpineol (7,5).	Chu i sar., 2012
<i>H. orphanidis</i>	Herba	0,08 (m/m)	n-Oktanol (39,6), oktilheksanoat (17,6), oktilacetat (14,1).	Mileski i sar., 2016
<i>H. pastinacifolium</i>	Herba	0,1	Miristicin (53,6), (Z)- <i>trans</i> - $\alpha$ -bergamoten (10,6), limonen (7,3).	Firuzi i sar., 2010
<i>H. persicum</i>	Herba	–	Heksilbutanoat (30,2), oktilacetat (12,8), etildekanoat (12,7).	Shokri i sar., 2012

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. persicum</i>	Herba	0,2	( <i>E</i> )-Anetol (25,0), oktil-2-metilbutanoat (14,2), heksilbutanoat (10,0).	Firuzi i sar., 2010
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>pollinianum</i>	Herba	0,06 ( <i>V/m</i> )	Oktilacetat (17,4), limonen (13,1), ( <i>E</i> )-kariofilen (6,5).	Evergetis i sar., 2009
<i>H. rechingeri</i>	Herba	0,2	Heksilbutanoat (29,7), oktilbutanoat (10,1), oktilacetat (9,0).	Firuzi i sar., 2010
<i>H. sibiricum</i>	Herba	0,6 ( <i>m/m</i> )	Oktilbutanoat (36,8), heksilbutanoat (16,1), <i>n</i> -oktanol (13,6).	Miladinović i sar., 2013
<i>H. thomsonii</i> C.B. Clarke	Herba	0,3 ( <i>m/m</i> )	Nerilacetat (36,2), terpinolen (22,2), nerol (9,5).	Guleria i sar., 2011
<i>H. transcaucasicum</i> Manden.	Herba	0,1	Elemicin (41,1), pogostol (8,6), miristicin (8,2).	Firuzi i sar., 2010
<i>H. transcaucasicum</i>	Herba	0,2 ( <i>V/m</i> )	Miristicin (70,0), <i>n</i> -oktanol (14,3), oktilacetat (7,8).	Torbati i sar., 2013
<i>H. maximum</i>	Stabljike	0,02	Limonen (45,2), sabinen (9,5), $\alpha$ -tujen (7,7).	St-Gelais i sar., 2017
<i>H. persicum</i>	Stabljike	0,4 ( <i>m/m</i> )	( <i>E</i> )-Anetol (47,0), terpinolen (20,0), $\gamma$ -terpinen (11,6).	Sefidkon i sar., 2004
<i>H. persicum</i>	Stabljike	0,5 ( <i>m/m</i> )	( <i>E</i> )-Anetol (60,2), terpinolen (11,3), $\gamma$ -terpinen (7,1).	Sefidkon i sar., 2004
<i>H. rechingeri</i>	Stabljike	0,2 ( <i>m/m</i> )	Elemicin (37,7), oktilacetat (26,5), $\gamma$ -terpinen (8,8).	Najafabadi i sar., 2011
<i>H. stevenii</i>	Stabljike	0,06	Oktilacetat (28,0), oktilheksanoat (22,0), oktiloktanoat (10,4).	Tkachenko, 1994
<i>H. anisactis</i>	Koren	1,3 ( <i>V/m</i> )	Miristicin (95,1), ( <i>Z</i> )-izoelemicin (0,8), nerolidol (0,4).	Torbati i sar., 2014
<i>H. asperum</i> M. Bieb.	Koren	–	$\beta$ -Pinen (22,4), ocimen (4,5), $\gamma$ -terpinen (3,6).	Tkachenko, 2009
<i>H. calcareum</i> Albov var. <i>colhicum</i> (Lipsky) Satzyp.	Koren	0,1	$\beta$ -Pinen (17,8), oktilacetat (14,7), mircen (12,5).	Tkachenko, 2009
<i>H. chorodanum</i> DC.	Koren	0,1	Ocimen (14,5), oktilacetat (9,9), oktilizobutanoat (9,8).	Tkachenko, 2009
<i>H. dulce</i>	Koren	–	$\beta$ -Pinen (33,9), $\alpha$ -pinen (12,6), <i>trans</i> -aloocimen (7,8).	Tkachenko, 2009
<i>H. lehmannianum</i> Bunge	Koren	–	<i>trans</i> -Aloocimen (24,7), ocimen (20,1), $\beta$ -pinen (17,6).	Tkachenko, 2009

Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo (%)	Prinos (%)	Najzastupljenije komponente ulja (%)	Referenca
<i>H. lehmannianum</i>	Koren	–	<i>trans</i> -Aloocimen (26,0), ocimen (24,0), $\beta$ -pinen (21,0).	Tkachenko, 2009
<i>H. mandenovae</i> Satzyp.	Koren	0,3	<i>trans</i> -Aloocimen (28,0), ocimen (23,2), $\beta$ -pinen (18,1).	Tkachenko, 2009
<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	0,2	Oktilacetat (14,7), ocimen (13,4), mircen (12,5).	Tkachenko, 2009
<i>H. persicum</i>	Koren	0,1	Viridiflorol (23,0), elemol (3,6), 2-tetradekanol (3,4).	Mojab i Nickavar, 2003
<i>H. platytaenium</i>	Koren	4,0	<i>p</i> -Cimen (33,9), terpinolen (14,3), $\gamma$ -terpinen (7,1).	Kılıç i sar., 2016
<i>H. ponticum</i> Schischk. ex Grossh.	Koren	0,6	$\beta$ -Pinen (23,1), ocimen (18,9), mircen (7,9).	Tkachenko, 2009
<i>H. ponticum</i>	Koren	0,6	$\beta$ -Pinen (36,0), ocimen (12,0), $\alpha$ -terpinen (8,5).	Tkachenko, 2009
<i>H. pubescens</i>	Koren	0,5	$\beta$ -Pinen (23,9), ocimen (19,7), mircen (7,9).	Tkachenko, 2009
<i>H. roseum</i> Steven	Koren	0,2	Oktilizobutanoat (14,7), ocimen (13,7), oktilacetat (13,1).	Tkachenko, 2009
<i>H. stevenii</i>	Koren	0,3	Oktilacetat (33,0), limonen (19,4), oktiloktanoat (15,8).	Tkachenko, 2009
<i>H. stevenii</i>	Koren	0,3	Oktilacetat (35,0), limonen (20,0), oktiloktanoat (18,0).	Tkachenko, 2009
<i>H. transcaucasicum</i>	Koren	1,7 ( <i>V/m</i> )	Miristicin (96,9), apiol (1,9), eugenol (0,12).	Torbati i sar., 2014
<i>H. voroschilowii</i> Gorovoj	Koren	0,3	$\beta$ -Pinen (23,0), <i>trans</i> -aloocimen (22,5), ocimen (20,0).	Tkachenko, 2009
<i>H. wilhelmsii</i>	Koren	0,6	$\beta$ -Pinen (39,0), ocimen (10,9), mircen (8,2).	Tkachenko, 2009
<i>H. candolleianum</i>	Rizom	1,0	$\alpha$ -Pinen (18,9), bornilen (18,6), oktilacetat (11,9).	George i sar., 2001
<i>H. sprengelianum</i>	Rizom	0,7 ( <i>V/m</i> )	1,8-Cineol (23,1), $\beta$ -pinen (21,8), $\beta$ -felandren (15,2).	Karuppusamy i Muthuraja, 2011

## 2.2. Kumarini

U **Tabeli 2** prikazani su kumarini do sada identifikovani u taksonima roda *Heracleum*. Najčešći jednostavni kumarini izolovani iz podzemnih i nadzemnih organa su umbeliferon (7-hidroksikumarin) i skopoletin (6-metoksiumbeliferon). Njihova biosinteza se odvija preko *p*-kumarne kiseline (*p*-hidroksi-*trans*-cimetne kiseline) (Dewick, 2009), koja je prethodno takođe identifikovana u različitim organima ovih vrsta, npr. u korenu, listovima, cvasti i plodovima *H. sphondylium* (Benedec i sar., 2017). Od prenilovanih jednostavnih kumarina izolovani su npr. ostol (metilovani 8-prenilumbeliferon) iz korena *H. pastinacifolium* i *H. canescens* (Kasumova i Serkerov, 2011; Razdan i sar., 1982) i suberozin (metilovani 6-prenilumbeliferon) iz listova *H. moellendorffii* (Jeon i sar., 2017). 6- i 8-Prenilumbeliferon su intermedijeri u biosintezi furanokumarina, dominantnih sekundarnih metabolita biljaka roda *Heracleum*, uz komponente etarskih ulja. Naime, ciklizacijom 6-, odnosno 8-prenilumbeliferona, preko dihidrofuranokumarina marmezina, odnosno kolumbijanetina, sintetišu se psoralen (linearni furanokumarin), odnosno angelicin (angularni furanokumarin) (Dewick, 2009). Psoralen i angelicin su prethodno identifikovani u podzemnim i nadzemnim organima većeg broja taksona roda *Heracleum*, marmezin i kolumbijanetin u nadzemnim delovima *H. grandiflorum* (Akhmedov i Serkerov, 1998), a kolumbijanetin i u korenu *H. brunonis* (Khetwal i sar., 1987). Na sličan način nastaju i piranokumarini. Međutim, jedna od hemosistematskih karakteristika biljaka roda *Heracleum* je da ne sadrže piranokumarine (Khetwal i sar., 1987).

Furanokumarini mogu biti supstituisani hidroksilnim grupama, npr. ksantotoksol (8-hidroksipsoralen) izolovan iz korena *H. dissectum* (Zhang i sar., 2017a), ali ova jedinjenja su prvenstveno intermedijeri u biosintezi najčešćih furanokumarina biljaka roda *Heracleum*, supstituisanih metoksi ili prenil grupama (linearni najčešće u položajima 5 i/ili 8, a angularni u položajima 5 i/ili 6) (Dewick, 2009). Utvrđeno je da je ksantotoksin (8-metoksipsoralen, 8-MOP) prisutan u najmanje 14, bergapten (5-metoksipsoralen, 5-MOP) u 15, izopimpinelin (5,8-dimetoksipsoralen) u 14, sfondin (6-metoksiangelicin) u 12, izobergapten (5-metoksiangelicin) u 11, pimpinelin (5,6-dimetoksiangelicin) u 13, a imperatorin (8-preniloksipsoralen) u 10 taksona ovog roda. Furanokumarini supstituisani metoksi i/ili prenil grupama prethodno su identifikovani i u taksonima ispitivanim u okviru ove doktorske disertacije, tj. u korenu i plodovima



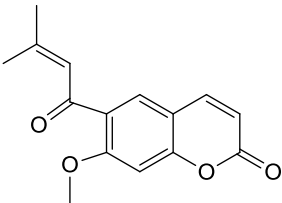
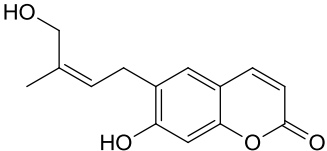
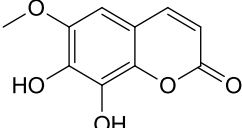
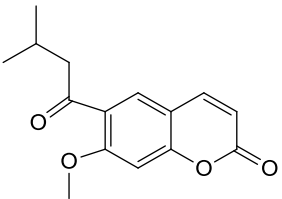
*H. spondylium* i *H. sibiricum* (Bogucka-Kocka, 1999; Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; Cieřla i sar., 2008; Erdelmeier i sar., 1985), kulturi ćelija kalusa osovine cvasti *H. spondylium* (Tirillini i Ricci, 1998), kao i korenu i nadzemnim delovima *H. orphanidis* (Mileski i sar., 2016), dok su u nekim ispitivanim taksonima samo preliminarno identifikovani tankoslojnom hromatografijom (Ognyanov i sar., 1966; Weimarck i Nilsson, 1980).

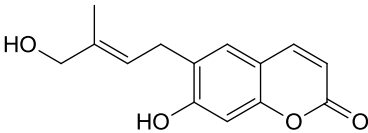
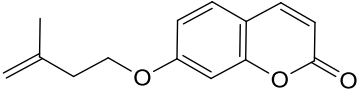
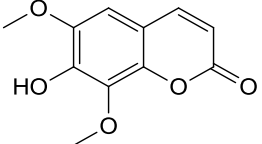
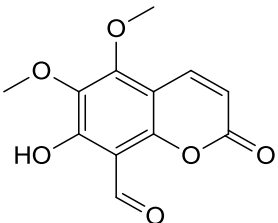
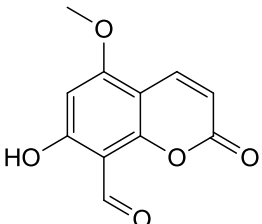
U taksonima roda *Heracleum* identifikovano je i deset heterozida furanokumarina, uključujući četiri specifićna jedinjenja u korenu *H. candicans*. Dva se sastoje iz dve jedinice heraklenola povezane preko glukoze, preko hidroksilne grupe na položaju 13 heraklenola i hidroksilnih grupa na položajima 1" i 3" glukoze (kandinozid A) ili 1" i 4" glukoze (kandinozid B). Druga dva se sastoje iz po jedne jedinice marmezina i heraklenola povezanih na sličan naćin preko hidroksilnih grupa na položajima 1" i 3" glukoze (kandinozid C) ili 1" i 2" glukoze (kandinozid D) (Inoue i sar., 2011).

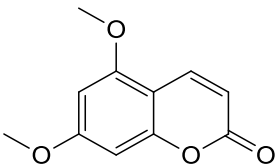
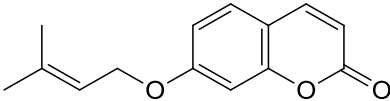
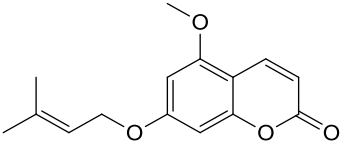
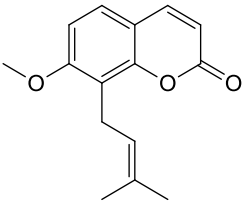
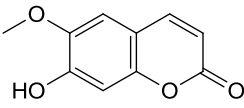
Takođe, u korenu *H. candicans* identifikovano je osam dimera heraklenola, heraklenina i/ili imperatorina (kandibirini A-H), šest trimera heraklenola i/ili izogoserola (kanditiririni A-E i rivulotririn A) i dva tetramera heraklenola i/ili izogoserola (kanditetrarini A i B), u korenu *H. rapula* trimer (rapultririn A) heraklenola i izogoserola, a u korenu *H. persicum* i *H. yunnngningense* dimer pimpinelina (melendorfilin). U slućaju melendorfilina, dolazi do povezivanja pironskih prstenova dva molekula pimpinelina preko C-C veza, a u slućaju ostalih polimera, jedinice furanokumarina su povezane etarskim vezama koje nastaju između hidroksilnih grupa na prenil ostacima, i/ili se formiraju spiroetri između navedenih hidroksilnih grupa i karbonilne grupe pironskog prstena (Dehghan i sar., 2017; Inoue i sar., 2010; Nakamori i sar., 2004; 2008; Taniguchi i sar., 2005; 2011; Zhang i sar., 2009a).

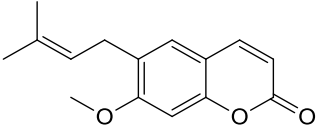
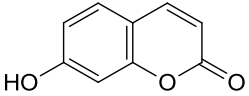
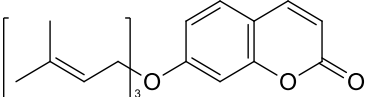
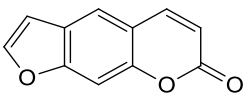
Dodatno, u taksonima ovog roda identifikovana su i četiri estra furanokumarina sa različitim kiselinama, tj. estar heraklenola sa derivatom kafeoilhina kiseline (kandinol B), kao i benzofuranskim derivatom nastalim otvaranjem laktorskog prstena heraklenola (kandinol C) iz korena *H. candicans*, estar kolumbijanetina sa (Z)-2-metil-2-butenskom kiselinom (kolumbijandin) iz korena *H. brunonis* i estar 6-hidroksipsoralena sa 3,4-dihidroksi-4-metilpentanskom kiselinom (psoroheraklin) iz korena *H. pastinacifolium* (Inoue i sar., 2010; Kasumova i Serkerov, 2013; Khetwal i sar., 1987).

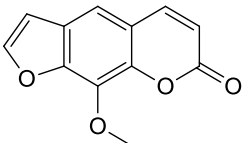
**Tabela 2.** Prethodno identifikovani kumarini u taksonima roda *Heracleum*

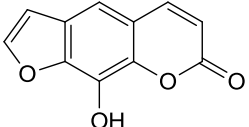
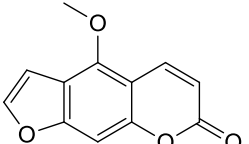
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
<b>Jednostavni kumarini</b>			
Dehidrogeijerin 	<i>H. moellendorffii</i>	Listovi	Bae i sar., 2012; Jeon i sar., 2017
Felodenol C 	<i>H. candicans</i>	Koren	Nakamori i sar., 2008
Fraksetin 	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
Geijerin 	<i>H. moellendorffii</i>	Listovi	Bae i sar., 2012; Jeon i sar., 2017

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Izofelodenol C 	<i>H. candicans</i>	Koren	Nakamori i sar., 2008
7-Izopenteniloksikumarin 	<i>H. lanatum</i>	Nije naveden	Baba i sar., 2002
Izofraksidin 	<i>H. yunnngingense</i> Hand.-Mass	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Jungnin A 	<i>H. yunnngingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Jungnin B 	<i>H. yunnngingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Limetin 	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Glowniak i sar., 2000
7-(3-Metil-2-buteniloksi)kumarin 	<i>H. lanatum</i> var. <i>nippinicum</i> Hara	Koren	Nakata i sar., 1982
5-Metoksi-anizokumarin B 	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Glowniak i sar., 2000
Ostol 	<i>H. pastinacifolium</i> <i>H. canescens</i> Lindl.	Koren Koren	Kasumova i Serkerov, 2011 Razdan i sar., 1982
Skopoletin 	<i>H. dissectum</i> <i>H. dissectum</i> <i>H. lanatum</i> <i>H. grandiflorum</i>	Koren Nadzemni delovi Koren Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017a Zhang i sar., 2017b Shimomura i sar., 1982 Akhmedov i Serkerov, 1998

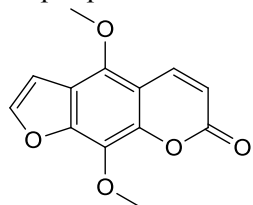
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. pyrenaicum</i> Lam.	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. yunnngingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Suberozin	<i>H. moellendorffii</i>	Listovi	Jeon i sar., 2017
			
Umbeliferon	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszczyk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Główniak, 2012
	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Ibadullaeva i Serkerov, 2000
	<i>H. yunnngingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Umbeliprenin	<i>H. yunnngingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
			
<b>Furanokumarini</b>			
Psoralen	<i>H. candidans</i>	Plodovi	Rawat i sar., 2013
	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Ksantotoksin 	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. brunonis</i> Benth. ex C.B. Clarke	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. candicans</i>	Koren	Liu i sar., 1998; Razdan i sar., 1982
	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszczyk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Głowniak, 2012
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Głowniak i sar., 2000; Walasek i sar., 2015
	<i>H. moellendorffii</i>	Koren	Liu i sar., 1998
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. sibiricum</i>	Plodovi	Bogucka-Kocka, 1999; Cieśla i sar., 2008
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. sphondylium</i>	Ćelije kalusa osovine cvasti	Tirillini i Ricci, 1998

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Ksantotoksol	<i>H. dissectum</i>	Koren	Zhang i sar., 2017a
			
Bergapten	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. candicans</i>	Koren	Liu i sar., 1998
	<i>H. candicans</i>	Plodovi	Singh i sar., 2008
	<i>H. crenatifolium</i>	Plodovi	Tosun i sar., 2008
	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014; Zhang i sar., 2017a
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszczyk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Głowniak, 2012
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Głowniak i sar., 2000; Walasek i sar., 2015
	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Ibadullaeva i Serkerov, 2000
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. persicum</i>	Plodovi	Souri i sar., 2004

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. sibiricum</i>	Koren	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; Cieřla i sar., 2008
	<i>H. sibiricum</i>	Plodovi	Bogucka-Kocka, 1999; Cieřla i sar., 2008
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Cieřla i sar., 2008; Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. sphondylium</i>	Ćelije kalusa osovine cvasti	Tirillini i Ricci, 1998
	<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	Cieřla i sar., 2008; Lawrie i sar., 1968
	<i>H. crenatifolium</i>	Plodovi	Tosun i sar., 2008
	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014; Zhang i sar., 2017a
	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszcuk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Głowniak, 2012
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Głowniak i sar., 2000; Walasek i sar., 2015
	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. moellendorffii</i>	Koren	Liu i sar., 1998

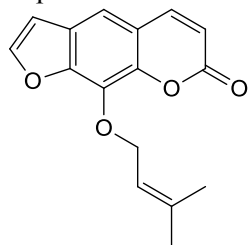
Izopimpinelin

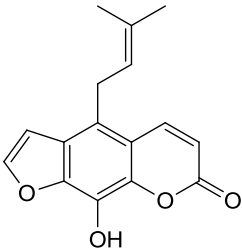
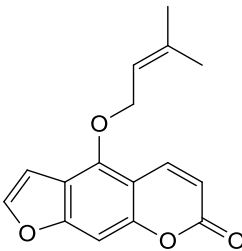


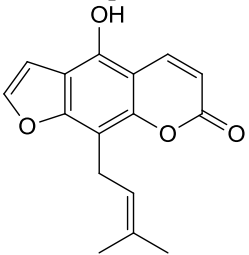
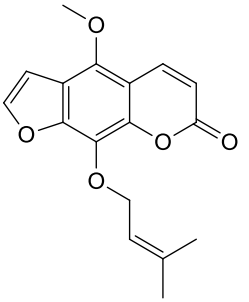
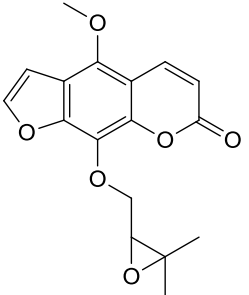


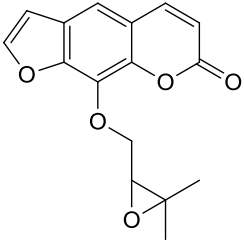
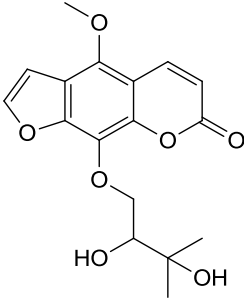
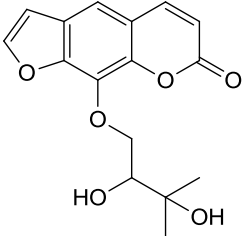
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Ibadullaeva i Serkerov, 2000; Kasumova i Serkerov, 2011
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. persicum</i>	Plodovi	Souri i sar., 2004
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. sibiricum</i>	Koren	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; Cieřla i sar., 2008
	<i>H. sibiricum</i>	Plodovi	Bogucka-Kocka, 1999; Cieřla i sar., 2008
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Cieřla i sar., 2008; Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. sphondylium</i>	Ćelije kalusa osovine cvasti	Tirillini i Ricci, 1998
	<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	Cieřla i sar., 2008
	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. candicans</i>	Koren	Liu i sar., 1998; Wang i sar., 2008
	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014
	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszczyk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Głowniak, 2012
	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Głowniak i sar., 2000; Walasek i sar., 2015

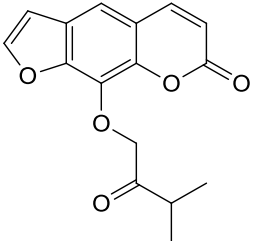
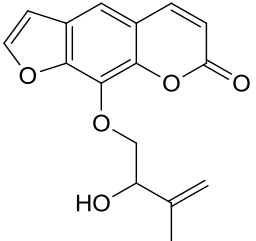
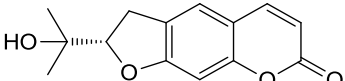
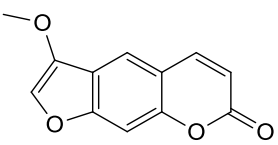
Imperatorin

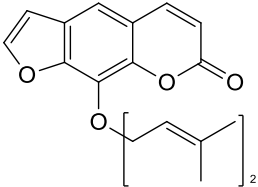
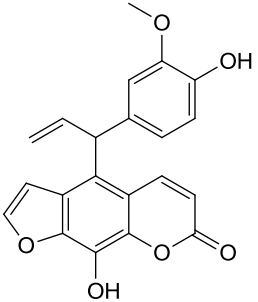
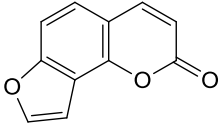


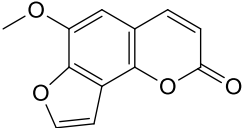
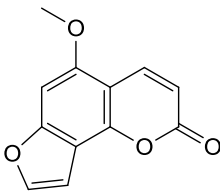
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. sibiricum</i>	Plodovi	Bogucka-Kocka, 1999
	<i>H. sphondylium</i>	Ćelije kalusa osovine cvasti	Tirillini i Ricci, 1998
	<i>H. thomsonii</i>	Koren	Gupta i sar., 1976
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
Aloimperatorin			
			
Izoimperatorin	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszczyk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Głowniak, 2012
	<i>H. thomsonii</i>	Koren	Gupta i sar., 1976

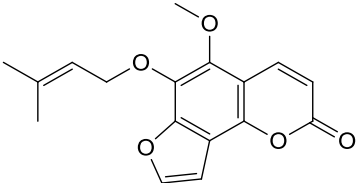
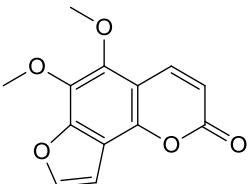
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Aloizimperatorin 	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
Felopterin 	<i>H. candicans</i> <i>H. dissectum</i> <i>H. mantegazzianum</i> <i>H. moellendorffii</i> <i>H. pyrenaicum</i> <i>H. sibiricum</i> <i>H. sphondylium</i> <i>H. yunnngningense</i>	Koren Nadzemni delovi Plodovi Listovi Nadzemni delovi Plodovi Plodovi Koren	Liu i sar., 1998 Zhang i sar., 2017b Walasek i sar., 2015 Jeon i sar., 2017 Gonzalez i sar., 1978 Bogucka-Kocka, 1999; Cieřla i sar., 2008 Cieřla i sar., 2008 Taniguchi i sar., 2005
Biakangelikol 	<i>H. crenatifolium</i> <i>H. sibiricum</i> <i>H. sphondylium</i>	Plodovi Plodovi Plodovi	Tosun i sar., 2008 Bogucka-Kocka, 1999; Cieřla i sar., 2008 Cieřla i sar., 2008

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Heraklenin 	<i>H. candicans</i>	Koren	Sharma i sar., 1964a; Wang i sar., 2008
	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
	<i>H. sibiricum</i>	Plodovi	Bogucka-Kocka, 1999; Cieřla i sar., 2008
	<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	Cieřla i sar., 2008
Biakangelicin 	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. sibiricum</i>	Plodovi	Bogucka-Kocka, 1999
Heraklenol 	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. candicans</i>	Koren	Sharma i sar., 1964b
	<i>H. candicans</i>	Plodovi	Rawat i sar., 2013; Singh i sar., 2008
	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005

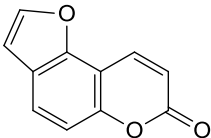
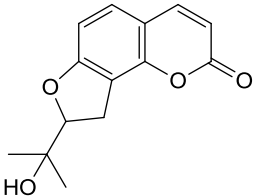
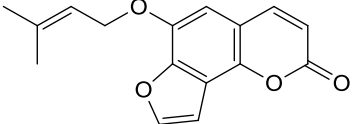
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Izoheraklenin 	<i>H. canescens</i> <i>H. pyrenaicum</i>	Koren Nadzemni delovi	Razdan i sar., 1982 Gonzalez i sar., 1978
Izogosferol 	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
Marmezin 	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
Furometoksiheraklin 	<i>H. transcaucasicum</i>	Plodovi	Kurbanova i Serkerov, 2012

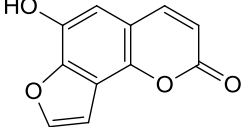
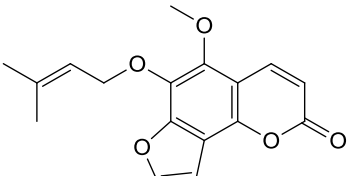
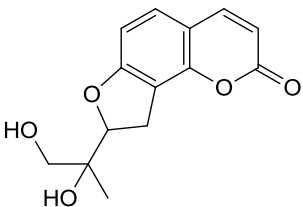
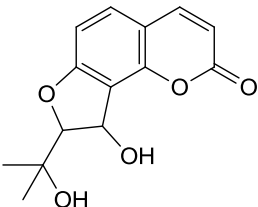
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
8-Geraniiloksipsoralen	<i>H. candicans</i>	Koren	Sharma i sar., 1966; Wang i sar., 2008
	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
	<i>H. yunnghingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Kandinol A	<i>H. candicans</i>	Koren	Nakamori i sar., 2008
			
Angelicin	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. leskovii</i>	Plodovi	Oniszczyk i sar., 2013; Skalicka-Woźniak i Główniak, 2012
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Walasek i sar., 2015
	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Sfondin 	<i>H. rawianum</i>	Nadzemni delovi	Kordi i sar., 2014
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. crenatifolium</i>	Plodovi	Tosun i sar., 2008
	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Ibadullaeva i Serkerov, 2000
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. rawianum</i>	Nadzemni delovi	Kordi i sar., 2014
	<i>H. sibiricum</i>	Koren	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003
Izobergapten 	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. crenatifolium</i>	Plodovi	Tosun i sar., 2008
	<i>H. dissectum</i>	Koren	Zhang i sar., 2017a
	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970	
<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985	

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. moellendorffii</i>	Koren	Liu i sar., 1998
	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Ibadullaeva i Serkerov, 2000; Kasumova i Serkerov, 2011
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. thomsonii</i>	Koren	Gupta i sar., 1976
6-Izopenteniloksiizobergaptin	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
			
Pimpinelin	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. crenatifolium</i>	Plodovi	Tosun i sar., 2008
	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. lanatum</i>	Listovi	Steck, 1970
	<i>H. mantegazzianum</i>	Listovi	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. mantegazzianum</i>	Plodovi	Glowniak i sar., 2000; Walasek i sar., 2015



Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. moellendorffii</i>	Koren	Liu i sar., 1998
	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Ibadullaeva i Serkerov, 2000; Kasumova i Serkerov, 2011
	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. persicum</i>	Plodovi	Souri i sar., 2004
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. sibiricum</i>	Koren	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003
	<i>H. sphondylium</i>	Koren	Erdelmeier i sar., 1985
	<i>H. persicum</i>	Plodovi	Souri i sar., 2004
Bakuchicin			
			
Kolumbijanetin	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
	<i>H. grandiflorum</i>	Nadzemni delovi	Akhmedov i Serkerov, 1998
Heratomin	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. thomsonii</i>	Koren	Gupta i sar., 1976

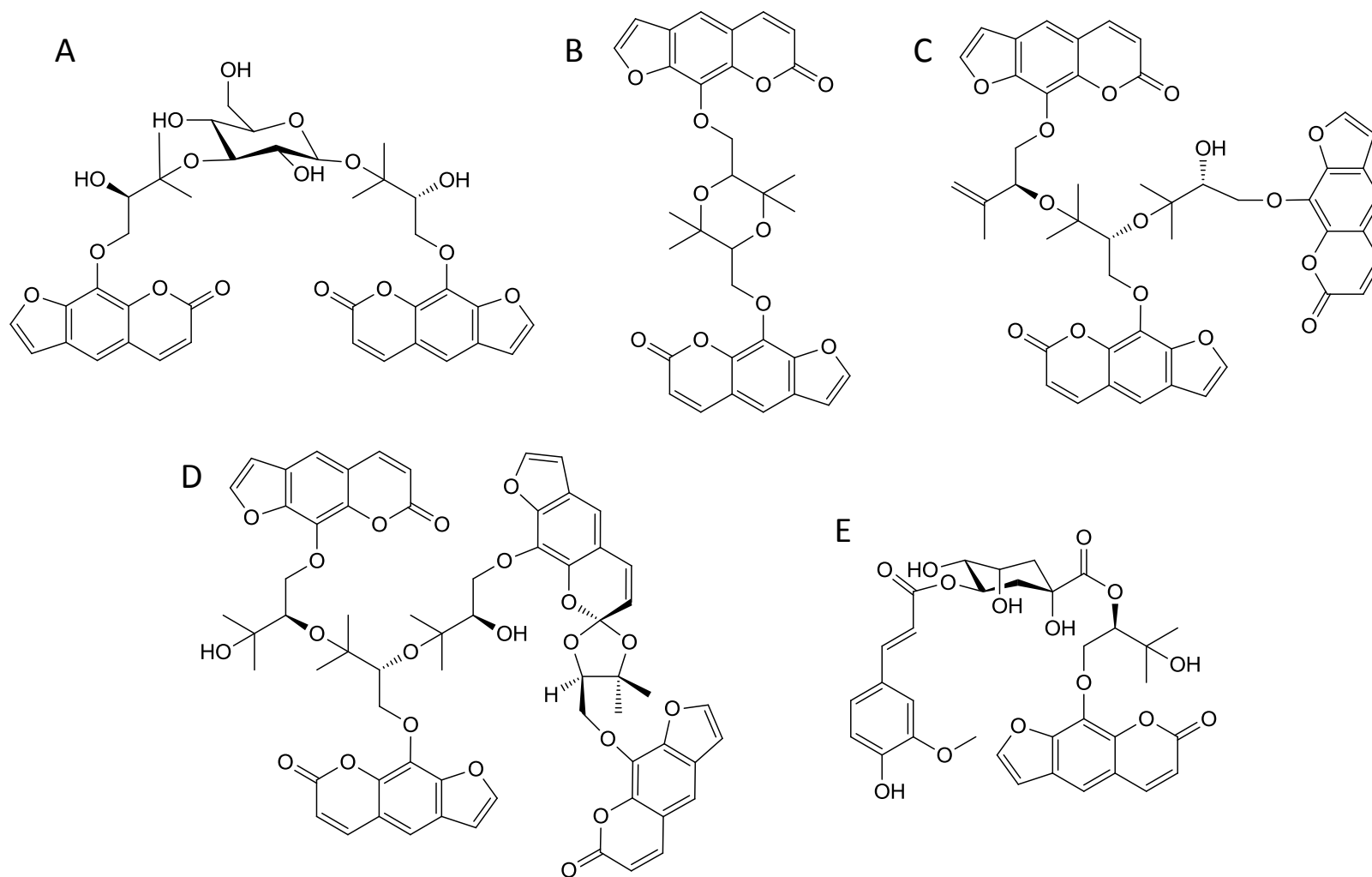
Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
Heratamol 	<i>H. thomsonii</i>	Koren	Gupta i sar., 1976
5-Metoksiheratomin 	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
Hermadiol 	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Vaginidiol 	<i>H. lanatum</i> <i>H. yunnngningense</i>	Koren Koren	Shimomura i sar., 1982 Taniguchi i sar., 2005

Kumarin/tip kumarina	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
<b>Heterozidi furanokumarina</b>			
1'- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glukopiranozil-vaginidiol (apterin)	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014; Zhang i sar., 2017a
	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Apterin-6"-monoacetat (jungnozid A)	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
5'- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glukopiranozil-hermandiol (jungnozid B)	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
1'- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glukopiranozil-(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-3- hidroksimarmezin	<i>H. candicans</i>	Koren	Inoue i sar., 2010
13- <i>O</i> -(6- <i>O</i> - $\beta$ -D-Apiofuranozil- $\beta$ -D- glukopiranozil)-heraklenol	<i>H. candicans</i>	Koren	Inoue i sar., 2010
6- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glukopiranozil-heratomol	<i>H. dissectum</i>	Koren	Zhang i sar., 2017a
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Kandinozid A (Slika 11A) i B-D	<i>H. candicans</i>	Koren	Inoue i sar., 2011
<b>Kondenzovani furanokumarini</b>			
Kandibirin A (Slika 11B)	<i>H. candicans</i>	Koren	Nakamori i sar., 2004
Kandibirin B-E	<i>H. candicans</i>	Koren	Nakamori i sar., 2008
Kandibirin F-H	<i>H. candicans</i>	Koren	Inoue i sar., 2010
Kanditirin A (Slika 11C) i B	<i>H. candicans</i>	Koren	Nakamori i sar., 2008

---

<b>Kumarin/tip kumarina</b>	<b>Takson roda <i>Heracleum</i></b>	<b>Biljni organ/deo</b>	<b>Referenca</b>
Kanditririn C-E	<i>H. candicans</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2011
Rivolotririn A	<i>H. candicans</i>	Koren	Inoue i sar., 2010
Kanditetrarin A ( <b>Slika 11D</b> ) i B	<i>H. candicans</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2011
Rapultririn A	<i>H. rapula</i> Franch.	Podzemni delovi	Zhang i sar., 2009a
Melendorfilin	<i>H. persicum</i>	Koren	Dehghan i sar., 2017
	<i>H. yunnghingense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
<hr/> <b>Estri furanokumarina</b>			
Kandinol B ( <b>Slika 11E</b> ) i C	<i>H. candicans</i>	Koren	Inoue i sar., 2010
Kolumbijanadin	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
Psoroheraklin	<i>H. pastinacifolium</i>	Koren	Kasumova i Serkerov, 2013

---



**Slika 11.** Pojedini furanokumarini izolovani iz korena *H. candicans*: kandinozid A (A), kandibirin A (B), kanditirin A (C), kanditetarin A (D), kandinol B (E)

### 2.2.1. Fototoksičnost furanokumarina

Neki furanokumarini u kombinaciji sa UVA zračenjem su fototoksični, tj. izazivaju akutne kožne reakcije (fotodermatitis), koje se najčešće manifestuju kao svrab, eritem, plikovi i hiperpigmentacija (EMA/HMPC, 2007; Jakubowicz i sar., 2012). Iako većina ovih simptoma prolazi u roku od nekoliko dana/nedelja, hiperpigmentacija kože može da traje i nekoliko meseci/godina. Za neke furanokumarine ustanovljen je i kancerogeni potencijal. Naime, prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje tumora (IARC, eng. *International Agency for the Research of Cancer*), ksantotoksin (8-MOP) u kombinaciji sa UVA zračenjem je kancerogen za ljude (Grupa 1), dok je bergapten (5-MOP) u kombinaciji sa UVA zračenjem verovatno kancerogen za ljude (Grupa 2A). Navedeni efekti su posledica vezivanja fotoaktiviranih furanokumarina za DNK, što dovodi do raznih promena genetskog materijala. Oni takođe intereaguju sa proteinima, membranskim lipidima i ribozomima (EMA/HMPC, 2007). Najreaktivniji su linearni furanokumarini (psoraleni), pre svih metoksi derivati psoralena (8-MOP i 5-MOP). Ova jedinjenja poseduju dva aktivna mesta (furanska i pionska strana) i na taj način dovode do unakrsnog povezivanja dva lanca DNK. Fotoreaktivnost se značajno smanjuje kod angularnih furanokumarina (angelicina, sfondina i izobergaptena), jer oni formiraju samo monoadukte sa DNK. Interesantno je da uvođenje druge metoksi grupe kod 8- i 5-MOP-a (5,8-dimetoksipsoralen, izopimpinelin) dovodi do značajnog smanjenja fototoksičnosti. Manja fotoreaktivnost je takođe primećena kod prenilovanih derivata (imperatorina i felopterina) (Raquet i Schrenk, 2014). Iz ovih razloga, Evropska agencija za lekove izdala je odgovarajući dokument u kojem navodi maksimalni dozvoljeni dnevni unos furanokumarina putem biljnih lekovitih proizvoda (EMA/HMPC, 2007).

Do navedenih reakcija fototoksičnosti dolazi prilikom izlaganja suncu, koje je usledilo nakon konzumiranja biljke koja sadrži furanokumarine kao hrane, ili češće kontakta kože sa biljkom bogatom ovim jedinjenjima. Zbog toga se prvenstveno u zapadnoj, severnoj i centralnoj Evropi ulažu veliki naponi u cilju kontrole tri invazivne, gigantske vrste roda *Heracleum* (dostižu visinu i do 4-5 m): *H. mantegazzianum* i *H. sosnowskyi*, koje vode poreklo sa Kavkaza, i *H. persicum*, koji je poreklom iz Irana, Iraka i Turske. *Heracleum sosnowskyi* je donet u Evropu kako bi se gajio kao stočna hrana, a druge dve vrste zbog svog dekorativnog izgleda (gajile su se po parkovima).

Međutim, zbog svoje invazivnosti, dimenzija (što povlači sa sobom veliku produkciju semena) i visokog sadržaja fototoksičnih furanokumarina ove tri vrste se danas smatraju značajnom pretnjom po lokalne ekosisteme i zdravlje ljudi (Pyšek i sar., 2010).

Weimarck i Nilsson (1980) su preliminarno procenjivali fototoksičnost hloroformskih ekstrakata korena, listova i/ili plodova 10 taksona roda *Heracleum* (uključujući *H. sphondylium*, *H. sibiricum*, *H. montanum*, *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*) i tri furanokumarina (8-MOP-a, 5-MOP-a i imperatorina). Merili su zone inhibicije *Candida albicans* (zasejane na petri šolje) koje su uzrokovali ekstrakti/furanokumarini nakon izlaganja UV svetlu. Zaključili su da su ekstrakti korena i plodova fototoksičniji na *C. albicans* u odnosu na ekstrakte listova. Efekat ekstrakata listova je značajno varirao, a najveća toksičnost na ispitivani mikroorganizam pokazana je za ekstrakte uzoraka *H. pyrenaicum*, dok svi testirani ekstrakti uzoraka *H. sibiricum* nisu delovali fototoksično. Ispitivani efekat je utvrđen i za navedene furanokumarine, a neki od njih su i tentativno identifikovani u pojedinim ispitivanim ekstraktima tankoslojnom hromatografijom (Weimarck i Nilsson, 1980).

Fotoreaktivnost furanokumarina ima značaj u savremenoj medicini. PUVA terapija (P - psoralen, UVA - ultraljubičasti A zraci) se primenjuje u lečenju težih oblika psorijaze i vitiliga, kao i kutanog T-ćelijskog limfoma, bolesti „kalem protiv domaćina“ i drugih bolesti. Podrazumeva oralnu ili dermalnu primenu linearnih furanokumarina (najčešće 8-MOP-a, ali i 5-MOP-a) u kombinaciji sa UVA zračenjem. Međutim, PUVA terapija može izazvati karcinom skvamoznih ćelija kože. Rizik od oboljevanja se povećava sa povećanjem doze furanokumarina i dužinom primene (EMA/HMPC, 2007).

### **2.3. Ostali sekundarni metaboliti**

Flavonoidi i fenolkarboksilne kiseline biljaka roda *Heracleum* su znatno ređe ispitivani (Benedec i sar., 2017; Wang i sar., 2018). Na primer, tri heterozida kvercetina, kao i kvercetin, kemferol, apigenin i luteolin identifikovani su u nadzemnim i podzemnim organima *H. sphondylium* (Benedec i sar., 2017). Od fenolkarboksilnih kiselina, pored već pomenute *p*-kumarne kiseline, identifikovane su kafena, ferulinska, hlorogenska i gentizinska u različitim biljnim organima ove vrste (Benedec i sar., 2017), kao i izovanilinska u korenu *H. dissectum* (Wang i sar., 2018). U taksonima ovog roda

detektovano je još nekoliko različitih fenolnih derivata. Dodatno, iz korena *H. dissectum* izolovani su tri neolignana i jedan fenilpropan (Gao i sar., 2014), a iz korena *H. rapula* dva iridoidna glukozida, rapulazid A i B (Xiao i sar., 2005).

Od nepolarnih sastojaka, iz korena četiri taksona roda *Heracleum* izolovan je poliacetilen falkarindiol, a iz korena *H. moellendorffii* i falkarinol (Liu i sar., 1998; Nakano i sar., 1998; O'Neill i sar., 2013; Taniguchi i sar., 2005).

Iz različitih biljnih organa taksona roda *Heracleum* izolovani su i fitosteroli,  $\beta$ -sitosterol iz nadzemnih delova *H. pyrenaicum* i *H. dissectum*, plodova *H. sphondylium* i korena *H. canescens* (Gonzalez i sar., 1978; Lawrie i sar., 1968; Razdan i sar., 1982; Zhang i sar., 2017b), stigmasterol iz nadzemnih delova *H. platytaenium* (Dincel i sar., 2013), a daukosterol iz nadzemnih delova *H. dissectum* (Zhang i sar., 2017b).

Interesantno je pomenuti i izolovanje jednog alkaloida (3*S*,13*E*)-3-(4-(3-hidroksiprop-1-en-1-il)-2-metoksifenoksi)-piperidin-2-ona iz korena *H. dissectum* (Zhang i sar., 2017a), i antrahinona hrizofanola iz korena *H. brunonis* (Khetwal i sar., 1987) (**Tabela 3**).

### **3. Ispitivani primarni metaboliti roda *Heracleum***

Primarni metaboliti biljaka roda *Heracleum* su prethodno sporadično ispitivani. Do sada je analiziran sastav masnih kiselina masnih ulja plodova *H. sphondylium*, *H. montanum*, *H. sibiricum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (koji su predmet i ove doktorske disertacije), kao i *H. platytaenium*, *H. trachyloma* Fisch. & C.A. Mey., *H. crenatifolium*, *H. candicans*, *H. lanatum* i *H. pinnatum* C.B. Clarke. Najzastupljenije su bile petroseliniska (47,4-66,6%), linolna (20,1-38,3%) i oleinska kiselina (3,9-19,2%). Petroseliniska kiselina je bila dominantna u svim do sada ispitivanim masnim uljima, sa izuzetkom ulja *H. lanatum*, koje je sadržalo najviše linolne kiseline (Bagci, 2007; Kleiman i Spencer, 1982).

Dodatno, ispitivan je sastav fosfolipida masnih ulja plodova *H. sibiricum* i *H. ternatum* metodama hromatografije na tankom sloju (TLC) i spektrofotometrije. Najzastupljeniji je bio fosfatifilholin (42 i 44%) (Ivanov i sar., 1999).



**Tabela 3.** Ostali sekundarni metaboliti prethodno identifikovani u taksonima roda *Heracleum*

Klasa/jedinjenje	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
<b>Flavonoidi</b>			
Apigenin	<i>H. sphondylium</i>	Cvasti	Benedec i sar., 2017
Astragalin	<i>H. moellendorffii</i>	Listovi	Park i sar., 2010
Hiperozid	<i>H. moellendorffii</i>	Listovi	Park i sar., 2010
Izokvercitrin	<i>H. sphondylium</i>	Stabljike, listovi, cvasti	Benedec i sar., 2017
Kemferol	<i>H. sphondylium</i>	Cvasti	Benedec i sar., 2017
Kvercetin	<i>H. sphondylium</i>	Koren, stabljike, listovi, cvasti, plodovi	Benedec i sar., 2017
Kvercetin 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozid	<i>H. nepalense</i> D. Don	Koren	Dash i sar., 2006
Kvercitrin	<i>H. sphondylium</i>	Listovi, cvasti	Benedec i sar., 2017
Luteolin	<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	Benedec i sar., 2017
Rutin	<i>H. sphondylium</i>	Koren, stabljike, listovi, cvasti, plodovi	Benedec i sar., 2017
<b>Lignani</b>			
(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-Dehidrodikoniferil alkohol 4- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozid-9'- <i>n</i> -butanol etar	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014
(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-Dihidrodehidrodikoniferil alkohol 4- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozid	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014

Klasa/jedinjenje	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,1' <i>S</i> ,2' <i>R</i> )-2,3-Dihidro-5-(1',2'-dihidroksipropil)-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-metoksi-3-metilbenzofuran	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014
<b>Iridoidi</b>			
Rapulazid A	<i>H. rapula</i>	Koren	Xiao i sar., 2005
Rapulazid B	<i>H. rapula</i>	Koren	Xiao i sar., 2005
<b>Fenoli, fenolkarboksilne kiseline i derivati</b>			
3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> - $\beta$ -D-Ksilopiranozil- $\beta$ -D-glukopiranozil)-4-hidroksi-1-alilbenzen	<i>H. dissectum</i>	Koren	Gao i sar., 2014
4- <i>O</i> -(6- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glukopiranozil- $\beta$ -D-glukopiranozil)-3-prenilcimetna kiselina (disektumozid)	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018
4- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glukopiranozil-koniferil alkohol (koniferin)	<i>H. dissectum</i>	Koren	Zhang i sar., 2017a; Wang i sar., 2018
2-Metoksi-4- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozil-fenol (tahiozid)	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018; Zhang i sar., 2017a
3-Metoksi-4- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozil-fenol (izotahiozid)	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018
3-Metoksi-4- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozil-propiofenon (prerozid)	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018; Zhang i sar., 2017a
Apiol	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
Fenetil- $\beta$ -D-glukopiranozid	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018
Ferulinska kiselina	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982

Klasa/jedinjenje	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
	<i>H. sphondylium</i>	Koren, listovi, cvasti	Benedec i sar., 2017
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Gentizinska kiselina	<i>H. sphondylium</i>	Cvasti	Benedec i sar., 2017
Geranil- $\beta$ -hidroksipropiovanilon	<i>H. moellendorffii</i>	Listovi	Jeon i sar., 2017
<i>p</i> -Hidroksifeniletil ferulat	<i>H. lanatum</i> var. <i>nippinicum</i>	Koren	Nakata i sar., 1982
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Hlorogenska kiselina	<i>H. sphondylium</i>	Koren, stabljike, listovi, cvasti, plodovi	Benedec i sar., 2017
Izovanilinska kiselina	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018
Kafena kiselina	<i>H. sphondylium</i>	Listovi, cvasti, plodovi	Benedec i sar., 2017
<i>p</i> -Kumarna kiselina	<i>H. lanatum</i>	Koren	Shimomura i sar., 1982
	<i>H. sphondylium</i>	Koren, listovi, cvasti, plodovi	Benedec i sar., 2017
Katehol	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018
Metil-3,4,5-trimetoksibenzoat	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
Tirozol	<i>H. dissectum</i>	Koren	Wang i sar., 2018
<b>Poliacetileni</b>			
Falkarindiol	<i>H. maximum</i>	Koren	O'Neill i sar., 2013
	<i>H. moellendorffii</i>	Koren	Nakano i sar., 1998
	<i>H. candicans</i>	Koren	Liu i sar., 1998
	<i>H. yunnngningense</i>	Koren	Taniguchi i sar., 2005
Falkarinol	<i>H. moellendorffii</i>	Koren	Nakano i sar., 1998

Klasa/jedinjenje	Takson roda <i>Heracleum</i>	Biljni organ/deo	Referenca
<b>Fitosteroli</b>			
Daukosterol	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
$\beta$ -Sitosterol	<i>H. canescens</i>	Koren	Razdan i sar., 1982
	<i>H. dissectum</i>	Nadzemni delovi	Zhang i sar., 2017b
	<i>H. pyrenaicum</i>	Nadzemni delovi	Gonzalez i sar., 1978
	<i>H. sphondylium</i>	Plodovi	Lawrie i sar., 1968
Stigmasterol	<i>H. platytaenium</i>	Nadzemni delovi	Dincel i sar., 2013
<b>Ostalo</b>			
(3 <i>S</i> ,13 <i>E</i> )-3-(4-(3-hidroksiprop-1-en-1-il)-2-metoksifenoksi)-piperidin-2-on	<i>H. dissectum</i>	Koren	Zhang i sar., 2017a
Hrizofanol	<i>H. brunonis</i>	Koren	Khetwal i sar., 1987
2-exo,3-endo-Kamfanediol	<i>H. candolleanum</i>	Plodovi	Chacko i sar., 2000
2-Pinen-4,10-diol	<i>H. candolleanum</i>	Plodovi	Chacko i sar., 2000

## 4. Primena biljaka roda *Heracleum* u homeopatiji, narodnoj medicini i ishrani

### 4.1. Primena u homeopatiji

Francuska farmakopeja (2007) sadrži monografiju droge „*Heracleum sphondylium* za izradu homeopatskih preparata“ (drugi naziv ove droge koji se upotrebljava u homeopatiji je *Branca ursina*), koju definiše kao cele, sveže delove u cvetu ove biljke. Homeopatski preparat koji sadrži herbu *H. sphondylium*, kao i *Prunus spinosa* L. (Rosaceae) (biljni organ nije naveden) se proizvodi u Nemačkoj i namenjen je za lečenje različitih bolesti, uključujući poremećaje respiratornog trakta i centralnog nervnog sistema, kao i genitalne i dermatomikoze (Lühr-Lehrs, 2018).

### 4.2. Primena u narodnoj medicini

Većina taksona roda *Heracleum* ispitivanih u okviru ove doktorske disertacije primenjivala se u narodnoj medicini mnogih, prvenstveno evropskih zemalja, a kao najpoznatija ističe se primena mečje šape (*H. sphondylium*). Na Balkanskom poluostrvu, različiti preparati podzemnih i nadzemnih delova ove biljke, kao što su infuz korena, listova ili plodova, sprашen koren, ili sok svežih listova, upotrebljavali su se najčešće kod različitih tegoba digestivnog trakta, npr. lošeg varenja hrane, katara creva, dijareje, kao i za povećanje apetita (Lesinger, 2006; Tucakov, 1997). Slično, kao digestiv i aperitiv, u severnoj Francuskoj se primenjivao liker pripremljen od mečje šape, a u Italiji dekoka njenog korena (Dei Cas i sar., 2015; Grlić, 1980). U zemljama jugoistočne Evrope, pre svega u Rumuniji, ali i Maroku, za infuz nadzemnih delova se verovalo da deluje kao afrodizijak, a korišćen je i za lečenje hipertenzije (Lesinger, 2006; Senejoux i sar., 2013). Takođe, slovenski narodi su od ove biljke pripremali jednu vrstu piva, koju su upotrebljavali kod bolesti slezine i „sušenja nerava“ (Gostuški, 1979). Grlić (1980) navodi da se ovo pivo nazivalo „barč“ i da su se u te svrhe koristili prokuvani listovi i plodovi. Dodatno, u Italiji se tinktura nadzemnih delova i plodova upotrebljavala kao sedativ i za lečenje depresije (Leporatti i Ivancheva, 2003). Prema zapisima koji potiču iz centralne Evrope, iz perioda renesanse, ova biljka se koristila u lečenju epilepsije (Adams i sar., 2012). Pored toga, u Švajcarskoj se mečja šapa primenjivala kod bronhitisa (Abbet i sar., 2014). Lesinger (2006) dodaje da se infuz

korena, listova ili plodova, sprашen koren, ili sok sveжих listova ove biljke mogu koristiti kod različitih oboljenja respiratornog sistema, kao što su infekcije gornjih disajnih puteva, katar i astma. Isti autor navodi da se ovi preparati mogu primeniti i spolja kod zagojenih rana, uboda insekata i crnog prišta. Kada se uzmu u obzir značajne međusobne morfološke sličnosti biljaka iz grupe *H. sphondylium*, kao i njihovo rasprostranjenje, može se pretpostaviti da su se sve biljke iz ove grupe koristile na sličan način i u slične svrhe (Tucakov, 1997). Literaturna potvrda ove tvrdnje postoji za veliku mečju šapu (*H. sibiricum*), kao i šapicu (podvrste *H. pyrenaicum*) (Grlić, 1980; Rašić, 2002; Vračarić i sar., 1977). Što se tiče velike mečje šape, postoje i posebni izvori (Leporatti i Ivancheva, 2003; Ivancheva i Stantcheva, 2000), koji ističu tradicionalnu primenu macerata korena i plodova, i infuza nadzemnih delova ove biljke kao aperitiva, i u lečenju dijareje i ostalih gastrointestinalnih tegoba, a macerata i kao spazmolitika i antihipertenziva. Austrijska mečja šapa, tj. tipska podvrsta vrste *H. austriacum* L. (*H. austriacum* subsp. *austriacum*) se kao i *H. sphondylium*, primenjivala za lečenje epilepsije u centralnoj Evropi, u periodu renesanse (Adams i sar., 2012).

Za lečenje istih bolesti primenjuju se i mnoge azijske vrste ovog roda, npr. za tretman različitih digestivnih tegoba *H. persicum*, *H. candicans*, *H. nepalense*, *H. platytaenium*, *H. siamicum* i *H. rigens*, za bolesti respiratornog sistema *H. nepalense*, *H. rapula* i *H. rigens*, kod hipertenzije *H. dissectum*, kod epilepsije *H. persicum* i *H. platytaenium*, i kao afrodisijaci *H. candicans*, *H. nepalense* i *H. candolleanum* (Bahadori i sar., 2016). Dodatno, kao analgetik, antipiretik i/ili dijaforetik koriste se plodovi *H. persicum* u Iranu (Hajhashemi i sar., 2009), listovi *H. afghanicum* u Avganistanu (Karimi i Ito, 2012) i koren *H. candicans* i *H. yunnngningense* u Kini (Taniguchi i sar., 2005; 2011), a rizom i plodovi *H. sprengelianum* se primenjuju kod opekotina i bolesti kože uključujući eksterne tumore u Indiji (Karuppusamy i Muthuraja, 2011). Infuz pripremljen od korena jedine native severnoameričke vrste ovog roda, *H. maximum*, tradicionalno se upotrebljavao za lečenje različitih infektivnih oboljenja, uključujući tuberkulozu (O'Neill i sar., 2013).

#### **4.3. Primena u ishrani**

Mečja šapa (*H. sphondylium*) je bila prvobitni sastojak boršča, tradicionalnog jela u Rusiji, Ukrajini, Poljskoj i drugim zemljama istočne Evrope. Naziv ove čorbe zapravo

potiče od ruskog naziva za biljke roda *Heracleum* – „борщевик“. Slično, poljski izraz – „barszcz“ istovremeno označava i biljke ovog roda i ovo tradicionalno jelo. Danas se u boršč umesto mečje šape dodaje cvekla (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* L., Amaranthaceae) (Britannica, 2018; Łuczaj, 2010). Danas se konzumiranje mečje šape, velike mečje šape (*H. sibiricum*) i šapice (podvrste *H. pyrenaicum*) sugerije samo u priručnicima za ishranu u prirodi (Vračarić i sar., 1977). Navodi se da se mladi sočni listovi upotrebljavaju za salate, čorbe, variva, pire, nadeve i sl. Mlade stabljike sa još neotvorenim cvetnim pupoljcima poparene vrelom vodom i uvaljane u brašno mogu da se prže na ulju. Lisne drške, sa kojih je oguljena pokožica, mogu da se mariniraju i koriste kao zimnica. Takođe se navodi da se ovi delovi mogu upotrebljavati od ranog proleća do sredine leta, a mogu se koristiti i naknadni izdanci u jesen. Za koren se sugerije da sadrži znatne količine šećera i skroba i da može da se upotrebljava za dobijanje sirupa, ili da se suši i melje u brašno i takav koristi kao dodatak uz sirovine za pripremanje hleba (Vračarić i sar., 1977). Nedelcheva (2013) navodi da se na sličan način koristi velika mečja šapa (*H. sibiricum*) u Bugarskoj. Ističe da etarsko ulje ove biljke daje jelima specifičnu aromu i deluje kao konzervans.

Za razliku od Evrope, u Aziji se biljke ovog roda mnogo češće koriste u ishrani, i to prvenstveno njihovi plodovi, kao začini. Tako se primenjuje npr. *H. persicum* u Iranu (Hajhashemi i sar., 2009), *H. candicans* u Indiji (Chauhan i sar., 2014), *H. afghanicum* u Avganistanu (Karimi i Ito, 2012) i *H. siamicum* na Tajlandu. Takođe, mlade stabljike *H. persicum* se dodaju u kisele krastavce u Iranu (Hajhashemi i sar., 2009), mlade stabljike i listovi *H. dissectum* se koriste kao povrće i dodatak mlevenom mesu u nadevu za knedle u severoistočnoj Kini i istočnoj Rusiji (Zhang i sar., 2017b).

## **5. Farmakološka aktivnost biljaka roda *Heracleum***

Farmakološka aktivnost različitih izolata biljaka roda *Heracleum* intenzivno je ispitivana poslednjih 20 godina. Najviše je ispitivana antimikrobna aktivnost etarskih ulja.

### **5.1. Antimikrobna aktivnost**

Antimikrobna aktivnost različitih izolata biljaka roda *Heracleum* uglavnom je ispitivana mikrodilucionom i agar difuzionom metodom. Mikrodilucionna metoda se zasniva na pripremi serije dvostrukih razblaženja uzorka u mikrotitarskim pločama, a

rezultat se najčešće izražava kao najniža koncentracija uzorka koja inhibira vidljiv rast mikroorganizama, tj. minimalna inhibitorna koncentracija (MIK), i kao najniža koncentracija uzorka koja dovodi do eradikacije 99,5% mikroorganizama, tj. minimalna baktericidna/fungicidna koncentracija (MBK/MFK). Kao indikatori rasta često se koriste različite tetrazolijum soli (npr. *p*-jodonitrotetrazolijum hlorid - INT i 2,3,5-trifenil-2H-tetrazolijum hlorid - TTC) koje se redukuju do obojenih formazana u prisustvu živih mikroorganizama, pod dejstvom njihovih enzima dehidrogenaza (Skalicka-Woźniak i sar., 2017). Agar difuziona (disk difuziona) metoda se zasniva na nanošenju odgovarajuće količine tečnog ili čvrstog uzorka na centar petri šolje u kojoj je ispitivani soj zasejan na čvrstu hranljivu podlogu (koja gotovo uvek sadrži agar). Rezultat se izražava kao prečnik zone inhibicije rasta mikroorganizama.

### **5.1.1. Antimikrobna aktivnost etarskih ulja**

Od taksona koji su predmet ove doktorske disertacije, antimikrobna aktivnost je do sada ispitivana za etarska ulja *H. sibiricum*, *H. orphanidis* i *H. ternatum*. U te svrhe primenjena je mikrodiluciona metoda (İşcan i sar., 2003; 2004; Maggi i sar., 2014; Miladinović i sar., 2013; Mileski i sar., 2016). Etarsko ulje nadzemnih delova *H. sibiricum* (biljni organi koji su ih činili nisu definisani) pokazalo je aktivnost (MIK i MBK vrednosti su iznosile od 2,43 do 9,72 mg/mL) prema Gram-pozitivnim bakterijama *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* i *Listeria monocytogenes*, i Gram-negativnim bakterijama *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter aerogenes* (Miladinović i sar., 2013). Antibakterijska aktivnost etarskog ulja nadzemnih delova u cvetu *H. orphanidis* (MIK=0,13-0,26 mg/mL, MBK=0,26-1,05 mg/mL) demonstrirana je na Gram-pozitivnim bakterijama *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* i *Micrococcus flavus*, i Gram-negativnim bakterijama *P. aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae* i *Escherichia coli*. Pokazana aktivnost je u nekim slučajevima bila uporediva sa pozitivnom kontrolom, streptomycinom. Dodatno, ovo etarsko ulje je redukovalo formiranje biofilma, sintezu pigmenta piocijanina i pojavu flagela *P. aeruginosa* PAO1 (Mileski i sar., 2016). Etarsko ulje plodova *H. ternatum* poreklom iz okoline Denizlija u Turskoj (bogat *n*-oktanolom) (MIK=0,03-1,00 mg/mL), kao i *n*-oktanol (MIK=0,12-1,00 mg/mL) bili su aktivni na Gram-pozitivne bakterije *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *B. cereus* i



*L. monocytogenes*, Gram-negativne bakterije *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *X. campestris* pv. *phaseoli*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *P. syringae* pv. *tomato* i *P. syringae* pv. *syringae*, i mikromicetu *Candida albicans*. Dodatno, ovo ulje je ispitivano i agar difuzionim testom (u koncentraciji 4,00 mg/mL) i pokazalo je slabu antifungalnu aktivnost prema *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Fusarium solani* i *Sclerotium rolfsii* (İşcan i sar., 2003). Aktivnost etarskog ulja plodova *H. ternatum* poreklom iz okoline Ankare u Turskoj (bogatog oktilacetatom) demonstrirana je na *C. albicans*, *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata* i *C. tropicalis* (MIK=0,25-2,00 mg/mL). U istom ispitivanju, prema navedenim sojevima aktivna bila su i ulja plodova *H. crenatifolium* (0,25-1,00 mg/mL) i *H. platytaenium* (0,25-2,00 mg/mL) (İşcan i sar., 2004). Sa druge strane, etarsko ulje plodova *H. ternatum* poreklom iz Italije, kao i njegove dominantne komponente, oktilacetat i oktilbutanoat, u koncentraciji 20,00 mg/mL, nisu pokazali aktivnost na *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* i *P. aeruginosa* (Maggi i sar., 2014).

Takođe, etarska ulja nekih drugih vrsta ovog roda su pokazala značajno antimikrobno dejstvo u mikrodilucionoj metodi. Za etarsko ulje nadzemnih delova u cvetu *H. thomsonii* demonstrirana je antibakterijska aktivnost (MIK=0,31-5,00 mg/mL, MBK=0,62-10,00 mg/mL) na Gram-pozitivne bakterije *S. aureus* i *Bacillus subtilis* i Gram-negativne bakterije *Burkholderia cepacia*, *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* i *P. aeruginosa*, kao i antifungalna aktivnost (MIK=0,31-1,25 mg/mL, MFK=1,25-5,00 mg/mL) na *C. albicans*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. sydowii*, *Issatchenkia orientalis* i *Trichophyton rubrum*. U nekim slučajevima pokazana aktivnost je bila uporediva sa pozitivnom kontrolom, ampicilinom ili flukonazolom (Guleria i sar., 2011). Antimikrobna aktivnost etarskog ulja plodova *H. mantegazzianum* i njegovih frakcija koje su se sastojale od 1-3 komponente ispitivana je na Gram-pozitivnim bakterijama *S. aureus* i *B. cereus*, Gram-negativnim bakterijama *E. coli*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Agrobacterium tumefaciens* i *Dickeya solani*, i mikromicetama *P. funiculosum*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani*. U najvećem broju slučajeva, ulje i frakcije nisu pokazale antibakterijsku aktivnost. U pogledu antifungalne aktivnosti, za etarsko ulje utvrđena MIK vrednost je iznosila od 6,60 do 15,30 mg/mL, a za frakciju koja je sadržala samo oktilacetat od 0,10 do 0,38 mg/mL

(Skalicka-Woźniak i sar., 2017). Antimikrobna aktivnost značajnog broja etarskih ulja vrsta roda *Heracleum* ispitivana je agar difuzionom metodom. Ulje plodova *H. platytaenium* (30 µL) nije pokazalo aktivnost prema *S. aureus*, Gram-negativnim bakterijama *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*, kao i *C. tropicalis*, ali je bilo aktivno na *C. albicans* i *C. glabrata* (zone inhibicije 10 i 32 mm). U slučaju *C. glabrata*, ulje je čak bilo aktivnije od pozitivne kontrole, amfotericina B (100 µg) (Akcin i sar., 2013). Etarska ulja cvasti, stabljike i plodova *H. rechingeri* (10 µL) pokazala su efekat prema *S. aureus* i *B. subtilis* (12-16 mm), ulje plodova i na *E. faecalis* i *K. pneumoniae* (9 i 10 mm), dok sva ulja nisu bila aktivna prema *E. coli* i *P. aeruginosa* (Najafabadi i sar., 2011). U istraživanju Habibi i sar. (2010), demonstrirana je aktivnost etarskog ulja listova ove vrste na *S. aureus* i *B. subtilis* (16 i 20 mm), i slaba aktivnost prema *E. coli* (7 mm), a u studiji Firuzi i sar. (2010), za etarska ulja (2 mg) nadzemnih delova ove biljke (6,4-11,3 mm), kao i *H. pastinacifolium* (6,4-10,6 mm), *H. persicum* (6,4-12,6 mm) i *H. transcaucasicum* (6,4-12,3 mm), pokazana je slaba aktivnost na *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *A. niger* i *C. albicans*. Za etarsko ulje korena *H. anisactis* demonstrirana je aktivnost (11-13 mm) prema *S. aureus*, *S. epidermidis* i *E. coli*, ali ne i na *P. aeruginosa* (Torbati i sar., 2014).

Takođe, prema dva tipa virusa gripa, A/Betezda/63/10/ H2N2 i B/Lee/40, ispitivana je aktivnost etarskih ulja korena i/ili plodova *H. aconitifolium*, *H. antasiaticum*, *H. asperum*, *H. circassicum* Manden., *H. dissectum*, *H. lehmannianum*, *H. leskovii*, *H. mantegazzianum*, *H. moellendorffii*, *H. nanum*, *H. pastinacifolium*, *H. ponticum*, *H. sosnowskyi* i *H. stevenii*. Ispitivanje je sprovedeno *in vivo* na miševima, kojima su ulja aplikovana profilaktički, oralno, nazalno ili inhalaciono, a praćeni su dužina perioda inkubacije i infekcije, težina infekcije pluća i broj uginulih životinja. Najbolji rezultati dobijeni su pri oralnoj primeni, a kao najaktivnija izdvojila su se ulja *H. lehmannianum*, *H. ponticum* i *H. aconitifolium*. Dodatno, određene su doze ulja koje pri oralnoj primeni dovode do smrti 50% ispitivanih životinja (LD<sub>50</sub>), i one su iznosile 0,25-0,40 mL (Tkachenko, 2006).

### **5.1.2. Antimikrobna aktivnost ekstrakata**

Od taksona roda *Heracleum* analiziranih u okviru ove doktorske disertacije, do sada je ispitivana antimikrobna aktivnost ekstrakata *H. orphanidis*, *H. sphondylium* i

*H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (Benedec i sar., 2017; Izzo i sar., 1995; Mileski i sar., 2016). U mikrodilucionom testu, suvi metanolni, etanolni i vodeni ekstrakti nadzemnih delova u cvetu i korena *H. orphanidis* pokazali su antibakterijsku aktivnost (MIK=0,20-10,00 mg/mL, MBK=0,30-14,00 mg/mL) na istim sojevima na kojima je testirano i etarsko ulje ove biljke, uključujući i efekte na *P. aeruginosa* PAO1, i dodatno, antifungalnu aktivnost (MIK=3,00-14,00 mg/mL, MFK=3,00-18,00 mg/mL) na *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Trichoderma viride*, *Penicillium ochrochloron*, *P. funiculosum* i *C. albicans* (Mileski i sar., 2016). Etanolni ekstrakti korena (6-16 mm), stabljika (6-12 mm), listova (6-18 mm), cvasti (6-18 mm) i plodova (6-16 mm) *H. sphondylium* su u agar difuzionoj metodi bili aktivni na *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* i *E. coli* (Benedec i sar., 2017). Preliminarno, agar difuzionom metodom, pokazana je i antimikrobna aktivnost suvog etanolnog ekstrakta (2,5 mg) nadzemnih delova *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* na Gram-pozitivne bakterije *B. subtilis* i *Streptococcus haemolyticus* (Izzo i sar., 1995).

Walasek i sar. (2015) ispitivali su mikrodilucionom metodom aktivnost suvog dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. mantegazzianum*, i iz njega izolovanih furanokumarina ksantotoksina, bergaptena, pimpinelina, imperatorina i felopterina na Gram-pozitivnim bakterijama *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *B. subtilis* i *B. cereus*, Gram-negativnim bakterijama *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* i *P. mirabilis*, i mikromicetama *C. albicans* i *C. parapsilosis*. Ekstrakt i furanokumarini su međusobno pokazali sličnu aktivnost na ispitivane Gram-pozitivne (MIK=0,03-1,00 mg/mL, MBK=0,25-1,00 mg/mL) i Gram-negativne bakterije (MIK=1,00 mg/mL, MBK=1,00 mg/mL), i mikromicete (MIK=0,06-0,50 mg/mL, MFK=0,50-1,00 mg/mL). Kako je najviša testirana koncentracija ekstrakta i furanokumarina bila 1 mg/mL, u nekim slučajevima antibakterijska aktivnost nije ustanovljena (Walasek i sar., 2015). Suve hloroformske frakcije metanolnih ekstrakata listova, kao i cvasti i plodova *H. platytaenium* su u istoj metodi pokazale antibakterijsku aktivnost (MIK=0,02-0,31 mg/mL) prema *S. aureus*, Gram-negativnim bakterijama *Branhamella catarrhalis* i *Helicobacter pylori*, kao i antifungalnu aktivnost (MIK=0,08-0,16 mg/mL) na *T. rubrum*. Dodatno, frakcija ekstrakta cvasti i plodova bila je aktivna (MIK=0,62 mg/mL) i prema *B. subtilis*, dok obe frakcije nisu pokazale aktivnost na

*E. coli* i *C. albicans*. Vodene frakcije ovih metanolnih ekstrakata nisu bile aktivne prema navedenim mikroorganizmima (Buruk i sar., 2006).

Antituberkulotska aktivnost poliacetilena i furanokumarina izolovanih iz metanolnog ekstrakta korena *H. maximum* ispitivana je na *Mycobacterium tuberculosis* uz korišćenje resazurina kao indikatora rasta. Značajnu aktivnost pokazali su (3*R*,8*S*)-falkarindiol (MIK=0,006 mg/mL) i 6-izopenteniloksiizobergaptin (MIK=0,050 mg/mL), dok su ostali izolovani furanokumarini, bergaptin, izobergaptin, angelicin, sfondin, pimpinelin i izopimpinelin, pokazali nešto slabiju (MIK=0,20-0,40 mg/mL), ali takođe interesantnu antituberkulotsku aktivnost (O'Neill i sar., 2013).

## 5.2. Citotoksično i hemopreventivno delovanje

Citotoksična aktivnost nekog agensa prema različitim tumorskim i normalnim ćelijama obično se ispituje MTT testom (eng. *Microculture Tetrazolium Test*), koji podrazumeva primenu 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolijum bromida (MTT reagensa) kao indikatora rasta ćelija. Rezultat se izražava kao koncentracija agensa koja inhibira rast 50% ćelija (IC<sub>50</sub>).

Od taksona roda *Heracleum* koji su predmet ove doktorske disertacije, do sada je ispitivana citotoksična aktivnost etarskog ulja plodova *H. ternatum* i etanolnog ekstrakta plodova *H. sibiricum* (Bogucka-Kocka i sar., 2008; Maggi i sar., 2014).

Citotoksična aktivnost etarskog ulja plodova *H. ternatum*, kao i njegovih dominantnih komponenti oktilacetata i oktilbutanoata, ispitivana je na ćelijskim linijama humanih tumora: adenokarcinoma dojke (MDA-MB 231), glioblastoma multiforme (T98G), malignog melanoma (A375) i karcinoma debelog creva (HCT116). Etarsko ulje i oktilbutanoat su bili aktivni prema ćelijskim linijama A375 (IC<sub>50</sub> vrednosti 48,69 i 20,19 µg/mL) i HCT116 (IC<sub>50</sub> vrednosti 95,83 i 55,35 µg/mL), ali nisu pokazali aktivnost na ćelijske linije MDA-MB 231 i T98G, u koncentraciji 200 µg/mL. U ovoj koncentraciji, oktilacetat nije bio toksičan ni za jednu od navedenih ćelijskih linija (Maggi i sar., 2014). Što se tiče ostalih etarskih ulja taksona ovog roda, ispitivan je efekat ulja nadzemnih delova *H. rechingeri*, *H. pastinacifolium*, *H. persicum* i *H. transcaucasicum* na ćelijama humanih tumora: adenokarcinoma grlića materice (HeLa), adenokarcinoma debelog creva (LS180) i B limfoma (Raji). Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *H. transcaucasicum* na svim ispitivanim ćelijskim linijama

( $IC_{50}$ =362,00-594,00  $\mu$ g/mL) i ulje *H. pastinacifolium* na LS180 ( $IC_{50}$ =497,00  $\mu$ g/mL) i Raji ćelijama ( $IC_{50}$ =537,00  $\mu$ g/mL) (Firuzi i sar., 2010). Takođe, slična citotoksična aktivnost demonstrirana je u slučaju etarskog ulja plodova *H. mantegazzianum* na tumorskim skvamoznim ćelijama farinksa (FaDu) i jezika (SCC-25), ali i na normalnim humanim embrionalnim (HEK) i animalnim (Vero) ćelijama ( $IC_{50}$ =262,30-567,80  $\mu$ g/mL) (Skalicka-Woźniak i sar., 2017).

Metoda koja podrazumeva bojenje nevijabilnih ćelija tripan plavim i utvrđivanje njihovog broja pod mikroskopom primenjena je u cilju ispitivanja citotoksične aktivnosti etanolnog ekstrakta plodova *H. sibiricum* na humane ćelijske linije akutne mijeloblastne (ML-1), akutne T ćelijske (J-45.01), eozinofilne (EOL), promijelocitne (HL-60), T ćelijske limfoblastne (1301) i T ćelijske (C-8166) leukemije, i humane ćelije mijeloma (U-266B1), kao i na humane normalne T ćelije (H-9) i B ćelije (WICL) ( $IC_{50}$ =65,00-300,00  $\mu$ g/mL). Aneksin V test je primenjen za procenu broja ovih ćelija u apoptozi (33-91%) pod mikroskopom (Bogucka-Kocka i sar., 2008).

Jedinjenja izolovana iz metanolnog ekstrakta korena *H. dissectum*, fenilpropanoid 3-*O*-(6-*O*- $\beta$ -D-ksilopiranoziloksi- $\beta$ -D-glukopiranozil)-4-hidroksi-1-alilbenzen, neolignani (7*S*,8*R*)-dehidrodikoniferil alkohol 4-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozid 9'-*n*-butanol etar, (7*S*,8*R*)-dihidrodehidrodikoniferil alkohol 4-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozid i (2*S*,3*S*,10*S*,20*R*)-2,3-dihidro-5-(10,20-dihidroksipropil)-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-metoksi-3-metilbenzofuran, i furanokumarin apterin su u MTT testu pokazali aktivnost prema humanim tumorskim ćelijskim linijama HeLa, kolorektalnog (HCT-8) i hepatocelularnog (HepG2) karcinoma ( $IC_{50}$ =5,80-18,60  $\mu$ mol/L), ili su bili neaktivni u koncentraciji 20,00  $\mu$ mol/L (Gao i sar., 2014). U istom testu pokazana je citotoksična aktivnost falkarinola ( $IC_{50}$ =3,70  $\mu$ g/mL) i falkarindiola ( $IC_{50}$ =23,20  $\mu$ g/mL), izolovanih iz hloroformskog ekstrakta korena *H. moellendorffii*, na ćelije malignog melanoma miša (B16F10) (Nakano i sar., 1998). Dodatno, 7-izopenteniloksikumarin izolovan iz *H. lanatum* (biljni organ i način pripreme ekstrakta nisu navedeni), inhibirao je aktivaciju *Epstein-Barr*-ovog virusa, kao i metabolizam fosfolipida u kulturi ćelija nakon stimulacije 12-*O*-tetradekanoilforbol-13-acetatom (TPA), koji je potentni promotor kancerogeneze. Takođe, ovaj kumarin je inhibirao razvoj tumora kože miša nakon topikalne aplikacije inicijatora 7,12-dimetilbenz[*a*]antracena (DMBA) i promotora kancerogeneze TPA (Baba i sar., 2002).

### 5.3. Antioksidantni potencijal

Antioksidantna aktivnost različitih izolata taksona roda *Heracleum* ispitivana je primenom nekoliko kolorimetrijskih *in vitro* testova. Najčešće je ispitivana sposobnost neutralizacije slobodnih radikala, što je dovelo do odgovarajuće promene boje reakcione smeše, a nastala promena u apsorbciji detektovana je na spektrofotometru. Najviše je ispitivana sposobnost neutralizacije 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikala, a zatim i 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS), azot-monoksid (NO<sup>•</sup>), hidroksi (OH<sup>•</sup>) i superoksid anjon (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) radikala, kao i slobodnih radikala nastalih iz linolne kiseline koji reaguju sa β-karotenom u β-karoten/linolna kiselina testu. Takođe, ispitivana je sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije mikrozoama pomoću Fe<sup>2+</sup>. Ukupni antioksidantni potencijal određivan je FRAP testom (eng. *Ferric Reducing Antioxidant Power*) koji se zasniva na redukciji Fe<sup>3+</sup> do Fe<sup>2+</sup> oblika uz odgovarajuću promenu boje reakcione smeše. Rezultati su izražavani kao % inhibicije slobodnog radikala od strane izolata određene koncentracije, kao koncentracija izolata koja izaziva inhibiciju 50% slobodnih radikala (IC<sub>50</sub>) i/ili kao broj ekvivalenata nekog poznatog antioksidansa po jedinici mere izolata, što je računato iz kalibracione krive dobijene za taj antioksidans.

Od taksona roda *Heracleum* koji su predmet ove doktorske disertacije, do sada je ispitivana antioksidantna aktivnost etarskih ulja plodova *H. ternatum* i nadzemnih delova *H. orphanidis*, kao i ekstrakata različitih biljnih organa *H. orphanidis* i *H. sphondylium* (Benedec i sar., 2017; Maggi i sar., 2014; Mileski i sar., 2016).

Etarska ulja plodova *H. ternatum* i nadzemnih delova *H. orphanidis* neutralisala su DPPH radikal (IC<sub>50</sub> vrednosti 0,11 i 2,02 mg/mL), a ulje *H. ternatum* i ABTS radikal (IC<sub>50</sub>=0,16 mg/mL). Dominantna komponenta ulja *H. ternatum*, oktilacetat, inhibirala je ABTS radikal (IC<sub>50</sub>=0,55 mg/mL). Za ovo ulje određen je i ukupni antioksidantni potencijal; FRAP vrednost iznosila je 77,35 μmol troloks ekvivalenata/g ulja (Maggi i sar., 2014; Mileski i sar., 2016). Što se tiče etarskih ulja ostalih taksona roda *Heracleum*, za ulja nadzemnih delova *H. rechingeri*, *H. pastinacifolium*, *H. persicum* i *H. transcausicum* demonstrirana je anti-DPPH aktivnost (IC<sub>50</sub>=7,30-16,30 mg/mL) (Firuzi i sar., 2010), a za ulje plodova *H. aquilegifolium* sposobnost neutralizacije DPPH, NO<sup>•</sup>, OH<sup>•</sup> i O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikala (u koncentraciji 0,40 mg/mL aktivnost ulja se kretala od 81,40-98,62%) (Karuppusamy i Muthuraja, 2010).

Za suvi metanolni, etanolni i vodeni ekstrakt korena i nadzemnih delova *H. orphanidis* utvrđena je sposobnost neutralizacije DPPH ( $IC_{50}=0,55-2,81$  mg/mL) i ABTS radikala (0,20-1,13 mg ekvivalenata vitamina C/g suvog ekstrakta), kao i antiradikalni potencijal u  $\beta$ -karoten/linolna kiselina testu ( $IC_{50}=4,28-17,46$  mg/mL) (Mileski i sar., 2016). Polifenolima bogati etanolni ekstrakti listova i cvasti *H. sphondylium* neutralisali su DPPH radikal ( $IC_{50}$  vrednosti 0,12 i 0,17 mg/mL), a za ekstrakte korena, stabljika, listova, cvasti i plodova utvrđen je ukupni antioksidantni potencijal; FRAP vrednost je iznosila 48-1128  $\mu$ mol/L troloks ekvivalenata/100 mL ekstrakta (Benedec i sar., 2017). Što se tiče ekstrakata ostalih taksona ovog roda, pokazana je anti-DPPH aktivnost za suvi metanolni ekstrakt nadzemnih delova *H. dissectum* ( $IC_{50}=0,22$  mg/mL) i njegove različite frakcije ( $IC_{50}=0,05-0,33$  mg/mL), kao i za suve metanolne ekstrakte plodova ( $IC_{50}=0,22$  mg/mL) i nadzemnih delova *H. persicum* ( $IC_{50}=0,44$  mg/mL). Za suvi metanolni ekstrakt nadzemnih delova *H. persicum* pokazana je i sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije ( $IC_{50}=0,50$  mg/mL) (Afrisham i sar., 2015; Çoruh i sar., 2007; Zhang i sar., 2017b).

Dodatno, za furanokumarine izolovane iz heksanskog ekstrakta korena *H. persicum*, melendorfilin, pimpinelin, sfondin, heratomin, ksantotoksin, izopimpinelin, izobergaptin i bergaptin, demonstrirana je anti-DPPH aktivnost ( $IC_{50}=0,2-32,8$   $\mu$ mol/L). Aktivnost melendorfilina bila je slična pozitivnoj kontroli, butilovanom hidroksitoluenu, BHT-u ( $IC_{50}=0,1$   $\mu$ mol/L) (Dehghan i sar., 2017).

#### **5.4. Insekticidno i repelentno delovanje**

Kontaktna toksičnost etarskog ulja nadzemnih delova u cvetu *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (u radu vodenog pod imenom *H. sphondylium* subsp. *pyrenaicum*) ispitivana je na larvama komarca *Culex pipiens* L. Koncentracija etarskog ulja koja je bila letalna za 50% larvi tretiranih 48 h ( $LC_{50}$ ) iznosila je 77,41  $\mu$ g/mL ( $LC_{90}$  je iznosila 100,11  $\mu$ g/mL) (Evergetis i sar., 2009). Kontaktna toksičnost etarskih ulja plodova *H. sphondylium* i *H. ternatum* ispitana je na larvama komarca *C. quinquefasciatus* Say ( $LC_{50}$  određene nakon 24 h su iznosile 73,8 i 64,9  $\mu$ L/L, a  $LC_{90}$  104,6 i 96,4  $\mu$ L/L) (Pavela i sar., 2017). Slično, etarsko ulje nadzemnih delova u cvetu *H. moellendorffii* pokazalo je kontaktnu i fumigantnu toksičnost na odrasle jединke *Sitophilus zeamais* Motsch. i *Tribolium castaneum* Herbst, insekte koji uzrokuju štetu na uskladištenim

žitaricama (Chu i sar., 2012), a ulje plodova *H. persicum* kontaktnu toksičnost na larve komarca *Anopheles stephensi* Liston (Sedaghat i sar., 2011), fumigantnu toksičnost na odrasle jedinke štetočine uskladištenih leguminoza *Callosobruchus maculatus* F. (Manzoomi i sar., 2010), kao i kontaktnu i fumigantnu toksičnost, i repelentnu aktivnost na *Tribolium castaneum* Herbst, insekta koji uzrokuje štetu na uskladištenom povrću i žitaricama (Ebadollahi i sar., 2014).

### **5.5. Antikonvulzivna aktivnost**

Za smeše furanokumarina korena *H. verticillatum* i *H. sibiricum* pokazan je antikonvulzivni efekat *in vivo* na miševima i pacovima (Rusinov, 1966). Za etarsko ulje plodova *H. crenatifolium* (0,84 mL/kg, *i.p.*), suhu furanokumarinsku frakciju petroletarskog ekstrakta plodova ove vrste, i iz nje izolovane furanokumarine bergapten, izobergapten, izopimpinelin i biakangelikol (60 mg/kg, *i.p.*), demonstrirana je aktivnost u modelu maksimalnih, elektrošokovima izazvanih konvulzija u miša (Tosun i sar., 2008). Slično, u ovom i u modelu konvulzija izazvanih pentilentetrazolom u miša, pokazana je aktivnost za suvi acetonski ekstrakt plodova *H. persicum* (100-450 mg/kg *i.p.*) (Sayyah i sar., 2005). U oba slučaja primećeno je da primenjene doze ne deluju neurotoksično u rotarod testu (Sayyah i sar., 2005; Tosun i sar., 2008).

### **5.6. Antihipertenzivna, antihiperlipidemijska i antihiperholesterolemijska aktivnost**

Vazorelaksantna aktivnost suve dihlormetanske frakcije vodenoalkoholnog ekstrakta nadzemnih delova *H. sphondylium* pokazana je na izolovanoj torakalnoj aorti pacova (Senejoux i sar., 2013). Etarsko ulje (200 µL/kg, *p.o.* tokom sedam nedelja) i suvi vodenoalkoholni ekstrakt (1000 mg/kg, isti režim primene kao u slučaju ulja) plodova *H. persicum* su snizili nivo triglicerida i LDL holesterola, a povećali nivo HDL holesterola u serumu kunića na ishrani bogatoj holesterolom (Hajhashemi i sar., 2014). U randomizovanoj, otvorenoj kliničkoj studiji na 100 pacijenata sa dislipidemijom, pokazano je da ekstrakt *H. persicum* (ne navodi se ispitivani biljni organ i sredstvo za ekstrakciju) u kombinaciji sa atorvastatinom (500 mg/dan + 10 mg/dan, *p.o.* tokom osam nedelja) snižava serumski nivo LDL holesterola uporedivo sa atorvastatinom primenjenim samostalno (20 mg/dan). Sa druge strane, navedena kombinacija nije pokazala značajne efekte u pogledu povećanja serumskih nivoa HDL holesterola i



sniženja nivoa triglicerida u odnosu na monoterapiju atorvastatinom. Međutim, nije došlo ni do značajne promene serumskih nivoa enzima jetre, alanin i aspartat aminotrasferaza, koji su bili povišeni kod grupe koja je primala samo atorvastatin (Panahi i sar., 2011). U randomizovanoj, dvostruko slepoj i placebo-kontrolisanoj kliničkoj studiji na 27 dobrovoljaca (sa suženjem glavnih koronarnih arterija manjim od 50%), pokazano je da suplementacija suvim vodenoalkoholnim ekstraktom plodova *H. persicum* tokom šest meseci (300 mg/dan, *p.o.*), dovodi do značajnog sniženja serumskih triglicerida, bez uticaja na nivo LDL i HDL holesterola (Dadjo i sar., 2015). Međutim, kod ovih pacijenata nije došlo do poboljšanja stenoze koronarnih arterija, zaustavljanja progresije bolesti i ublažavanja simptoma angine pektoris u odnosu na placebo (Panahi i sar., 2015a). U okviru ove iste studije, utvrđeno je i sniženje serumskih nivoa markera inflamacije C reaktivnog proteina u odnosu na placebo, ali ne i sniženje medijatora inflamacije interleukina 6 i 8 (IL-6 i IL-8) (Panahi i sar., 2015b).

### **5.7. Antiinflamatorna i analgetska aktivnost**

Pored prethodno navedene kliničke studije, antiinflamatorna aktivnost izolata biljaka roda *Heracleum* ispitivana je u još tri prekliničke studije. Etarsko ulje (50-200 mg/kg) i suvi vodenoalkoholni ekstrakt (200-500 mg/kg) plodova *H. persicum* pokazali su analgetsku aktivnost u modelu bola izazvanog injektovanjem formalina (*i.pl.*) ili sirćetne kiseline (*i.p.*) u miša, i antiedematoznu aktivnost u modelu karageninom (*i.pl.*) izazvane inflamacije šape u pacova (Hajhashemi i sar., 2009). Alkaloid (3*S*,13*E*)-3-(4-(3-hidroksiprop-1-en-1-il)-2-metoksifenoksi)-piperidin-2-on (IC<sub>50</sub>=18,1 μmol/L) i furanokumarini bergapten, ksantotoksol, izopimpinelin, izobergapten, heratomol-6-*O*-β-D-glukopiranozid i apterin (IC<sub>50</sub>=41,8-89,2 μmol/L), izolovani iz metanolnog ekstrakta korena *H. dissectum*, kao i jednostavni kumarin dehidrogeijerin (efekat 40,0 μg/mL uporediv sa deksametazonom), izolovan iz etanolnog ekstrakta listova *H. moellendorffii*, snizili su produkciju NO iz lipopolisaharidom (LPS) stimulisanih RAW264.7 ćelija, što je utvrđeno kolorimetrijski nakon dodavanje Griess-ovog reagensa (Bae i sar., 2012; Zhang i sar., 2017a). Dodatno, dehidrogeijerin je snizio produkciju proinflamatornih citokina iz ovih ćelija, što je pokazano ELISA testom i ekspresiju COX-2, što je utvrđeno *Western blot* testom (Bae i sar., 2012).

### 5.8. Imunomodulatorna aktivnost

Imunostimulirajući efekat pokazan je za dekokte pripremljene od celog i samlevenog korena *H. maximum*. U razblaženjima od 1:50 do 1:400 dekokti su doveli do povećanja lučenja IL-6 iz makrofaga *in vitro*, što je utvrđeno ELISA testom (Webster i sar., 2006). U dozama 50-200 mg/kg (*i.p.* tokom 5 dana) liofilizirani vodeni macerat plodova *H. persicum* doveo je do povećanja mase slezine miša, a nakon imunizacije ovčjim eritrocitima, do povećanja otoka šapice u modelu preosetljivosti kasnog tipa i titra antitela u krvi (određenog na osnovu hemaglutinacije eritrocita), što znači da je došlo do stimulacije i celularnog i humoralnog imunog odgovora, redom (Sharififar i sar., 2009).

### 5.9. Antidijabetička aktivnost

Suvi metanolni ekstrakt nadzemnih delova *H. dissectum* i njegova furanokumarinima bogata petroletarska frakcija (u dozama 125,00 i 250,00 mg/kg, *p.o.*) pokazali su sličnu hipoglikemijsku aktivnost u modelu streptozotocinom indukovano dijabetesa u miševa (Zhang i sar., 2017b). U cilju utvrđivanja mehanizma ovog efekta obično se kolorimetrijski, *in vitro* ispituje sposobnost inhibicije  $\alpha$ -amilaze i  $\alpha$ -glukozidaze. Ovi enzimi imaju značajnu ulogu u digestiji skroba, tj. oslobađanju prostih šećera koji se zatim lako apsorbuju u gastrointestinalnom traktu. Za suve metanolne ekstrakte nadzemnih delova *H. dissectum* i plodova *H. persicum* demonstrirana je međusobno slična sposobnost inhibicije  $\alpha$ -amilaze (300,00 i 307,83  $\mu\text{g/mL}$ ) (Afrisham i sar., 2015; Zhang i sar., 2017b). Zhang i sar. (2017b) su procenili da ova aktivnost nije značajna i da je neki drugi mehanizam zaslužan za demonstrirano *in vivo* antihiperглиkemijsko dejstvo ekstrakta *H. dissectum*. Sa druge strane, suvi heksanski ekstrakt korena *H. persicum* ( $\text{IC}_{50}$ =13,50  $\mu\text{g/mL}$ ) i iz njega izolovani furanokumarin melendorfilin ( $\text{IC}_{50}$ =17,90 nmol/L) značajno su inhibirali  $\alpha$ -glukozidazu. Ovaj efekat je čak bio uporediv sa pozitivnom kontrolom, akarbozom. Nešto slabija aktivnost pokazana je za ostale izolovane furanokumarine heratomin, pimpinelin, bergapten, sfondin, ksantotoksin, izopimpinelin i izobergapten ( $\text{IC}_{50}$ =69,90-385,30 nmol/L) (Dehghan i sar., 2017).

### **5.10. Antiholinesterazna aktivnost**

U potrazi za novim potencijalnim lekovima za Alchajmerovu bolest, pomoću kolorimetrijske *Ellman*-ove metode, pokazana je inhibicija enzima acetilholinesteraze (AChE) i butirilholinesteraze (BChE) od strane suvog petroletarskog i metanolnog ekstrakta nadzemnih delova *H. platytaenium* (u koncentraciji 200 µg/mL, inhibicija AChE je bila 49,28 i 49,86%, a inhibicija BChE 56,59 i 65,51%), i izolovanih furanokumarina psoralena, bergaptena, ksantotoksina, pimpinelina, izopimpinelina, sfondina, biakangelicina i apterina (u koncentracijama 25-200 µg/mL, inhibicija AChE je bila 20,33-78,57%, a inhibicija BChE 5,01-82,17%) (Dincel i sar., 2013).

### **5.11. Sedativno delovanje**

Inhalacija etarskog ulja plodova *H. afghanicum* i njegovih dominantnih komponenti heksilbutanoata i oktilacetata (0,04-4,00 mg ulja ili komponente po kavezu) dovela je do sedativnog efekta kod miševa, tj. smanjila je njihovu spontanu lokomotornu aktivnost u testu otvorenog polja (Karimi i Ito, 2012).

### **5.12. Ispitivanje uticaja na reproduktivnu sposobnost**

Suvi metanolni ekstrakt cvasti *H. persicum* (500 mg/kg/dan, *p.o.*) delovao je protektivno na gamete pacova muškog pola tokom 21 dana istovremene primene sa ciklofosamidom (5 mg/kg/dan, *i.p.*), što je utvrđeno posmatranjem poprečnog preseka testisa (Dalouchi i sar., 2014). Sa druge strane, suvi vodenoalkoholni ekstrakt plodova ove biljke (400 i 1600 mg/kg/dan *i.p.*) inhibirao je folikulogenezu kod ženki pacova, što je utvrđeno nakon primene tokom 21 dana i posmatranja poprečnog preseka jajnika (Hemati i sar., 2012).

## CILJ

Cilj ove doktorske disertacije je ispitivanje devet taksona roda *Heracleum* autohtonih za jugoistočnu Evropu, i to osam predstavnika tipske sekcije: sedam iz grupe *H. sphondylium* (*H. sphondylium* L., *H. sibiricum* L., *H. montanum* Schleich. ex Gaudin, *H. ternatum* Velen., *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (Bertol.) F. Pedrotti & Pignatti, *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (Guss.) F. Pedrotti & Pignatti i *H. verticillatum* Pančić), i *H. orphanidis* Boiss., kao i *H. austriacum* subsp. *siifolium* (Scop.) Nyman iz *H. sect. Wendia* (Hoffm.) DC., u pogledu:

1. kvalitativnog i kvantitativnog sastava etarskih ulja izolovanih iz različitih delova/organa, kao i ispitivanje antimikrobne, citotoksične i/ili antiradikalske aktivnosti odabranih izolovanih etarskih ulja;

2. kvalitativnog i kvantitativnog sastava furanokumarina dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa i plodova;

3. hemosistematskog značaja identifikovanih komponenti etarskih ulja i furanokumarina i

4. kvalitativnog i kvantitativnog sastava masnih kiselina, sterola i triterpena masnih ulja plodova.

## MATERIJAL I METODE

### 1. Biljni materijal

U okviru ove doktorske disertacije ispitivani su podzemni organi (koren ili rizom), kao i nadzemni organi/delovi (listovi, cvasti, nadzemni delovi u cvetu i/ili plodovi) devet biljaka roda *Heracleum*. Biljni materijal je identifikovao naučni i muzejski savetnik, dr sc. Marjan Niketić, kustos Prirodnjačkog muzeja u Beogradu. Herbarski primerci deponovani su u Herbarijumu Prirodnjačkog muzeja u Beogradu (BEO). Sakupljen biljni materijal je osušen na senovitom, dobro provetrenom mestu, na sobnoj temperaturi, i čuvan na tamnom i hladnom mestu do destilacije vodenom parom i/ili ekstrakcije dihlormetanom.

Sakupljeni biljni organi ili delovi, lokaliteti i datumi sakupljanja, kolektorski brojevi, hemijski analizirani izolati i testirana biološka aktivnost ispitivanih taksona roda *Heracleum* prikazani su u **Tabeli 4**.

**Tabela 4.** Sakupljeni biljni organi ili delovi, lokaliteti i datumi sakupljanja, kolektorski brojevi, hemijski analizirani izolati i testirana biološka aktivnost ispitivanih taksona roda *Heracleum*

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Kolektorski broj	Hemijski analizirani izolati	Ispitivana biološka aktivnost
<i>H. sphondylium</i>	Koren	Krško i Litija (SLO)	09/2015	20150704/01	etarsko ulje dihlormetanski ekstrakt	antimikrobna, citotoksična –
	List	Krško i Litija (SLO)	07/2015	20150704/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Cvast	Krško i Litija (SLO)	07/2015	20150704/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Plod	Krško i Litija (SLO)	09/2015	20150704/01	etarsko ulje dihlormetanski ekstrakt	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska –
<i>H. sibiricum</i>	Koren	Okolina Niša (SRB)	11/2011	20140717/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
	Koren	Okolina Niša (SRB)	10/2013	20140717/01	etarsko ulje dihlormetanski ekstrakt	– –
	Koren	Žarkova čuka, Stara planina (SRB)	09/2012	20120904/01	etarsko ulje	–
	Koren	Arbinje, Stara planina (SRB)	07/2014	20140722/01	etarsko ulje	–
	List	Okolina Niša (SRB)	09/2011	20140717/01	etarsko ulje	–
	List	Okolina Niša (SRB)	2012	20140717/01	etarsko ulje	–
	List	Okolina Niša (SRB)	06/2014	20140717/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	List	Žarkova čuka, Stara planina (SRB)	09/2012	20120904/01	etarsko ulje	–
	List	Arbinje, Stara planina (SRB)	07/2014	20140722/01	etarsko ulje	–

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Kolektorski broj	Hemijski analizirani izolati	Ispitivana biološka aktivnost
	List	Veliki Jastrebac (SRB)	09/2011	20110904/04	etarsko ulje	–
	List	Suva planina (SRB)	08/2013	20130803/01	etarsko ulje	–
	List	Jelašnička klisura (SRB)	05/2014	20140515/01	etarsko ulje	–
	Cvast	Okolina Niša (SRB)	07/2014	20140717/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Cvast	Arbinje, Stara planina (SRB)	07/2014	20140722/01	etarsko ulje	–
	Plod	Okolina Niša (SRB)	09/2011	20140717/01	etarsko ulje	–
	Plod	Okolina Niša (SRB)	09/2014	20140717/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	Plod	Žarkova čuka, Stara planina (SRB)	09/2012	20120904/01	etarsko ulje	–
	Plod	Arbinje, Stara planina (SRB)	07/2014	20140722/01	etarsko ulje	–
	Plod	Veliki Jastrebac (SRB)	09/2011	20110904/04	etarsko ulje	–
<i>H. montanum</i>	Koren	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	09/2015	20150707/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
					dihlormetanski ekstrakt	–
	List	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	07/2015	20150707/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Cvast	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	07/2015	20150707/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Plod	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	09/2015	20150707/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Kolektorski broj	Hemijski analizirani izolati	Ispitivana biološka aktivnost
<i>H. ternatum</i>	Koren	Durmitor (MNE)	08/2013	20130807/14	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	List	Durmitor (MNE)	08/2013	20130807/14	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	List	Durmitor (MNE)	07/2014	20130807/14	etarsko ulje	–
	Cvast	Durmitor (MNE)	07/2014	20130807/14	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Plod	Durmitor (MNE)	08/2013	20130807/14	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	Plod	Durmitor (MNE)	08/2014	20130807/14	etarsko ulje	–
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>pollinianum</i>	Koren	Bistra (MKD)	07/2010	20100702/01	etarsko ulje	–
	Koren	Galičica (MKD)	07/2012	20120716/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Koren	Jablanica (MKD)	08/2015	20090801/32	etarsko ulje	antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	List	Galičica (MKD)	07/2012	20120716/01	etarsko ulje	antimikrobna
	Cvast	Galičica (MKD)	07/2012	20120716/01	etarsko ulje	antimikrobna
	Plod	Jablanica (MKD)	08/2009	20090801/32	etarsko ulje	antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
		Plod	Galičica (MKD)	07/2012	20120716/01	etarsko ulje



Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Kolektorski broj	Hemijski analizirani izolati	Ispitivana biološka aktivnost
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>orsinii</i>	Koren	Durmitor (MNE)	08/2013	20110804/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	List	Durmitor (MNE)	08/2013	20110804/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Cvast	Durmitor (MNE)	08/2013	20110804/01	etarsko ulje	–
	Plod	Durmitor (MNE)	08/2011	20110804/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	Plod	Durmitor (MNE)	08/2013	20110804/01	etarsko ulje	–
<i>H. verticillatum</i>	Koren	Vražja glava, Stara planina (SRB)	06/2010	20100604/05	etarsko ulje	–
	Koren	Arbinje, Stara planina (SRB)	08/2012	20140722/02	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Koren	Arbinje, Stara planina (SRB)	07/2014	20140722/02	etarsko ulje	antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
	List	Arbinje, Stara planina (SRB)	07/2014	20140722/02	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Plod	Vražja glava, Stara planina (SRB)	06/2010	20100604/05	etarsko ulje	–
	Plod	Arbinje, Stara planina (SRB)	08/2012	20140722/02	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Plod	Arbinje, Stara planina (SRB)	08/2013	20140722/02	etarsko ulje	antiradikalska
					dihlormetanski ekstrakt	–
<i>H. orphanidis</i>	Koren	Planina Baba (MKD)	07/2012	20120706/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična
	Koren	Planina Baba (MKD)	07/2016	20120706/01	etarsko ulje	–
					dihlormetanski ekstrakt	–

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Kolektorski broj	Hemijski analizirani izolati	Ispitivana biološka aktivnost
	List	Planina Baba (MKD)	07/2012	20120706/01	etarsko ulje	antimikrobna
	Cvast	Planina Baba (MKD)	07/2016	20120706/01	etarsko ulje	antimikrobna
	Plod	Planina Baba (MKD)	07/2012	20120706/01	etarsko ulje	antimikrobna, citotoksična, antiradikalska
<i>H. austriacum</i> subsp. <i>siifolium</i>	Rizom	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	07/2015	20150713/01	dihlormetanski ekstrakt	–
					etarsko ulje	–
					dihlormetanski ekstrakt	–
	Nadzemni delovi u cvetu	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	07/2015	20150713/01	etarsko ulje	–
	Plod	Kamniško-Savinjski Alpi (SLO)	07/2015	20150713/01	etarsko ulje dihlormetanski ekstrakt	antiradikalska –

## 2. Aparatura

Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja izolovanih iz podzemnih organa i plodova svih devet ispitivanih taksona, listova i cvasti osam ispitivanih taksona i nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium*, kao i masnih kiselina uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova osam ispitivanih taksona, urađena je pomoću Agilent 6890N gasnog hromatografa (Agilent Technologies, SAD) opremljenog plameno-jonizujućim detektorom (FID) i spregnutog sa Agilent 5975C masenim (MS) detektorom (GC-FID i GC-MS). Za analizu etarskih ulja upotrebljena je kapilarna kolona HP-5MS (Agilent; 30 m × 0,32 mm; debljina filma stacionarne faze 0,25 μm), a za analizu masnih kiselina kapilarna kolona HP-88 (Agilent; 100 m × 0,25 mm; debljina filma stacionarne faze 0,20 μm). Statička *headspace* ekstrakcija podzemnih organa i plodova urađena je pomoću automatskog *headspace sampler*-a Agilent G1888 spregnutog sa gore navedenim gasnim hromatografom opremljenim HP-5MS kolonom.

Jednodimenzionalni  $^1\text{H}$  NMR spektri komponenti koje su iskristalisale iz etarskih ulja podzemnih organa *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* snimljeni su korišćenjem magnetu od 200 MHz na uređaju Avance III (Bruker). Uzorci su rastvarani u deuterohloroformu ( $\text{CDCl}_3$ ). Kao interni standard korišćen je tetrametilsilan.

Kvalitativna i kvantitativna analiza sterola i triterpena uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova osam ispitivanih taksona urađena je pomoću Agilent 7890A gasnog hromatografa opremljenog FID detektorom, kapilarnom kolonom HP-5MS i spregnutog sa Agilent 5975C MS detektorom.

Kvalitativna i kvantitativna analiza furanokumarina suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa i kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova devet ispitivanih taksona urađena je na Agilent 1260/6130 tečnom hromatografu, čije osnovne komponente su degaser (model G1311B), kvarternerna pumpa (G1311B/1260), *autosampler* (G1329B), frakcioni kolektor (G1364C), DAD detektor (G4212B) i jednostruki kvadrupol API-ESI maseni detektor (6130) (LC-MS). Kao kolona korišćena je Zorbax SB-C<sub>18</sub> (Agilent; 250 × 4,6 mm; veličina čestica stacionarne faze 5 μm).

Jednodimenzionalni  $^1\text{H}$  i dvodimenzionalni ROESY NMR spektri metanolnih frakcija dihlormetanskog ekstrakta podzemnih organa *H. ternatum* i kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata *H. ternatum* i *H. sphondylium* snimljeni su korišćenjem

magneta od 400 MHz na uređaju Avance III (Bruker). Frakcije su rastvarane u  $\text{CDCl}_3$ . Kao interni standard korišćen je tetrametilsilan.

Prilikom ispitivanja citotoksične aktivnosti odabranih etarskih ulja MTT testom, apsorbanacija je merena na ELISA čitaču Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Australija).

Spektrofotometrijsko određivanje antiradikalske aktivnosti, tj. sposobnosti neutralizacije DPPH radikala, odabranih etarskih ulja vršeno je na spektrofotometru Evolution 300 (Thermo Scientific, SAD).

### 3. Izolovanje, kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja i *headspace* frakcija

#### 3.1. Izolovanje etarskih ulja

Kako je etarsko ulje biljaka roda *Heracleum* lokalizovano endogeno (Bicchi i sar., 1990), neposredno pre izolacije, podzemni organi i plodovi su samleveni, a listovi i cvasti (odnosno nadzemni delovi u cvetu u slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium*) fino usitnjeni. Etarska ulja su izolovana destilacijom vodenom parom, u aparaturi po *Clevenger*-u, po proceduri Evropske farmakopeje 7.0, uz korišćenje *n*-heksana kao rastvarača (1 mL), tokom 2,5 h. Izolovana etarska ulja su filtrirana preko bezvodnog natrijum sulfata i čuvana na 4 °C do analize. Sadržaj etarskih ulja određivan je gravimetrijski (% *m/m*) i izračunavan prema formuli:

$$\% \text{ m/m etarskog ulja} = b/a \times 100$$

a – masa osušenog biljnog materijala (g),

b – masa etarskog ulja (g).

Prinos etarskih ulja podzemnih i nadzemnih organa ili delova ispitivanih biljaka roda *Heracleum*, kao i boja izolovanih etarskih ulja prikazani su u **Tabeli 5**.

**Tabela 5.** Prinos i boja etarskih ulja izolovanih iz podzemnih i nadzemnih organa ili delova ispitivanih taksona roda *Heracleum*

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Prinos, % (m/m)	Boja
<i>H. sphondylium</i>	Podzemni organi	Krško i Litija	09/2015	0,09	žuta
	List	Krško i Litija	07/2015	0,14	žuta
	Cvast	Krško i Litija	07/2015	0,12	žuta
	Plod	Krško i Litija	09/2015	0,99	bezbojno
<i>H. sibiricum</i>	Podzemni organi	Okolina Niša	11/2011	0,41	žuta
	Podzemni organi	Okolina Niša	10/2013	0,07	žuta
	Podzemni organi	Žarkova čuka, Stara planina	09/2012	0,63	žuta
	Podzemni organi	Arbinje, Stara planina	07/2014	0,85	žuta
	List	Okolina Niša	09/2011	0,12	žuta
	List	Okolina Niša	2012	0,13	žuta
	List	Okolina Niša	06/2014	0,13	žuta
	List	Žarkova čuka, Stara planina	09/2012	0,21	žuta
	List	Arbinje, Stara planina	07/2014	0,14	žuta
	List	Veliki Jastrebac	09/2011	0,08	žuta
	List	Suva planina	08/2013	0,14	žuta
	List	Jelašnička klisura	05/2014	0,12	žuta
	Cvast	Okolina Niša	07/2014	0,49	žuta
	Cvast	Arbinje, Stara planina	07/2014	0,53	žuta
	Plod	Okolina Niša	09/2011	0,95	bezbojno

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Prinos, % (m/m)	Boja
	Plod	Okolina Niša	09/2014	1,38	bezbojno
	Plod	Žarkova čuka, Stara planina	09/2012	1,11	bezbojno
	Plod	Arbinje, Stara planina	07/2014	1,27	svetložuta
	Plod	Veliki Jastrebac	09/2011	0,86	bezbojno
<i>H. montanum</i>	Podzemni organi	Kamniško-Savinjski Alpi	09/2015	0,08	žuta
	List	Kamniško-Savinjski Alpi	07/2015	0,13	žuta
	Cvast	Kamniško-Savinjski Alpi	07/2015	0,10	žuta
	Plod	Kamniško-Savinjski Alpi	09/2015	1,42	bezbojno
<i>H. ternatum</i>	Podzemni organi	Durmitor	08/2013	0,19	žuta
	List	Durmitor	08/2013	0,25	žuta
	List	Durmitor	07/2014	0,20	žuta
	Cvast	Durmitor	07/2014	0,24	žuta
	Plod	Durmitor	08/2013	0,85	svetložuta
	Plod	Durmitor	08/2014	0,68	svetložuta
<i>H. pyrenaicum</i>	Podzemni organi	Bistra	07/2010	0,25	žuta
<i>subsp. pollinianum</i>	Podzemni organi	Galičica	07/2012	0,25	žuta
	Podzemni organi	Jablanica	08/2015	0,38	žuta
	List	Galičica	07/2012	0,22	žuta
	Cvast	Galičica	07/2012	0,27	žuta
	Plod	Jablanica	08/2009	1,90	bezbojno
	Plod	Galičica	07/2012	1,66	bezbojno

Takson	Biljni organ/deo	Lokalitet	Datum	Prinos, % (m/m)	Boja
<i>H. pyrenaicum</i>	Podzemni organi	Durmitor	08/2013	0,13	žuta
subsp. <i>orsinii</i>	List	Durmitor	08/2013	0,20	žuta
	Cvast	Durmitor	08/2013	0,21	žuta
	Plod	Durmitor	08/2011	0,61	svetložuta
	Plod	Durmitor	08/2013	1,27	svetložuta
<i>H. verticillatum</i>	Podzemni organi	Vražja glava, Stara planina	06/2010	0,36	žuta
	Podzemni organi	Arbinje, Stara planina	08/2012	0,32	žuta
	Podzemni organi	Arbinje, Stara planina	07/2014	0,25	žuta
	List	Arbinje, Stara planina	07/2014	0,10	žuta
	Plod	Vražja glava, Stara planina	06/2010	1,44	bezbojno
	Plod	Arbinje, Stara planina	08/2012	1,11	bezbojno
	Plod	Arbinje, Stara planina	08/2013	1,57	bezbojno
<i>H. orphanidis</i>	Podzemni organi	Planina Baba	07/2012	0,10	žuta
	List	Planina Baba	07/2012	0,31	žuta
	Cvast	Planina Baba	07/2016	0,29	žuta
	Plod	Planina Baba	07/2012	2,57	bezbojno
<i>H. austriacum</i>	Podzemni organi	Kamniško-Savinjski Alpi	07/2015	0,09	žuta
subsp. <i>siifolium</i>	Nadzemni delovi u cvetu	Kamniško-Savinjski Alpi	07/2015	0,07	žuta
	Plod	Kamniško-Savinjski Alpi	07/2015	1,54	svetložuta

### 3.2. Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja

GC-FID i GC-MS analiza etarskih ulja urađena je na Agilent 6890N gasnom hromatografu opremljenom FID i Agilent 5975C MS detektorima, uz korišćenje sledećih komponenti i eksperimentalnih uslova: temperatura *split-splitless* injektora 200 °C; kolona HP-5MS (30 m × 0,32 mm; debljina filma stacionarne faze 0,25 µm); noseći gas He; brzina protoka nosećeg gasa 1,0 mL/min; temperaturni program 60-280 °C sa promenom od 3 °C/min i zadržavanjem konačne temperature 10 min; temperatura FID 300 °C; temperatura MSD transfer linije 250 °C; elektronska jonizacija pri energiji 70 eV; rastvor uzorka 3% *V/V* u apsolutnom etanolu; zapremina injektovanog uzorka 1 µL u split modu 1:10.

Identifikacija komponenti etarskih ulja izvršena je poređenjem njihovih retencionih vremena (*R<sub>t</sub>*), retencionih indeksa (*RI*) i masenih spektara sa odgovarajućim podacima iz računarske biblioteke (*NIST/NBS 05, Wiley 8th Edition*) i literature (Adams, 2007). Linearni *RI* određeni su u odnosu na homologi niz *n*-alkana (*C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub>*) (Fluka, Švajcarska) hromatografisanih pod istim eksperimentalnim uslovima. Relativni procenti komponenti etarskih ulja izračunati su na osnovu površina pikova detektovanih pomoću FID-a.

Kvantitativna analiza furanokumarina u etarskim uljima izvršena je i metodom eksternog standarda, pomoću površina pikova detektovanih na FID-u, u cilju procene maksimalnog dozvoljenog dnevnog unosa izolovanih etarskih ulja na osnovu sadržaja furanokumarina. U ovu svrhu korišćeni su komercijalni standardi bergaptena (5-metoksipsoralena, 5-MOP-a) (čistoće ≥99%) i izopimpinolina (≥95%) (Sigma-Aldrich, SAD). Količina ostalih furanokumarina izračunata je preko navedenih standarda. Kako Evropska agencija za lekove (EMA) u odgovarajućem dokumentu (Doc. Ref. EMEA/HMPC/317913/2006) navodi maksimalni dozvoljeni dnevni unos furanokumarina računatih kao ksantotoksin (8-metoksipsoralen, 8-MOP) putem biljnih lekovitih proizvoda (EMA/HMPC, 2007), sadržaj ukupnih detektovanih furanokumarina izražen je i preko 8-MOP-a (≥98%) (Sigma-Aldrich, SAD), uz odgovarajuću korekciju mase kada je to bilo neophodno. Faktori odgovora FID detektora na 5-MOP i izopimpinolin u odnosu na 8-MOP, određeni deljenjem njihovih površina pikova dobijenih pri koncentraciji furanokumarina od 1 mg/mL, iznosili su 1,0. Linearost, linearni opsezi koncentracija, limiti detekcije (LOD) i kvantifikacije



(LOQ) za tri navedena komercijalna standarda određeni su na osnovu smernica Međunarodne konferencije za harmonizaciju (ICH, 2005). Linearnost je utvrđena računanjem koeficijenta korelacije ( $r^2$ ) kalibracionih kriva, a LOD i LOQ na osnovu standardnih devijacija odsečaka na ordinati ( $SD_b$ ) i nagiba kalibracionih kriva (a):

$$LOD = 3.3 \times SD_b/a$$

$$LOQ = 10 \times SD_b/a$$

Jednačine kalibracionih kriva, linearni opsezi koncentracija,  $r^2$ , LOD i LOQ standarda furanokumarina dati su u **Tabeli 6**.

**Tabela 6.** Jednačine kalibracionih kriva, linearni opsezi koncentracija, koeficijenti korelacije ( $r^2$ ), limiti detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ) standarda furanokumarina

Standard	Jednačina kalibracione krive	Linearni opseg koncentracije (mg/mL)	$r^2$	LOD (mg/mL)	LOQ (mg/mL)
Ksantotoksin	$y = 931332,3162x - 17221,4947$	0,02625-2,1	0,9996	0,032	0,096
Bergapten	$y = 886362,4975x - 11498,5262$	0,025-2	0,9998	0,022	0,066
Izopimpinelin	$y = 901889,1029x - 24658,5002$	0,04-1,6	0,9991	0,041	0,124

### 3.3. Headspace ekstrakcija

Najisparljivije komponente podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* analizirane su i *headspace* GC-FID i GC-MS metodom. U te svrhe podzemni organi (4 g) i plodovi (3 g) su samleveni i hermetički zatvoreni u *headspace* viala. Za statičku *headspace* ekstrakciju primenjen je automatski *headspace sampler* Agilent G1888. Kvalitativna i kvantitativna analiza *headspace* frakcija urađena je nakon razdvajanja komponenti na Agilent 6890N gasnom hromatografu sa FID i Agilent 5975C MS detektorima, koji je bio spregnut sa navedenim *headspace sampler*-om. Kolona i eksperimentalni uslovi, kao i metode kvalitativne i kvantitativne analize komponenti *headspace* frakcija bili su isti kao u slučaju etarskih ulja. Uslovi *headspace* ekstrakcije su bili: vreme inkubacije uzorka 30 min; temperatura inkubacije 90 °C; temperatura petlje 100 °C; temperatura transfer linije 110 °C; mešanje blago; noseći gas He; vreme povećanja pritiska u viali 0,08 min; pritisak u viali 15 psi; vreme punjenja petlje 0,5 min; vreme ekvibracije petlje 0,05 min; vreme injektovanja 1,00 min.

### 4. Izrada dihlormetanskih ekstrakata

Osušeni i samleveni podzemni organi i plodovi svih devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* ekstrahovani su postupkom bimaceracije dihlormetanom (72 i 48 h; odnos droga:rastvarač iznosio je 1:10 *m/V*), na sobnoj temperaturi, u tamnim bocama, i uz mešanje u ravnomernim vremenskim intervalima. Dobijeni ekstrakti su filtrirani, a dihlormetan uklonjen uparavanjem pod sniženim pritiskom na rotacionom vakuum uparivaču Büchi Rotavapor R-II (Flawil, Švajcarska). Ekstrakti plodova dobijeni na ovaj način, sastojali su se iz kristalnih taloga i uljastih supernatanata, koji su razdvojeni filtriranjem nakon stajanja ekstrakata 24 h na 4 °C (ovaj postupak je ponovljen dva puta). Prinosi ekstrakata, kao i kristalnih taloga i uljastih supernatanata ekstrakata plodova dati su u **Tabeli 7**.

U suvim dihlormetanskim ekstraktima podzemnih organa i kristalnim talozima ekstrakata plodova analizirani su furanokumarini. Kako se furanokumarini dobro rastvaraju i u dihlormetanu i u metanolu (Skalicka-Woźniak i Głowniak, 2012), u cilju LC-MS analize na nepolarnoj stacionarnoj fazi, izolati su rastvarani u metanolu. U uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona (osim *H. austriacum* subsp. *siifolium*) analizirani su masne kiseline, steroli i triterpeni.

**Tabela 7.** Prinosi dihlormetanskih (DHM) ekstrakata podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*, prinosi kristalnih taloga i uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova, kao i udeli masa frakcija metilestara masnih kiselina (FAME) i nesaponifikovanih (NS) frakcija u uljastim supernatantima

<b>Taksoni</b>	<b>Biljni organi</b>	<b>Prinosi DHM ekstrakata % (m/m)</b>	<b>Prinosi kristalnih taloga % (m/m)</b>	<b>Prinosi uljastih supernatanata % (m/m)</b>	<b>Udeli masa FAME frakcija % (m/m)</b>	<b>Udeli masa NS frakcija % (m/m)</b>
<i>H. sphondylium</i>	Podzemni organi	5,06	–	–	–	–
	Plodovi	12,32	3,02	9,30	84,46	1,34
<i>H. sibiricum</i>	Podzemni organi	4,88	–	–	–	–
	Plodovi	10,37	1,91	8,46	84,77	2,19
<i>H. montanum</i>	Podzemni organi	2,62	–	–	–	–
	Plodovi	13,76	4,11	9,65	84,51	2,61
<i>H. ternatum</i>	Podzemni organi	5,80	–	–	–	–
	Plodovi	14,48	2,75	11,73	85,58	1,73
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>pollinianum</i>	Podzemni organi	6,83	–	–	–	–
	Plodovi	15,73	3,88	11,85	74,83	1,90
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>orsinii</i>	Podzemni organi	5,49	–	–	–	–
	Plodovi	12,67	2,10	10,57	80,16	1,36

<b>Taksoni</b>	<b>Biljni organi</b>	<b>Prinosi DHM ekstrakata % (m/m)</b>	<b>Prinosi kristalnih taloga % (m/m)</b>	<b>Prinosi uljastih supernatanata % (m/m)</b>	<b>Udeli masa FAME frakcija % (m/m)</b>	<b>Udeli masa NS frakcija % (m/m)</b>
<i>H. verticillatum</i>	Podzemni organi	6,03	–	–	–	–
	Plodovi	15,15	4,92	10,23	83,80	1,57
<i>H. orphanidis</i>	Podzemni organi	2,65	–	–	–	–
	Plodovi	11,58	1,86	9,72	84,41	1,77
<i>H. austriacum</i> subsp. <i>siifolium</i>	Podzemni organi	1,39	–	–	–	–
	Plodovi	3,73	3,73	–	–	–

## 5. Kvalitativna i kvantitativna analiza furanokumarina

LC-MS analiza furanokumarina suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa i kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* urađena je pomoću Agilent 1260/6130 tečnog hromatografa spregnutog sa jednostruki kvadrupol API-ESI masenim detektorom, uz korišćenje sledećih komponenti i eksperimentalnih uslova: kolona Zorbax SB-C<sub>18</sub> (Agilent; 250 × 4,6 mm; veličina čestica stacionarne faze 5 μm); temperatura kolone 25 °C; mobilna faza 0,1% mravlja kiselina, 10% izopropanol (A) i acetonitril (B) svi LC-MS čistoće; brzina protoka mobilne faze 0,8 mL/min; režim eluiranja 25-30% B (15 min), 30-70% B (30 min), 70-95% B (35 min), 95-97% B (40 min); ukupna dužina analize 45 min; talasne dužine detekcije DAD detektora 220, 250, 270, 290, 320 i 350 nm; mod jonizacije ESI MSD pozitivan; opseg *m/z* 80-900; napon fragmentora 100 i 250 V; protok i temperatura azota (gasa za sušenje) 10 L/min na 350 °C; pritisak nebulajzera 40 psi; napon na kapilari 3500 V; rastvor uzorka 5 mg/mL suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa ili suvih kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova u metanolu uz filtriranje preko membranskog filtra (0,45 μm); zapremina injektovanog uzorka 5 μL.

Identifikacija furanokumarina izvršena je poređenjem njihovih retencionih vremena, i UV i MS (snimljenih pri naponu fragmentora od 100 i 250 V) spektara sa odgovarajućim podacima dobijenim za komercijalne standarde ksantotoksina, bergaptena, izopimpinolina i imperatorina (čistoće ≥98%) (Sigma-Aldrich, SAD), kao i izobergaptena koji je iskristalisao iz etarskih ulja podzemnih organa *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i čija struktura je potvrđena poređenjem njegovog <sup>1</sup>H NMR spektra (**Slike 1 i 2** u Prilogu) sa literaturom (O'Neill i sar., 2013). Ostali furanokumarini su identifikovani na osnovu njihovih retencionih vremena, UV i MS (100 i 250 V) spektara i podataka dobijenih snimanjem <sup>1</sup>H i ROESY NMR spektara metanolnih frakcija dihlormetanskog ekstrakta podzemnih organa *H. ternatum* i kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova *H. ternatum* i *H. sphondylium*.

Sadržaj furanokumarina određen je metodom eksternog standarda, na osnovu površina pikova detektovanih pomoću DAD-a na 250 nm (ksantotoksin, bergapten, izobergapten i imperatorin) i 270 nm (izopimpinelin). Ukoliko standard nije bio dostupan, sadržaj furanokumarina je izražen preko jednog od navedenih standarda na

osnovu sličnosti njihovih UV spektara, tj. sadržaj 5,8-disupstituisanih linearnih furanokumarina je izražen preko izopimpineline, a sadržaj ostalih preko ksantotoksina, uz odgovarajuću korekciju masa kada je to bilo neophodno. Linearnost, linearni opsezi koncentracija, LOD i LOQ pet navedenih standarda određeni su na osnovu smernica Međunarodne konferencije za harmonizaciju (ICH, 2005), na isti način kao i u slučaju kvantitativne analize furanokumarina etarskih ulja. Jednačine kalibracionih kriva, linearni opsezi,  $r^2$ , LOD i LOQ standarda furanokumarina prikazani su u **Tabeli 8**. Analiza je rađena u triplikatu.

**Tabela 8.** Jednačine kalibracionih kriva, linearni opsezi, koeficijenti korelacije ( $r^2$ ), limiti detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ) standarda furanokumarina

Standard	Jednačina kalibracione krive	Linearni opseg ( $\mu\text{g}$ )	$r^2$	LOD ( $\mu\text{g}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}$ )
Ksantotoksin <sup>a</sup>	$y = 6213,0308x + 169,1032$	0,005-7,5	0,9995	0,138	0,418
Ksantotoksin <sup>b</sup>	$y = 6398,8195x + 51,5838$	0,005-5	1,0000	0,017	0,051
Bergapten	$y = 4924,9629x + 15,1871$	0,005-5	0,9999	0,044	0,132
Izobergapten	$y = 6077,8252x + 31,2296$	0,01-3,6	1,0000	0,012	0,036
Izopimpinelin	$y = 6131,8058x - 3,9585$	0,005-5	0,9999	0,053	0,161
Imperatorin	$y = 4820,3513x + 12,0805$	0,01-5	0,9999	0,041	0,123

<sup>a</sup> Kalibraciona kriva upotrebljena za izračunavanje sadržaja pimpineline.

<sup>b</sup> Kalibraciona kriva upotrebljena za izračunavanje sadržaja ksantotoksina, sfondina, heraklenina i heraklenola.

## 6. Statistička analiza

Hemosistematski značaj identifikovanih komponenti etarskih ulja i furanokumarina procenjen je primenom multivarijantnih statističkih metoda:

- PCA (eng. *Principal Component Analysis*), tj. analiza glavnih komponenti je metoda koja se koristi za smanjivanje dimenzija skupa podataka (koji sačinjava veliki broj uzajamno korelisanih promenljivih) uz istovremeno zadržavanje maksimalno moguće varijabilnosti koja je prisutna u tim podacima (Kovačić, 1994);
- nMDS (eng. *non-Metric Multidimensional Scaling*), tj. nemetrično multidimenzionalno skaliranje ima za cilj detektovanje dimenzija koje objašnjavaju sličnosti i razlike između ispitivanih objekata, i omogućava grafičko prikazivanje ovih sličnosti i razlika (StatSoft Statistica, 2001) i
- UPGMA (eng. *Unweighted Pair-Group Arithmetic Averages clustering*) je metoda hijerarhijske klaster analize, tj. grupisanja objekata na osnovu sličnosti, u kojoj rastojanja između dva klastera predstavljaju srednje vrednosti rastojanja svih mogućih parova objekata ovih klastera. Hijerarhijska struktura datog skupa objekata grafički se prikazuje kao hijerarhijsko drvo (dendrogram) (Kovačić, 1994; StatSoft Statistica, 2001).

U obzir su uzete komponente etarskih ulja prisutne u količini  $\geq 5\%$  (u slučaju PCA) ili  $\geq 1\%$  (u slučaju nMDS i UPGMA), odnosno svi furanokumarini. U cilju smanjivanja velikih razlika u sadržaju ispitivanih jedinjenja, podaci su transformisani, a najbolji rezultati su dobijeni nakon primene funkcija logaritama (u slučaju furanokumarina plodova) i arkus sinus (u slučaju furanokumarina podzemnih organa), kao i kodiranja (Milutinović i sar., 2018) (u slučaju komponenti etarskih ulja). PCA analiza je urađena u cilju iznalaženja komponenti koje najviše doprinose razdvajanju taksona. nMDS i UPGMA analize su urađene uz korišćenje *Bray-Curtis* matriksa različitosti. nMDS analiza je urađena u cilju grafičkog prikazivanja razlika između taksona u dvodimenzionalnom i/ili trodimenzionalnom prostoru (2D i 3D nMDS). Sve analize su urađene pomoću programa Statistica 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD).

## 7. Priprema uzoraka i kvalitativna i kvantitativna analiza masnih kiselina, sterola i triterpena

### 7.1. Saponifikacija i esterifikacija masnih kiselina

U cilju prevođenja masnih kiselina u isparljive metilestre, koji su pogodni za GC-FID i GC-MS analizu, uljasti supernatanti dihlormetanskih ekstrakata plodova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* podvrgnuti su saponifikaciji i esterifikaciji (Pavlović, 2008).

Uljasti supernatant (1 g) pomešan je u balonu okruglog dna sa 95% etanolom (30 mL) i 50% kalijum hidroksidom (5 mL) i zagrevan uz povratni hladnjak na 90 °C, tokom 60 min. Nakon hlađenja sadržaj je prebačen u levak za odvajanje, uz dodatak 95% etanola do zapremine 40 mL, a zatim i vode (najpre tople a potom hladne) do zapremine 80 mL. U cilju odvajanja nesaponifikovane frakcije, ova smeša je ispirana 3 puta sa po 50 mL petroletra. Balon u kojem je vršena saponifikacija ispiran je svim navedenim rastvaračima neposredno pre njihovog dodavanja u levak za odvajanje.

Nakon saponifikacije i odvajanja petroletarskih slojeva, vodenoj fazi je dodato nekoliko kapi koncentrovane hlorovodonične kiseline do kisele reakcije, kako bi se masne kiseline istisnule iz sapuna. Slobodne masne kiseline su zatim ekstrahovane dietiletrom u levku za odvajanje (prvi put sa 150 mL, a zatim sa po 100 mL), dietiletarski slojevi su spojeni i rastvarač otparen. Dobijeni ostatak je esterifikovan dodatkom 1 mL koncentrovane sumporne kiseline i 150 mL metanola (čistoće  $\geq 99,9\%$ ), i zagrevanjem uz povratni hladnjak na 80 °C, tokom 60 min. Nakon hlađenja, smeša je prebačena u levak za odvajanje u koji je dodato 100 mL vode i 250 mL petroletra, kojim je prethodno ispran sud u kome je vršena esterifikacija. Ispiranje petroletrom vršeno je 3 puta sa po 250 mL. Petroletarski slojevi su spojeni, isprani u levku za odvajanje vodom do neutralne reakcije, filtrirani preko bezvodnog natrijum sulfata i petroletar je otparen. Udeo frakcija metilestara masnih kiselina u uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata plodova (% *m/m*) takođe je prikazan u **Tabeli 7**.

### 7.2. Kvalitativna i kvantitativna analiza masnih kiselina

GC-FID i GC-MS analiza masnih kiselina (u obliku metilestara) urađena je na Agilent 6890N gasnom hromatografu opremljenom FID i Agilent 5975C MS



detektorima, uz korišćenje sledećih komponenti i eksperimentalnih uslova: temperatura *split-splitless* injektora 260 °C; kolona HP-88 (100 m × 0,25 mm; debljina filma stacionarne faze 0,20 µm); noseći gas He; brzina protoka nosećeg gasa 1,2 mL/min; temperaturni program 140-240 °C sa promenom od 4 °C/min i zadržavanjem konačne temperature 10 min; temperatura FID 260 °C; temperatura MSD transfer linije 250 °C; elektronska jonizacija pri energiji 70 eV; rastvor uzorka 1% V/V frakcije metilestara masnih kiselina u dihlormetanu; zapremina injektovanog uzorka 1 µL u split modu 1:25.

Identifikacija masnih kiselina izvršena je poređenjem retencionih vremena (Rt) i masenih spektara njihovih metilestara sa odgovarajućim podacima dobijenim za komercijalne standarde metilestra *cis*-6-oktadecenske kiseline (petroselinske kiseline) (10 mg/mL u heptanu), metilestra *cis*-11-vakcenske kiseline (10 mg/mL u heptanu) i smeše metilestara 37 masnih kiselina, *Supelco 37 component FAME mix* (u dihlormetanu) (Sigma-Aldrich). Relativni procenti masnih kiselina izračunati su na osnovu površina pikova detektovanih pomoću FID-a. Sadržaj petroselinske kiseline određen je i metodom eksternog standarda (linearni opseg koncentracija 0,08-10,00 mg/mL;  $y = 15288881008,70x + 736572,53$ ;  $r^2 = 0,9990$ ). Analiza je sprovedena u triplikatu.

### 7.3. Silanizacija sterola i triterpena

Steroli i triterpeni nesaponifikovanih frakcija uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* prevedeni su u isparljive trimetilsililetre, koji su pogodni za GC-FID i GC-MS analizu. Nakon ispiranja polarne smeše dobijene saponifikacijom uljastih supernatanata petroletrom, nepolarni slojevi su spojeni, isprani 3 puta sa po 50 mL 10% etanola, profiltrirani preko bezvodnog natrijum sulfata, upareni pod sniženim pritiskom i osušeni u vakuum-eksikatoru. Zatim je u 0,5 mL dobijene nesaponifikovane frakcije, rastvorene u dihlormetanu (10 mg/mL), dodato 0,05 mL reagensa za silanizaciju (bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida, BSTFA). Smeša je zatim zagrevana na 60 °C tokom 45 min. Dobijeni uzorci su analizirani u roku od 6 h. Udeo nesaponifikovanih frakcija u uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata plodova (% *m/m*) takođe je prikazan u **Tabeli 7**.

#### 7.4. Kvalitativna i kvantitativna analiza sterola i triterpena

GC-FID i GC-MS analiza sterola i triterpena izvršena je na Agilent 7890A gasnom hromatografu opremljenom FID i Agilent 5975C MS detektorima, uz korišćenje sledećih komponenti i eksperimentalnih uslova: temperatura *split-splitless* injektora 250 °C; kolona HP-5MS (30 m × 0,32 mm; debljina filma stacionarne faze 0,25 µm); noseći gas He; brzina protoka nosećeg gasa 1,3 mL/min; temperaturni program 60-315 °C sa promenom od 3 °C/min i zadržavanjem konačne temperature 15 min; temperatura FID 300 °C; temperatura transfer linije 315 °C; elektronska jonizacija pri energiji 70 eV; uzorak je prethodno pripremljen nerazblažen rastvor trimetilsililetara; zapremina injektovanog uzorka 1 µL u split modu 1:10.

Identifikacija sterola i triterpena izvršena je poređenjem njihovih retencionih vremena (Rt), retencionih indeksa (RI) i masenih spektara sa odgovarajućim podacima dobijenim za komercijalne standarde ergosterola (10 mg/mL u hloroformu) (Sigma-Aldrich, SAD),  $\beta$ -sitosterola i stigmasterola (Carlo Erba, Francuska), kao i podacima iz računarske biblioteke (*NIST/NBS 05, Wiley 8th Edition*) i internet stranice NIST Webbook. Linearni RI određeni su u odnosu na homologi niz *n*-alkana (C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub>) hromatografisanih pod istim eksperimentalnim uslovima. Relativni procenti sterola i triterpena izračunati su na osnovu površina pikova detektovanih pomoću FID-a. Analiza je sprovedena u triplikatu.

## 8. Ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja

### 8.1. Testirani mikroorganizmi

Antibakterijska aktivnost odabranih etarskih ulja izolovanih iz različitih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* testirana je na četiri vrste Gram-pozitivnih bakterija: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus cereus* (klinički izolat), *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973) i *Micrococcus flavus* (ATCC 10240), i četiri vrste Gram-negativnih bakterija: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Enterobacter cloacae* (klinički izolat) i *Escherichia coli* (ATCC 35210). Antifungalna aktivnost odabranih etarskih ulja ispitivana je na osam vrsta patogenih mikromiceta (plesni): *Aspergillus fumigatus* (klinički izolat), *A. versicolor* (ATCC 11730), *A. ochraceus* (ATCC 12066), *A. niger* (ATCC 6275),

*Trichoderma viride* (IAM 5061), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), *P. ochrochloron* (ATCC 9112) i *P. verrucosum* var. *cyclopium* (izolat iz hrane). Kulture bakterijskih sojeva su deponovane u laboratorijskoj kolekciji kultura, a mikromicete u Mikoteci Mikološke laboratorije Odeljenja za biljnu fiziologiju Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ Univerziteta u Beogradu. Sojevi su održavani na čvrstim podlogama *Müller-Hinton* (Torlak, Srbija) (bakterije), ili malt-agar (Torlak, Srbija) (mikromicete) na 4 °C i presejavani jednom mesečno.

## 8.2. Hranljive podloge

Prilikom ispitivanja antimikrobne aktivnosti odabranih etarskih ulja korišćene su podloge *Tryptic Soy Broth* (TSB) koja je sadržala kazein pepton (15 g), soja pepton (5 g), natrijum hlorid (5 g), agar (15 g) i destilovanu vodu (1 L), i *Malt agar* (MA) koja je sadržala sladni ekstrakt (50 g), agar (15 g) i destilovanu vodu (1 L) (Torlak, Srbija). Vrednost pH TSB je bila  $7,3 \pm 0,2$ , a MA  $7,0 \pm 0,2$  (regulisana dodatkom 1N NaOH).

## 8.3. Ispitivanje antibakterijske aktivnosti

Minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) i minimalne baktericidne koncentracije (MBK) odabranih etarskih ulja utvrđene su modifikovanom mikrodilucionom metodom (CLSI, 2009; Tsukatani i sar., 2012), u mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića (Spektar, Čačak). Prekonoćne kulture bakterija dobijene uzgajanjem u 2 mL TSB tokom 24 h na 37 °C, razblažene su sterilnim fiziološkim rastvorom na  $1,0 \times 10^5$  CFU/mL. Pripremljeni inokulumi su skladišteni na 4 °C do dalje upotrebe. U cilju dobijanja željenih koncentracija etarskih ulja, pripremana su njihova razblaženja pomoću rastvora 5,0% (V/V) dimetilsulfoksida (DMSO) i 0,1% (V/V) Tween-a 80 u hranjivoj podlozi (TSB), koja su zatim nanošena na ploče zajedno sa inokulumom bakterija ( $1,0 \times 10^4$  CFU/bunariću). Ploče su inkubirane 24 h na 37 °C. Najniža koncentracija etarskog ulja u kojoj nije bilo vidljivog rasta bakterija (pod binokularnim mikroskopom) je definisana kao MIK. MBK, koja ukazuje na eradikaciju 99,5% početnog bakterijskog inokuluma, je procenjena nakon serijske reinokulacije 2 µL uzoraka iz bunarića (korišćenih za procenu MIK) u 100 µL sterilne hranljive podloge, nakon dodatne inkubacije tokom 24 h na 37 °C. Vrednosti MIK i MBK su potvrđene dodavanjem 40 µL rastvora indikatorske boje *p*-jodonitrotetrazolijum hlorid ljubičasto (INT, I8377-

Sigma, SAD) (0,2 mg/mL) (Tsukatani, 2012) u bunariće i inkubiranjem 30 min na 37 °C, nakon čega je sadržaj u bunarićima u kojima su rasle bakterije postao intenzivno crvenoljubičasto obojen. Negativna kontrola je sadržala sve navedeno osim ispitivanih etarskih ulja. Kao pozitivne kontrole korišćeni su komercijalno dostupni antimikrobni agensi streptomycin (Sigma P 7794) i ampicilin (Panfarma, Beograd, Srbija).

#### **8.4. Ispitivanje antifungalne aktivnosti**

Antifungalna aktivnost odabranih etarskih ulja ispitivana je modifikovanom mikrodilucionom metodom (Espinel-Ingroff, 2001; Hänel i Raether, 1988), takođe u mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića. Spore mikromiceta su spirane sa kultura starih 21 dan, korišćenjem sterilnog 0,85% fiziološkog rastvora koji je sadržao 0,1% *Tween 80* (V/V). Koncentracija suspenzije spora je podešena sterilnim fiziološkim rastvorom na  $1 \times 10^5$  ćelija/mL. Razblaženja etarskih ulja su pripremljena na isti način kao u slučaju ispitivanja antibakterijske aktivnosti i naneta na ploče zajedno sa odgovarajućom zapreminom inokuluma mikromiceta. Ploče su inkubirane 5 dana na 25 °C. Najniže koncentracije bez vidljivog rasta pod mikroskopom su definisane kao MIK. Minimalne fungicidne koncentracije (MFK), koje ukazuju na eradikaciju 99,5% početnog inokuluma, su određene serijskom reinokulacijom 2 µL u 100 µL sterilne hranljive podloge (MA), i ponovnom inkubacijom u trajanju 72 h na 25 °C. Poređenje rasta je vršeno u odnosu na negativnu kontrolu. Komercijalni antimikotici bifonazol (Srbolek, Beograd) i ketokonazol (Zorka farma, Šabac) su korišćeni kao pozitivne kontrole.

### **9. Ispitivanje citotoksične aktivnosti etarskih ulja**

#### **9.1. Ćelijske linije**

Citotoksična aktivnost odabranih etarskih ulja izolovanih iz različitih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* testirana je na humanim tumorskim ćelijskim linijama HeLa (ćelijska linija karcinoma grlića materice), LS174 (ćelijska linija karcinoma debelog creva) i A549 (ćelijska linija nesitnoćelijskog karcinoma pluća). Selektivnost ovog efekta utvrđena je na humanoj normalnoj ćelijskoj liniji MRC-5 (ćelijska linija fetalnih fibroblasta pluća).

Ćelijske linije su održavane u kulturi u vidu monosloja u hranljivom medijumu RPMI 1640 (eng. *Roswell Park Memorial Institute medium*), pH 7,2, u koji je dodat 10% fetalni goveđi serum, termički inaktivisan na 56 °C (30 min), L-glutamin (3 mmol/L), streptomycin (100 mg/mL), penicilin (100 IU/mL) i HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetan-sulfonska kiselina) (25 mmol/L), na 37 °C, u sredini obogaćenoj sa 5% CO<sub>2</sub>.

## **9.2. Tretman ćelijskih linija**

Ispitivana etarska ulja su rastvorena u DMSO-u do koncentracije 100 mg/mL, a zatim razblažena do odgovarajućih radnih koncentracija u hranljivom medijumu. HeLa ćelije su ravnomerno zasejane u mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića u gustini 2000 ćelija po bunariću, LS174 u gustini 7000 ćelija po bunariću, a A549 i MRC-5 u gustini 5000 ćelija po bunariću u 100 µL podloge. Kao slepa proba korišćen je hranjivi medijum. 24 h kasnije u bunariće sa ćelijama dodato je po 50 µL pet različitih koncentracija ispitivanih etarskih ulja, dok je u kontrolne bunariće i slepe probe dodato po 50 µL svežeg hranjivog medijuma. Finalne koncentracije ispitivanih etarskih ulja bile su: 200, 100, 50, 25 i 12,5 µg/mL. Ćelije su zatim inkubirane 72 h pod istim uslovima koji su korišćeni i za održavanje ćelijskih linija.

## **9.3. Određivanje ćelijskog preživljavanja – MTT test**

Citotoksični efekat etarskih ulja na tumorske i normalne ćelije određen je kolorimetrijskim MTT testom (eng. *Microculture Tetrazolium Test*) po Mosmanu (1983), uz modifikacije koje su opisali Ohno i Abe (1991). Ovaj test se zasniva na redukciji tetrazolijumske soli 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolijum bromida (MTT reagensa) mitohondrijalnom sukcinat dehidrogenazom vijabilnih ćelija do nerastvornog ljubičasto obojenog formazana.

Nakon inkubacije ćelija tokom 72 h u mikrotitar ploče dodato je po 20 µL MTT reagensa rastvorenog u fosfatnom puferu u koncentraciji 5 mg/mL. Uzorci su zatim inkubirani još 4 h pod istim uslovima, nakon čega je u svaki bunarić dodato 100 µL rastvora 10% natrijum-dodecilsulfata (SDS) u cilju rastvaranja nastalog formazana. Apsorbancija je merena na ELISA čitaču, nakon 24 h na 570 nm. Preživljavanje ćelija, S(%), izračunato je korišćenjem formule:

$$S(\%) = (A_t - A_s) \times 100 / (A_k - A_s)$$

$A_t$  – apsorbancija tretiranih uzoraka,  $A_s$  – apsorbancija slepe probe,

$A_k$  – apsorbancija kontrolnih uzoraka.

Iz dobijenih rezultata izračunate su  $IC_{50}$ , tj. koncentracije ispitivanih etarskih ulja koje inhibiraju preživljavanje 50% ćelija u odnosu na netretiranu kontrolu.

## 10. Ispitivanje antiradikalske aktivnosti etarskih ulja

Antiradikalska aktivnost odabranih etarskih ulja podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* testirana je pomoću kolorimetrijskog DPPH testa, dok je doprinos pojedinih komponenti odabranih etarskih ulja njihovom anti-DPPH efektu preliminarno procenjen pomoću TLC-DPPH (*dot-blot*) testa. Ovi testovi zasnivaju se na neutralizaciji DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikala uz promenu boje reakcione smeše/zone na hromatogramu, iz ljubičaste u žutu (Cuendet i sar., 1997).

### 10.1. DPPH test

Različite zapremine etarskog ulja razblažene su do 1,6 mL apsolutnim etanolom, a nakon toga je u svako razblaženje dodato po 0,4 mL 0,5 mmol/L rastvora DPPH u apsolutnom etanolu. Smeše su zatim snažno promućkane i ostavljene da stoje 30 min na tamnom mestu. Nakon toga izmerena je njihova apsorbancija na 517 nm. Kontrolni uzorci dobijeni su razblaživanjem 1 mL 0,5 mmol/L rastvora DPPH radikala apsolutnim etanolom do 5 mL, dok je kao slepa proba korišćen apsolutni etanol. Neutralizacija DPPH radikala,  $S(\%)$ , izračunata je korišćenjem sledeće formule:

$$S(\%) = (A_k - A_a) \times 100 / A_k$$

$A_k$  – apsorbancija kontrole,

$A_a$  – apsorbancija analize.

Iz dobijenih rezultata izračunate su  $SC_{50}$ , tj. koncentracije ispitivanih etarskih ulja koje dovode do neutralizacije 50% DPPH radikala u odnosu na kontrolu.

### **10.2. TLC-DPPH test**

Kao stacionarna faza korišćen je tanak sloj silikagela (na aluminijskoj ploči) impregniran fluorescentnim indikatorom F<sub>254</sub>. Na stacionarnu fazu nanešeno je čisto etarsko ulje (širina zone 1 cm), a zatim je vršeno razdvajanje njegovih komponenti u sistemu heksan:etilacetat 9:1 (V/V). Nakon sušenja, hromatogram je prskan 0,5 mmol/L rastvorom DPPH u apsolutnom etanolu. Ukoliko su se neposredno nakon sušenja na hromatogramu pojavile žute (aktivne) zone, eksperiment je ponovljen, s tim što je širina zone nanetog etarskog ulja bila 18 cm. Nakon razvijanja, derivatizovan je samo bočni deo hromatograma (širine 3 cm) kako bi se potvrdio položaj aktivnih zona, čiji nederivatizovani deo je zatim isečen i eluiran sa 20 mL apsolutnog etanola tokom 1 h, na tamnom mestu i uz povremeno mućkanje. Eluat je zatim koncentrisan na vakuum uparivaču do zapremine približno 1 mL i analiziran gasnom hromatografijom pri istim eksperimentalnim uslovima korišćenim za analizu etarskih ulja.

## REZULTATI I DISKUSIJA

### 1. Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja ispitivanih taksona roda *Heracleum* i hemosistematski značaj njihovih komponenti

#### 1.1. Etarska ulja podzemnih organa

Gasnom hromatografijom sa plameno-jonizujućim i masenim detektorom (GC-FID i GC-MS) analizirana su etarska ulja izolovana iz 16 uzoraka podzemnih organa svih devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* (Tabela 9). Broj identifikovanih komponenti kretao se od 31 (u slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium*) do 91 (u slučaju *H. sphondylium* i *H. montanum*). Od ukupne količine etarskih ulja, identifikovana jedinjenja činila su od 78,9% (u slučaju *H. montanum*) do 99,6% (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u okolini Niša 2011. god.).

Etarska ulja podzemnih organa predstavnika *H. sphondylium* grupe bila su bogata monoterpenima (23,2-89,2%). U slučaju *H. sphondylium* i *H. montanum* dominantan je bio (*Z*)- $\beta$ -ocimen (28,9 i 22,4%), dok je kod većine ostalih taksona ove grupe dominirao  $\beta$ -pinen (16,0-47,3%). Treba istaći i prisustvo veće količine limonena (8,1 i 22,7%) i  $\alpha$ -pinena (5,2 i 18,7%) u slučaju etarskih ulja izolovanih iz oba uzorka podzemnih organa *H. sibiricum* sa Stare planine, limonena takođe i kod ulja sva tri uzorka *H. verticillatum* (16,0-24,8%), i terpinolena u slučaju ulja sva tri uzorka *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (8,6-22,5%). Dodatno, etarska ulja podzemnih organa oba uzorka *H. sibiricum* sakupljena u okolini Niša, kao i uzorka sa Žarkove čuke na Staroj planini bila su bogata fenilpropanima (26,2-48,3%), pre svega metileugenolom (21,8-26,9%) i elemicinom (4,4-25,6%). Etarska ulja podzemnih organa *H. sphondylium*, *H. montanum* i *H. verticillatum* sadržala su i značajnu količinu seskviterpena (14,7-35,9%), npr. intermedeola u slučaju *H. verticillatum* (7,3-12,8%). Sa druge strane, dominantna komponenta etarskih ulja podzemnih organa *H. orphanidis* (koji pripada sekciji *Heracleum*, ali ne i grupi *H. sphondylium*) i *H. austriacum* subsp. *siifolium* (iz sekcije *Wendia*) bio je poliacetilenski alkohol (*Z*)-falkarinol (80,0 i 72,3%).



**Tabela 9.** Hemijski sastav etarskih ulja podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* (%)

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
865	-	2-Metiloktan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5 <sup>d</sup>	-	-	-	-	-
875	863	<i>n</i> -Heksanol	tr <sup>e</sup>	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-
899	900	<i>n</i> -Nonan	tr	tr	tr	-	-	tr	0,6	-	tr	-	0,6	-	-	-	1,8	-
902	-	4-Nonen+3-nonen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,2	1,3	2,3	-	-
904	901	Heptanal	tr	tr	tr	0,1	tr	0,4	0,6	0,3	0,2	0,3	1,4	tr	tr	0,4	0,3	0,4
916	-	2-Nonen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,5	0,6	-	-
931	924	$\alpha$ -Tujen	tr	0,7	tr	1,0	3,4	tr	tr	3,2	-	0,3	tr	tr	-	-	-	-
940	932	$\alpha$ -Pinen	tr	3,9	0,9	5,2	18,7	tr	5,5	5,5	2,7	6,8	7,4	1,5	0,7	1,1	tr	-
955	946	Kamfen	tr	0,5	tr	0,7	2,8	tr	0,4	0,7	0,2	0,8	0,7	tr	-	-	-	-
961	953	Tuja-2,4(10)-dien	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
966	952	Benzaldehid	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
973	959	<i>n</i> -Heptanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
979	969	Sabinen	tr	tr	0,5	1,0	8,7	tr	tr	0,6	tr	tr	tr	-	tr	1,1	-	-
987	974	$\beta$ -Pinen	6,0	26,2	16,0	21,2	17,7	0,7	47,3	31,5	35,1	39,6	38,6	34,3	23,5	30,5	tr	-
990	981	6-Metil-5-hepten-2-on	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
994	988	Mircen	1,8	2,3	1,2	2,3	4,9	1,0	2,8	1,5	2,1	2,4	2,1	1,3	0,9	1,2	-	-
995	984	2-Pentilfuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,3
995	988	Dehidro-1,8-cineol	0,8	-	tr	tr	-	0,5	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	1,8	0,2	0,9	0,4	0,2	1,5	1,5	0,8	0,9	0,9	3,5	1,7	0,5	1,9	2,1	3,1
1006	-	Izobutilizovalerat	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1008	1002	$\alpha$ -Felandren	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-
1017	-	2-Metilbutilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1021	1014	$\alpha$ -Terpinen	tr	tr	tr	0,1	0,2	tr	-	0,6	-	tr	-	tr	-	-	-	-
1028	1020	<i>p</i> -Cimen	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	1,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-
1036	1024	Limonen	0,9	5,3	2,6	8,1	22,7	tr	2,3	3,7	2,6	4,1	4,4	24,8	19,2	16,0	0,2	-
1036	1025	$\beta$ -Felandren	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	28,9	5,2	5,2	4,8	5,1	20,4	15,6	6,9	5,1	9,3	11,2	1,4	1,1	1,6	0,4	-
1052	1044	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	0,9	0,1	tr	0,2	0,2	0,5	0,3	tr	tr	tr	tr	1,6	1,2	1,8	0,2	-
1057	-	(4 <i>Z</i> )-2-Metil-4-decen	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
1062	1049	(2 <i>E</i> )-Okten-1-al	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	0,3
1063	1054	$\gamma$ -Terpinen	tr	0,3	tr	0,3	0,6	tr	tr	1,4	tr	tr	tr	tr	-	-	tr	-
1066	-	2-Metildekan	tr	-	-	-	-	0,8	0,3	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
1071	1065	<i>cis</i> -Sabinenhidrat	-	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1072	1063	<i>n</i> -Oktanol	tr	-	-	tr	tr	tr	-	-	0,3	-	tr	tr	-	tr	0,8	tr
1082	-	Izobutil-3-metil-2-butenat	tr	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
1092	1086	Terpinolen	tr	1,2	tr	1,0	0,3	tr	1,1	8,6	9,6	22,5	3,2	2,7	9,0	9,2	1,7	-
1093	1087	2-Nonanon	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1094	-	( <i>E</i> )-4-Undecen	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	0,2	-	-	-	0,3	-
1099	1095	6-Kamfenon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1100	1098	<i>trans</i> -Sabinenhidrat	-	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1100	1100	<i>n</i> -Undekan	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	0,9	-
1104	1100	2-Metilbutil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1106	1100	<i>n</i> -Nonanal	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	tr	-	tr	0,4	tr	-	0,2	0,3	0,5
1106	1102	Izopentilizovalerat	-	tr	tr	0,2	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1109	1103	2-Metilbutilizovalerat	tr	-	tr	tr	-	-	tr	-	tr	-	tr	tr	0,4	0,6	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1120	-	(E)-4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrien	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1124	1118	cis-p-Ment-2-en-1-ol	tr	tr	-	-	-	-	-	0,3	0,3	-	tr	-	-	-	-	-
1129	-	Ciklooktanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
1130	1122	$\alpha$ -Kamfolenal	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-
1131	1128	allo-Ocimen	tr	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1134	1128	(Z)-Epoksi-ocimen	tr	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1142	1135	Nopinon	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	tr	0,2	-	-	-
1143	1136	trans-p-Ment-2-en-1-ol	-	tr	-	-	-	-	-	1,2	0,4	-	-	-	-	-	-	-
1144	1137	trans-Sabinol	-	-	0,4	0,4	0,2	-	0,6	-	-	-	0,4	tr	0,7	-	-	-
1150	-	4,8-Epoksi-p-ment-1-ene	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,4	0,3	0,3	tr	1,7	tr	-	-
1163	1157	(2E)-Nonen-1-al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	0,2	0,3
1167	1160	Pinokarvon	-	-	-	-	-	-	0,2	0,3	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	-
1176	1168	2-Metoksi-3-(1-metilpropil)piazin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,3	tr	-	-
1181	-	1,8-Mentadien-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-
1181	1174	Terpinen-4-ol	tr	0,3	0,3	0,8	0,7	tr	tr	4,1	-	-	0,5	tr	-	-	-	-
1182	1177	Dec-1-en-3-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1186	-	1-Metilbutil-3-metil-2-butenat	tr	tr	-	0,1	0,2	tr	tr	-	-	-	tr	tr	0,5	0,9	-	-
1188	1179	p-Cimen-8-ol	-	tr	-	0,1	-	-	tr	2,0	0,8	0,4	tr	tr	7,4	tr	0,1	-
1192	1187	1-Dodecen	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1193	1186	$\alpha$ -Terpineol	-	0,2	0,3	0,4	tr	-	0,5	1,3	0,6	tr	0,4	tr	0,6	tr	-	-
1198	1194	Mirtenol	tr	tr	tr	0,3	0,1	tr	-	0,3	-	tr	-	tr	-	0,3	-	-
1200	1195	Mirtenal	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	-	tr	0,1	-	0,4	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1200	1195	Metilhavikol	tr	0,3	tr	0,3	tr	tr	tr	0,3	1,4	-	0,8	-	-	-	-	-
1205	1197	2-Metil-4-metilpentilbutanoat	0,7	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1206	1201	<i>n</i> -Dekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1215	1210	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-Nonadienal	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1216	1211	Oktilacetat	-	tr	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	tr	tr
1244	1241	Heksilizovalerat	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1249	1239	Karvon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	tr	-	-
1264	1260	(2 <i>E</i> )-Decenal	0,5	tr	0,5	0,2	0,1	tr	0,7	0,4	0,5	0,4	1,6	tr	-	-	0,5	0,4
1264	-	2-Metildodekan	0,6	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1287	1282	( <i>E</i> )-Anetol	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1289	1287	Bornilacetat	-	0,7	tr	0,6	1,1	-	tr	1,0	0,5	tr	tr	-	-	-	-	-
1293	1292	(2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> )-Dekadienal	tr	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	0,6
1298	1300	<i>n</i> -Tridekan	tr	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-
1316	1315	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-Dekadienal	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	0,3	-	-	-	0,6	tr	-	-	0,2	2,2
1342	1339	<i>trans</i> -Karvilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,5	tr	-	-
1353	1346	$\alpha$ -Terpinilacetat	-	0,1	-	0,1	1,0	-	0,4	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-
1362	1356	Eugenol	-	tr	tr	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1372	1369	Ciklosativen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,3	tr	-	-
1376	1373	$\alpha$ -Ilangen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,6	0,3	-	-
1377	1383	Izobornilpropanoat	-	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1378	1374	$\alpha$ -Kopaen	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1381	1380	Daucen	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	0,3	tr	-	-
1391	1387	$\beta$ -Kubeben	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1391	1390	7- <i>epi</i> -Seskvitujen	tr	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1394	1389	$\beta$ -Elemen	-	tr	-	tr	-	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	0,3	-
1404	1403	Metileugenol	tr	22,3	21,8	26,9	3,0	-	0,5	3,6	0,7	tr	0,3	-	-	-	tr	tr
1410	1407	Decilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1411	1408	Dodekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr
1416	1411	$\alpha$ - <i>cis</i> -Bergamoten	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1417	-	Bornilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	0,4	-	-	-	-	-
1419	1419	$\beta$ -Cedren	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1421	1417	( <i>E</i> )-Kariofilen	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1424	1424	2,5-Dimetoksi- <i>p</i> -cimen	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1431	1430	$\beta$ -Kopaen	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1437	1432	$\alpha$ - <i>trans</i> -Bergamoten	3,2	0,4	1,3	tr	tr	3,2	tr	-	-	-	tr	tr	0,2	0,2	-	-
1439	-	Oktilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1444	1440	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Farnezen	tr	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1447	1444	Akora-2,4(15)-dien	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1459	1452	$\alpha$ -Humulen	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
1461	1454	( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnezen	0,9	0,1	tr	0,1	tr	0,8	tr	-	0,6	-	tr	0,9	tr	0,6	-	-
1469	1469	$\beta$ -Akoradien	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1471	1465	$\gamma$ -Dekalakton	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1483	1479	<i>ar</i> -Kurkumen	tr	tr	-	-	-	tr	-	tr	-	tr	-	tr	0,4	0,4	-	-
1486	1484	Germakren D	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-
1489	1489	$\beta$ -Selinen	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	0,6	0,6	tr	-
1491	1499	4- <i>epi-cis</i> -Dihidroagarofuran	-	-	-	0,4	0,3	-	0,5	0,4	1,2	tr	0,5	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1497	1496	Valencen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	0,8	0,5	-	-
1498	1493	$\alpha$ -Zingiberen	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-
1498	1498	$\alpha$ -Selinen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1498	1500	Biciklogermakren	2,1	0,2	tr	-	tr	tr	1,3	tr	-	tr	tr	tr	-	0,2	-	-
1500	1491	( <i>E</i> )-Metilizoeugenol	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1500	1500	Izodaucen	1,3	0,5	0,7	0,4	0,4	tr	tr	0,7	0,6	0,4	tr	tr	0,2	tr	-	-
1506	1504	Kuparen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr
1510	1505	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1512	1505	$\beta$ -Bisabolen	2,8	0,4	0,7	0,3	0,4	2,0	tr	0,5	0,8	tr	0,6	2,7	0,5	1,3	1,7	tr
1516	1514	$\beta$ -Kurkumen	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1518	1513	$\gamma$ -Kadinen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,4	0,4	-	-
1518	1514	( <i>Z</i> )- $\gamma$ -Bisabolen	5,0	-	-	-	-	7,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1521	-	Bornilizovalerat	-	0,2	0,8	0,7	0,2	-	0,3	0,4	0,6	0,8	0,6	-	-	-	-	-
1522	1520	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -Selinen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	0,7	0,6	-	-
1524	1517	Miristicin	tr	-	-	-	-	-	-	9,1	6,6	tr	-	-	-	-	-	-
1526	1521	$\beta$ -Seskvifelandren	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	tr	tr	-	0,3	-	0,6
1532	1529	Kesan	tr	0,3	1,5	1,9	1,3	1,7	2,4	2,0	7,9	0,9	2,2	-	-	-	-	-
1535	1529	( <i>E</i> )- $\gamma$ -Bisabolen	2,1	0,4	0,4	0,5	0,2	1,5	-	tr	-	tr	0,3	tr	-	0,3	-	-
1545	1545	Selina-3,7(11)-dien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1545	-	( <i>E</i> )- $\alpha$ -Bisabolen	1,7	tr	-	-	-	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1548	1544	$\alpha$ -Kalakoren	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
1559	1555	Elemicin	tr	25,6	4,4	14,5	tr	tr	tr	3,0	2,3	tr	tr	-	tr	-	tr	tr
1560	1559	Germakren B	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1564	1561	(E)-Nerolidol	tr	-	-	-	-	1,2	0,4	0,5	1,8	tr	0,4	-	-	-	tr	-
1575	1568	(Z)-Izoelemicin	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1580	1577	Spatulenol	1,3	-	-	-	-	1,3	1,2	tr	-	0,3	0,3	2,2	3,7	1,1	0,2	-
1583	-	Oktilheksanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr
1590	1582	Kariofilenoksid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	tr
1590	1577	<i>trans</i> -Seskvilabinenhidrat	1,3	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1599	1600	Gvajol	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1600	1595	6-Metoksielemicin	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1614	1608	Humulenepoksid II	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1619	1618	1,10-di- <i>epi</i> -Kubenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-
1620	1607	(Z)-Seskvilavandulol	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
1622	1607	Dodecilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
1633	1631	(E)-Seskvilavandulol	2,5	-	-	0,2	tr	2,8	0,4	-	-	0,4	0,4	-	-	-	-	-
1633	1632	$\alpha$ -Akorenol	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1640	1636	Gosonorol	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1648	-	Izospatulenol	0,9	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-	tr	0,3	tr	-	-
1657	1658	<i>neo</i> -Intermedeol	1,8	-	-	-	-	3,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1662	1665	Intermedeol	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	0,8	12,8	10,9	7,3	-	-
1670	1670	Bulnezol	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1674	1674	$\beta$ -Bisabolol	1,4	tr	-	-	-	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1680	1671	<i>n</i> -Tetradekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	tr	-	-	1,4	-
1684	1685	$\alpha$ -Bisabolol	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	1,6	tr	0,9	-	-
1685	1677	Apiol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1706	1690	(Z)- $\alpha$ -trans-Bergamotol	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1766	-	Tetradekanska kiselina	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1777	-	Oktiloktanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1778	1766	12-Hidroksi-(Z)-seskvicineol	tr	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1818	-	1,13-Tetradekadien	2,3	-	-	-	-	1,1	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-
1843	1773	n-Pentadekanol	-	-	-	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1878	1874	n-Heksadekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	tr	-	-	0,3	-
1968	1959	Heksadekanska kiselina	3,3	tr	7,0	-	-	6,3	0,6	-	-	0,7	1,0	tr	-	1,1	-	4,6
2030	2033	Izobergapten	tr	0,2	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-
2038	2035	(Z)-Falkarinol	1,8	0,6	10,6	0,3	0,6	4,6	0,8	tr	1,0	0,4	1,9	1,6	0,9	3,2	80,0	72,3
2059	2056	Bergapten	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-
2076	-	(Z)-9-Oktadecen-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	0,4	0,6	-
2082	-	(E)-9-Oktadecen-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-
2090	-	Falkarinol izomer	1,5	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2099	-	$\gamma$ -Palmitolakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9
2128	-	Pimpinelin	tr	0,3	0,4	0,1	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	0,4	tr	0,5	tr	0,4	-
2133	-	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienska kiselina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
2137	2095	Metillinoleat	-	-	2,8	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2139	-	Oktadecenska kiselina izomer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-
2141	2140	Ostol	tr	0,3	-	tr	0,4	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
2181	-	Falkarinol izomer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	4,0	-	-
2194	-	Falkarindiol	2,3	tr	9,4	tr	0,4	1,6	-	-	-	1,0	1,4	-	-	0,5	-	-

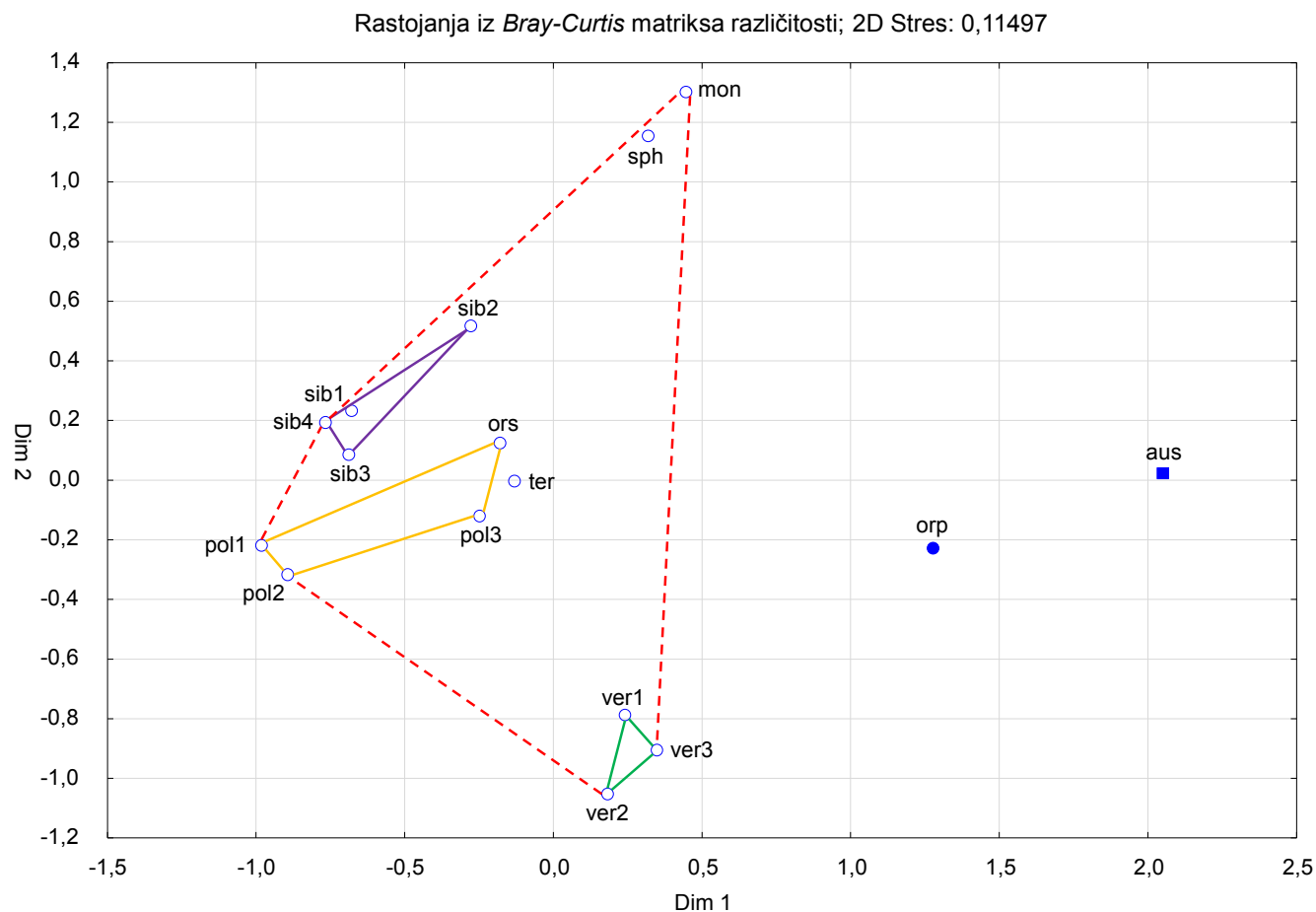


RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	pol3	ors	ver1	ver2	ver3	orp	aus
2207	-	(Z)-13-Oktadecenilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
2236	2237	Izopimpinelin	tr	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-
2494	2500	<i>n</i> -Pentakozan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
2693	2700	<i>n</i> -Heptakozan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
2892	2900	<i>n</i> -Nonakozan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
		Monoterpenski ugljovodonici	39,3	45,7	26,3	46,1	85,5	23,2	75,1	65,4	57,4	85,7	67,5	67,6	55,6	62,6	2,8	-
		Oksidovani monoterpeni	tr	1,5	1,9	3,4	3,8	tr	2,2	11,1	4,0	1,5	2,7	tr	11,9	0,3	0,1	-
		Seskviterpenski ugljovodonici	19,2	2,2	3,1	1,3	1,0	19,2	1,3	1,2	2,0	0,4	0,9	6,0	5,0	5,4	2,0	0,6
		Oksidovani seskviterpeni	9,3	0,3	1,5	2,5	1,6	16,7	6,5	2,9	11,4	1,6	4,6	16,6	15,3	9,3	0,2	tr
		Fenilpropani	tr	48,3	26,2	42,2	3,0	tr	0,5	16,0	11,0	0,5	1,1	-	tr	-	tr	tr
		Poliacetileni	5,5	0,6	20,0	0,3	1,0	8,7	0,8	tr	1,0	1,5	3,2	1,6	0,9	7,7	80,0	72,3
		Alifatični estri	0,7	tr	tr	0,3	0,2	tr	tr	-	0,5	-	tr	tr	0,9	1,8	tr	tr
		Masne kiseline i njihovi derivati	3,3	tr	9,8	-	-	7,3	0,6	-	-	1,9	1,0	tr	-	1,1	-	9,0
		Ostali	5,2	1,0	2,3	1,2	0,7	3,8	5,1	1,5	3,0	1,6	10,3	4,9	3,5	5,7	11,3	8,2
		<b>Ukupno</b>	<b>82,5</b>	<b>99,6</b>	<b>91,0</b>	<b>97,3</b>	<b>96,8</b>	<b>78,9</b>	<b>92,1</b>	<b>98,1</b>	<b>90,3</b>	<b>94,6</b>	<b>91,3</b>	<b>96,7</b>	<b>93,1</b>	<b>93,9</b>	<b>96,4</b>	<b>90,1</b>
		Ukupno identifikovanih jedinjenja	91	69	51	61	55	91	70	55	51	50	75	73	58	58	44	31

<sup>a</sup> RI<sub>exp</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> *n*-alkane. <sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007). <sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2011. god., **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2013. god., **sib3** - *H. sibiricum* sakupljen na Žarkovoj čuki, Stara planina, **sib4** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol1** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Bistroj, **pol2** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Galičici, **pol3** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Jablanici, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver1**- *H. verticillatum* sakupljen na Vražjoj glavi, Stara planina, **ver2**- *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2012. god., **ver3** - *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2014. god., **orp** - *H. orphanidis* sakupljen 2012. god., **aus** - *H. austriacum* subsp. *siifolium*. <sup>d</sup> Relativni udeo komponente u etarskom ulju. <sup>e</sup> tr-tragovi (<0,1%).

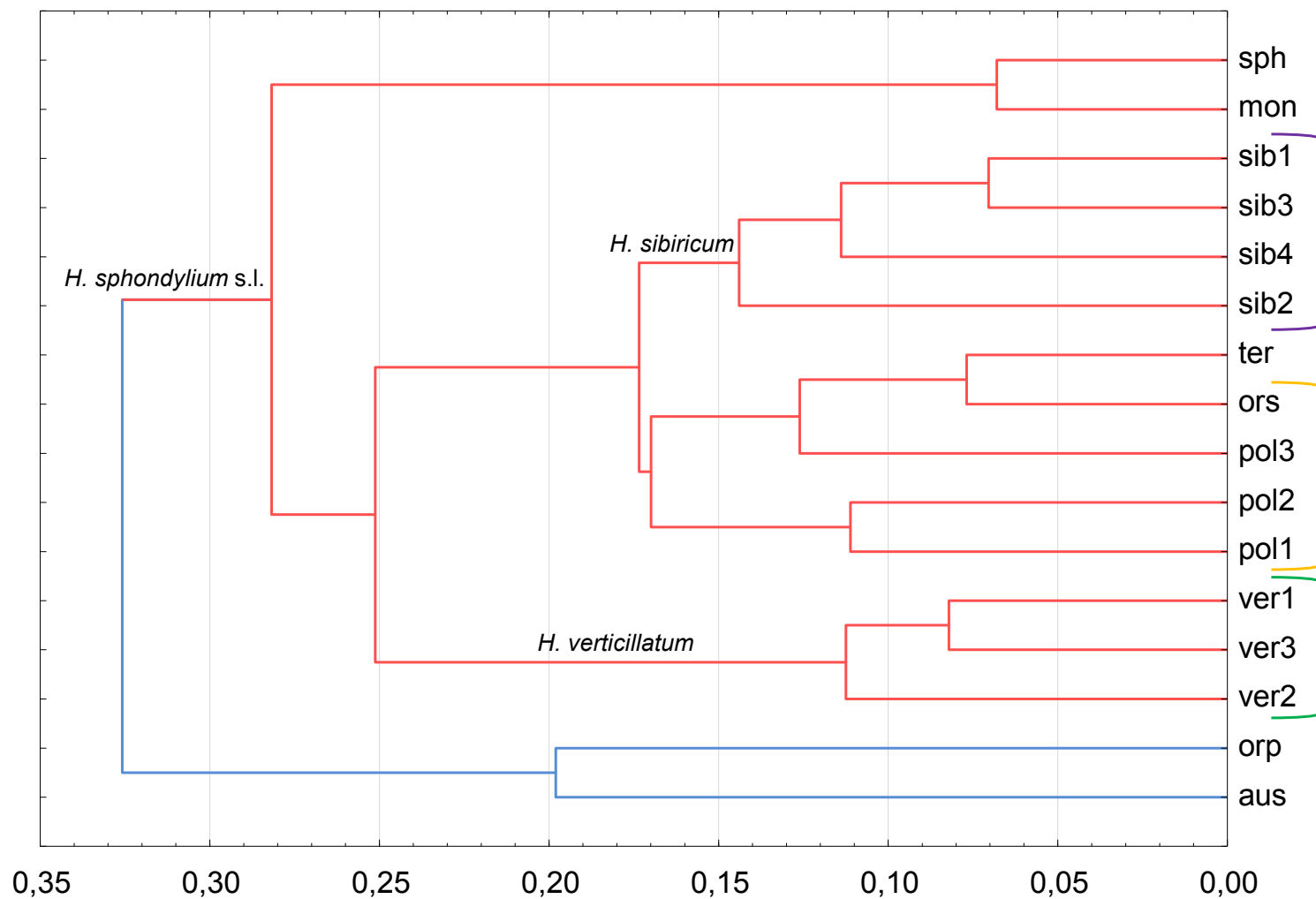
Statistička obrada sastava analiziranih etarskih ulja podzemnih organa PCA, 2D nMDS i UPGMA metodama (**Slike 12-14**), pokazala je da su ispitivani taksoni roda *Heracleum* i njihove populacije bili grupisani u skladu sa njihovom taksonomskom klasifikacijom, bez obzira na lokalitet i godinu sakupljanja uzoraka. Obe podvrste *H. pyrenaicum* (tri uzorka *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* i jedan uzorak *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, svi sakupljeni na udaljenim lokalitetima), su se međusobno grupisale. I morfološki srodne vrste *H. sphondylium* i *H. montanum* bile su međusobno blizu pozicionirane. Jedino se *H. ternatum* nije dobro odvojio od drugih taksona, i bio je pozicioniran vrlo blizu *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sa kojim ima mnogo zajedničkih morfoloških karakteristika (prvenstveno u pogledu cvetova). Svi ovi taksoni, zajedno sa ostalim ispitivanim predstavnicima grupe *H. sphondylium* (tj. *H. sibiricum* i *H. verticillatum*), bili su jasno odvojeni od *H. orphanidis* (koji pripada sekciji *Heracleum*, ali ne i grupi *H. sphondylium*) i *H. austriacum* subsp. *siifolium* (iz sekcije *Wendia*). PCA analiza je pokazala da je veći broj komponenti doprineo razdvajanju vrsta, ali su prvenstveno dominantne komponente posedovale značajna pozitivna ili negativna opterećenja faktora. Prva glavna osa je objasnila najznačajniji procenat varijacije (33,42%). Razdvajanju duž ove ose najviše su doprineli neki od dominantnih monoterpena etarskih ulja podzemnih organa predstavnika grupe *H. sphondylium*, tj.  $\alpha$ -pinen (-0,92),  $\beta$ -pinen (-0,88), limonen (-0,77) i terpinolen (-0,77), sa visokim negativnim opterećenjima faktora, kao i najzastupljenija komponenta ulja podzemnih organa *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium*, (*Z*)-falkarinol (0,79), sa visokim pozitivnim opterećenjem faktora.





**Slika 13.** 2D nMDS analiza etarskih ulja podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 9**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*, a punom zelenom linijom uzorci *H. verticillatum*.

## Unweighted pair-group average; različitosti iz matriksa



Slika 14. UPGMA analiza etarskih ulja podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u Tabeli 9.

Hemijski sastav etarskih ulja podzemnih organa taksona roda *Heracleum* ispitivao je veći broj autora (George i sar., 2001; Karuppusamy i Muthuraja, 2011; Kılıç i sar., 2016; Mojab i Nickavar, 2003; Tkachenko, 2009; Torbati i sar., 2014). Tkachenko (2009) je do sada jedini pokazao i hemosistematski značaj sastojaka etarskih ulja korena biljaka ovog roda, ali nije statistički analizirao dobijene rezultate. Njegova analiza obuhvatila je 13 vrsta gajenih u eksperimentalnoj stanici Botaničkog instituta V. L. Komarov u Lenjingradskoj oblasti (Rusija). U etarskim uljima korena svih ovih vrsta monoterpeni su bili značajno zastupljeni, kao i u slučaju ulja podzemnih organa taksona iz grupe *H. sphondylium* ispitivanih u okviru ove doktorske disertacije. Tkachenko je pokazao da je  $\beta$ -pinen bio dominantan u etarskim uljima sedam vrsta (17,8-39,0%), prvenstveno u uljima *H. wilhelmsii* i *H. ponticum*. Ocimen (izomer nije identifikovan) je bio prisutan u značajnoj količini u uljima korena devet vrsta (10,9-24,0%), a bio je dominantan samo u ulju *H. chorodanum* (14,5%). U etarskom ulju korena *H. stevenii*, sakupljenom u različitim fenofazama, limonen (19,4-20,0%) je bio druga komponenta po zastupljenosti, iza oktilacetata (33,0-35,0%) (Tkachenko, 2009). Poliacetileni su takođe česti sastojci podzemnih organa biljaka familije Apiaceae, a (*Z*)-falkarinol, dominantan u ispitivanim etarskim uljima podzemnih organa *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium*, prethodno je izolovan iz hloroformskog ekstrakta korena *H. moellendorffii* (Nakano i sar., 1998).

### **1.2. Isparljive komponente podzemnih organa ispitivane headspace GC-FID i GC-MS metodom**

Najisparljivije komponente 13 uzoraka podzemnih organa osam ispitivanih taksona sekcije *Heracleum* analizirane su *headspace* GC-FID i GC-MS metodom (Tabela 10). Sastav dobijenih *headspace* frakcija (tj. frakcija najisparljivijih komponenti) podzemnih organa bio je u skladu sa sastavom etarskih ulja, jer su najzastupljenije komponente etarskih ulja predstavljale uglavnom i njihove najisparljivije komponente. Broj isparljivih komponenti identifikovanih na ovaj način kretao se od 11 (u slučaju *H. ternatum*) do 19 (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u Arbinju na Staroj planini), i one su činile od 97,2% (u slučaju *H. verticillatum* iz 2014. god.) do 100% (kod više uzoraka) ukupne količine detektovanih jedinjenja.

Dominantni najisparljiviji sastojci podzemnih organa ispitivanih predstavnika grupe *H. sphondylium* bili su monoterpeni (84,5-100,0%).  $\beta$ -Pinen je bio značajno zastupljena komponenta *headspace* frakcija podzemnih organa većine (tj. šest) predstavnika ove grupe (44,0-79,7%). (*Z*)- $\beta$ -Ocimen je bio dominantna komponenta *headspace* frakcije podzemnih organa *H. montanum* (65,4%), a druga komponenta po zastupljenosti u *headspace* frakciji *H. sphondylium* (28,4%). I drugi dominantni monoterpeni etarskih ulja podzemnih organa detektovani su u značajnoj količini i u njihovim *headspace* frakcijama, npr.  $\alpha$ -pinen u slučaju podzemnih organa *H. sibiricum* (14,2-19,5%), *H. ternatum* (12,4%) i *H. pyrenaicum* (13,9-19,3%), limonen u slučaju *H. verticillatum* (9,9-21,3%), i terpinolen u slučaju *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (4,9-15,7%) i *H. verticillatum* (6,0-15,1%). Sa druge strane, u etarskom ulju podzemnih organa *H. orphanidis* najzastupljeniji je bio slabije isparljiv (*Z*)-falkarinol, dok je dominantna komponenta *headspace* frakcije bio *n*-nonan (89,8%).

Upravo zato što su dominantne komponente etarskih ulja podzemnih organa ispitivanih taksona bile uglavnom i najisparljivije, statistička obrada sastava *headspace* frakcija PCA, 2D nMDS i UPGMA metodama (Slike 15-17), bila je opravdana i rezultirala sličnim, čak boljim grupisanjem ispitivanih taksona u skladu sa njihovom taksonomskom pripadnošću. Naime, za razliku od statističke analize etarskih ulja podzemnih organa, analiza *headspace* frakcija je pokazala jasno odvajanje *H. ternatum* od *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*. PCA analiza je pokazala da su razdvajanju po prvoj glavnoj osi (koja objašnjava 34,78% varijacije) najviše doprineli limonen (0,79) i  $\beta$ -pinen (0,73) sa visokim pozitivnim opterećenjima faktora i *n*-nonan (-0,78) sa visokim negativnim opterećenjem faktora. Ove tri komponente bile su među dominantnim u *headspace* frakcijama podzemnih organa ispitivanih taksona;  $\beta$ -pinen u slučaju svih taksona grupe *H. sphondylium*, limonen kod oba uzorka *H. verticillatum*, a *n*-nonan u slučaju *H. orphanidis*. Razdvajanju po drugoj glavnoj osi (koja objašnjava 30,15% varijacije) pre svih doprineo je mircen (0,81) sa visokim pozitivnim opterećenjem faktora, iako nije bio među dominantnim isparljivim komponentama, ali bi se značajnim moglo smatrati njegovo odsustvo iz *headspace* frakcija podzemnih organa *H. ternatum* i *H. orphanidis*.

**Tabela 10.** Hemijski sastav *headspace* frakcija podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* (%)

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	ors	ver1	ver2	orp
865	-	2-Metiloktan	3,5 <sup>d</sup>	0,1	-	-	-	5,0	1,1	tr <sup>e</sup>	0,4	2,3	-	-	-
899	900	<i>n</i> -Nonan	-	-	-	-	-	3,7	1,0	-	-	1,9	-	-	89,8
904	901	Heptanal	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
915	-	4-Nonen+3-nonen	-	0,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	6,8	10,6	-
916	-	2-Nonen	-	-	-	-	0,3	-	-	tr	0,6	-	1,8	2,0	-
931	924	$\alpha$ -Tujen	tr	2,0	2,3	2,7	7,5	tr	-	4,1	tr	tr	-	tr	-
940	932	$\alpha$ -Pinen	4,4	14,2	16,1	19,5	18,9	3,6	12,4	19,3	13,9	14,6	2,0	3,5	0,5
955	946	Kamfen	tr	2,2	2,5	2,7	3,1	tr	tr	1,7	2,5	1,4	-	-	-
979	969	Sabinen	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
987	974	$\beta$ -Pinen	49,5	63,4	63,1	49,6	52,6	12,0	79,7	55,3	49,7	58,6	44,0	60,4	3,7
994	988	Mircen	6,0	6,4	7,0	7,4	4,3	3,8	-	3,5	6,5	5,9	-	2,0	-
995	984	2-Pentilfuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6
1021	1014	$\alpha$ -Terpinen	-	-	-	-	0,2	-	-	tr	-	-	-	-	-
1028	1020	<i>p</i> -Cimen	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	0,2
1036	1024	Limonen	2,4	4,8	5,0	9,5	7,4	1,1	1,3	3,0	3,0	2,1	21,3	9,9	0,3
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	28,4	5,6	2,8	7,8	5,3	65,4	3,6	7,8	7,8	11,4	4,2	1,5	1,2
1052	1044	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	2,1	-	-	-	-	2,4	tr	-	-	-	2,8	1,2	0,6
1063	1054	$\gamma$ -Terpinen	-	tr	0,1	-	0,4	-	-	0,4	-	-	-	-	tr
1092	1086	Terpinolen	-	0,6	0,5	0,8	tr	-	0,8	4,9	15,7	1,8	15,1	6,0	1,8
1100	1100	<i>n</i> -Undekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7
1109	1103	2-Metilbutilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	tr	-



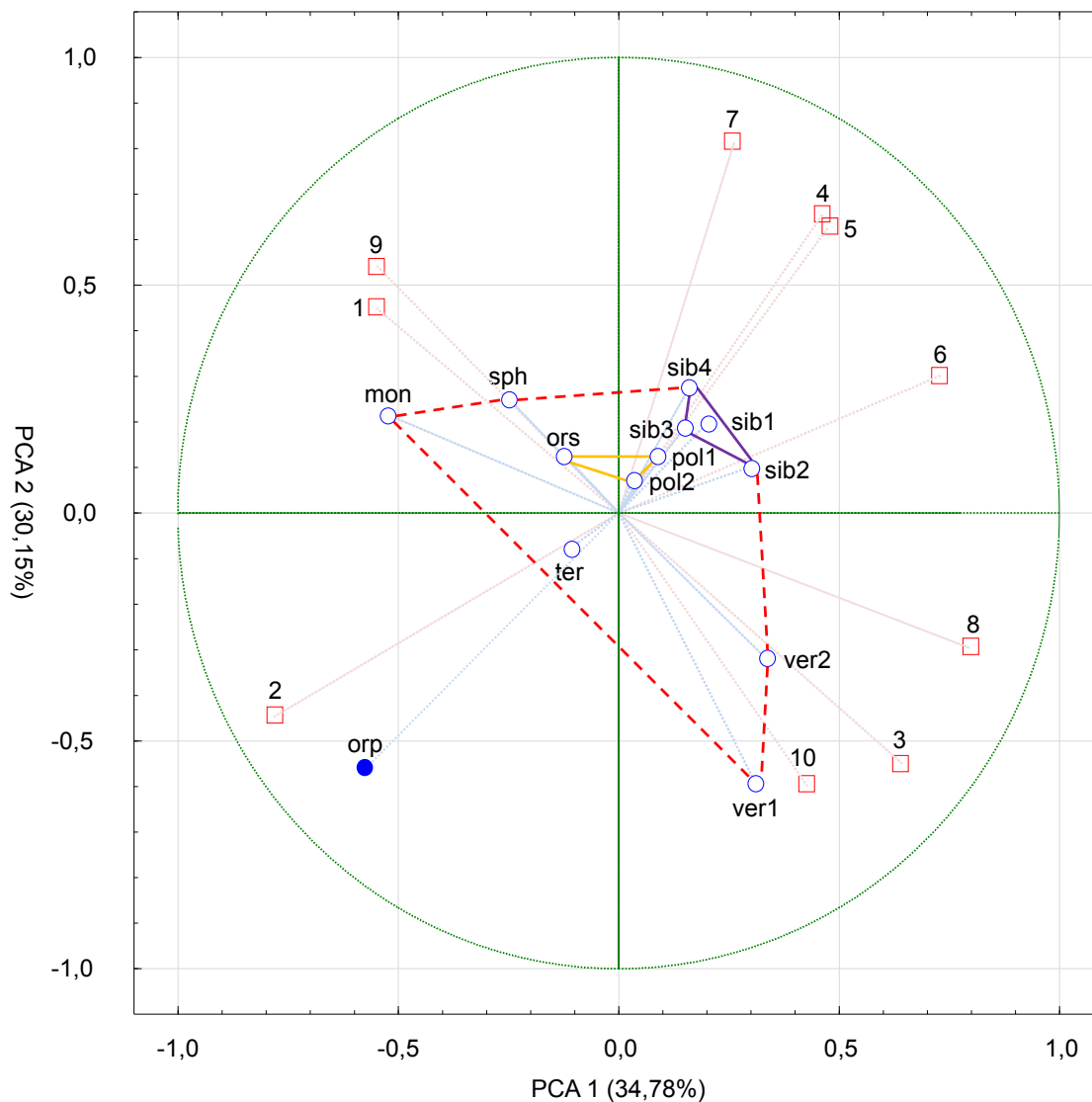
RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	poll1	pol2	ors	ver1	ver2	orp
1131	1128	<i>allo</i> -Ocimen	tr	-	-	tr	tr	0,7	-	-	0,1	-	-	-	-
1150	-	4,8-Epoksi- <i>p</i> -ment-1-en	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-
1167	1160	Pinokarvon	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1192	1187	1-Dodecen	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-
1200	1195	Metilhavikol	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1216	1211	Oktilacetat	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	0,3	-	tr
1289	1287	Bornilacetat	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1298	1300	<i>n</i> -Tridekan	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1346	-	Oktilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
1381	1380	Daucen	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-
1404	1403	Metileugenol	-	0,1	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1435	-	Oktil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
1437	1432	<i>α-trans</i> -Bergamoten	0,5	tr	tr	-	tr	tr	-	-	tr	-	-	tr	-
1439	-	Oktilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1498	1500	Biciklogermakren	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-
1500	1500	Izodaucen	tr	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-
1512	1505	<i>β</i> -Bisabolen	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	tr
1518	1514	( <i>Z</i> )- <i>γ</i> -Bisabolen	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1532	1529	Kesan	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1559	1555	Elemicin	-	tr	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Monoterpenski ugljovodonici	92,8	99,3	99,4	100,0	99,7	89,0	97,8	100,0	99,0	95,8	89,4	84,5	8,1
		Oksidovani monoterpeni	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	0,2	-	-
		Seskviterpenski ugljovodonici	0,5	tr	tr	-	tr	tr	tr	-	tr	-	-	tr	tr

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	mon	ter	pol1	pol2	ors	ver1	ver2	orp
		Oksidovani seskviterpeni	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
		Fenilpropani	-	0,1	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Alifatični estri	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	0,6	tr	tr
		Ostali alifatični ugljovodonici	3,5	0,6	0,4	-	0,3	8,9	2,2	tr	1,0	4,2	8,6	12,6	90,5
		Ostali	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
		<b>Ukupno</b>	<b>98,2</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>97,9</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>98,7</b>	<b>97,2</b>	<b>99,7</b>
		Ukupno identifikovanih jedinjenja	15	17	13	13	19	15	11	13	16	12	14	13	14

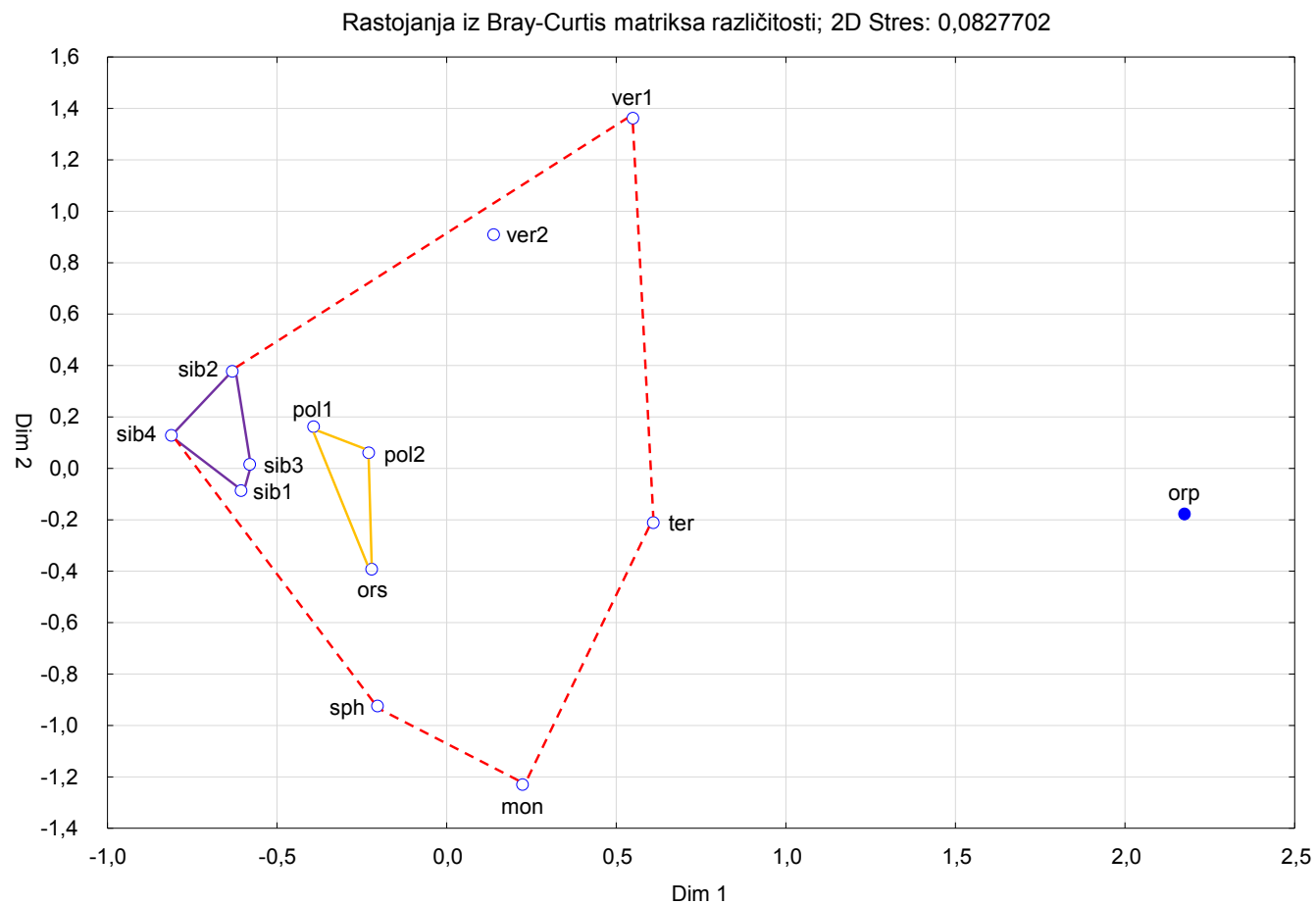
<sup>a</sup> RI<sub>eks</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> *n*-alkane. <sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007).

<sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2011. god., **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2013. god., **sib3** - *H. sibiricum* sakupljen na Žarkovoj čuki, Stara planina, **sib4** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol1** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Bistroj, **pol2** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Jablanici, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver1** - *H. verticillatum* sakupljen 2012. god., **ver2** - *H. verticillatum* sakupljen 2014. god., **orp** - *H. orphanidis* sakupljen 2016. god.

<sup>d</sup> Relativni udeo komponente u etarskom ulju. <sup>e</sup> tr-tragovi (<0,1%).

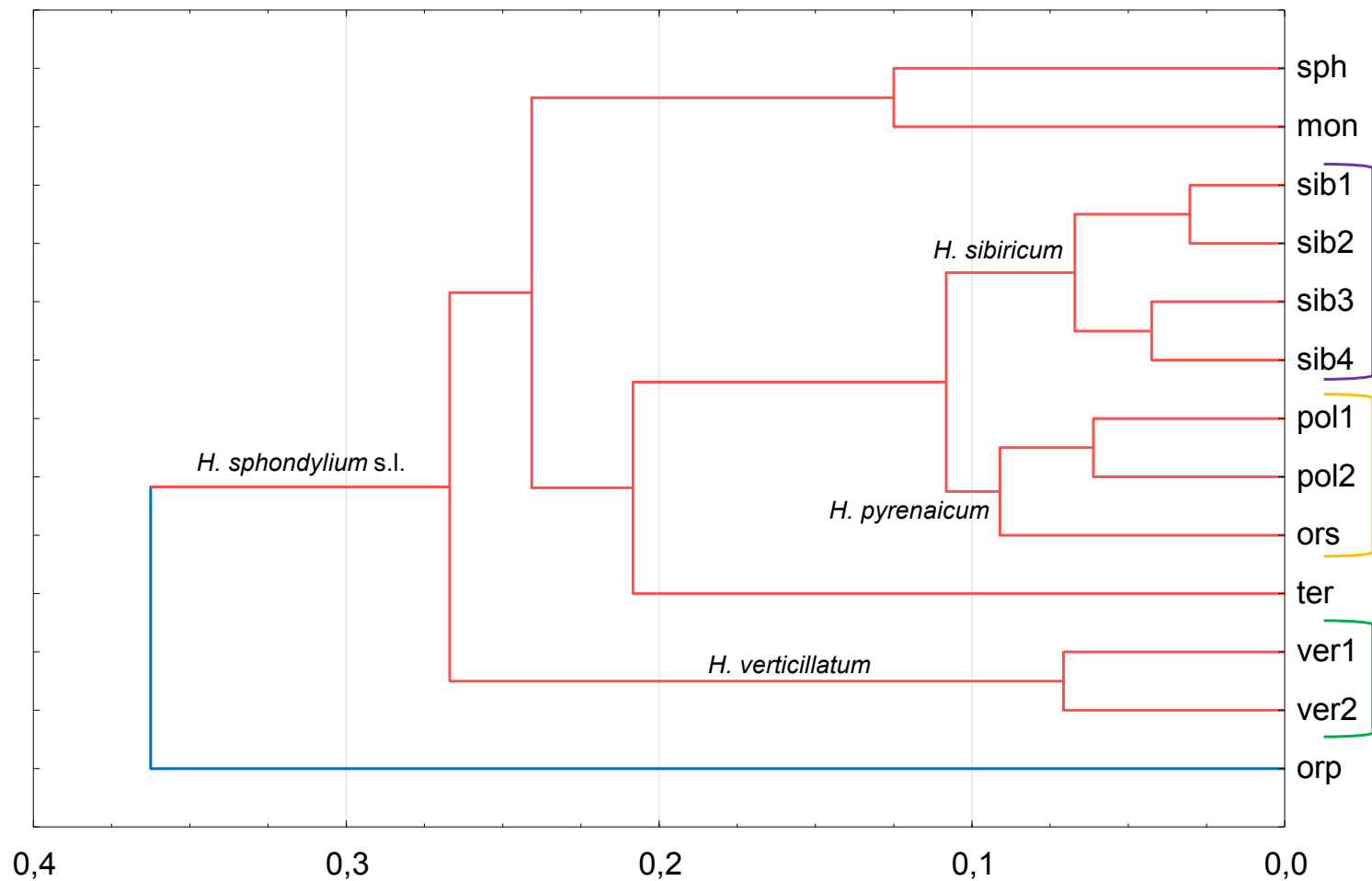


**Slika 15.** PCA analiza *headspace* frakcija podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 10**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, a obojeni krug *H. orphanidis*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, a punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*. Komponente (prazni kvadrati): 2-metiloktan (1), *n*-nonan (2), 4-nonen+3-nonen (3),  $\alpha$ -tujen (4),  $\alpha$ -pinen (5),  $\beta$ -pinen (6), mircen (7), limonen (8), (*Z*)- $\beta$ -ocimen (9) i terpinolen (10).



**Slika 16.** 2D nMDS analiza *headspace* frakcija podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 10**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, a obojeni krug *H. orphanidis*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, a punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*.

## Unweighted pair-group average; različitosti iz matriksa



**Slika 17.** UPGMA analiza *headspace* frakcija podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 10.**

### 1.3. Etarska ulja plodova

U etarskim uljima izolovanim iz 18 uzoraka plodova svih devet taksona roda *Heracleum* (Tabela 11) broj identifikovanih jedinjenja kretao se od 19 (u slučaju *H. orphanidis*) do 78 (u slučaju *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* iz 2011 god.), i ona su činila od 89,0% (u slučaju *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sa Galičice) do 99,4% (u slučaju *H. orphanidis*) ukupne količine ulja.

Dominantni sastojci svih ispitivanih etarskih ulja bili su alifatični estri (72,7-96,2%), prvenstveno estri *n*-oktanola. Uočljiva karakteristika etarskih ulja plodova svih ispitivanih taksona iz sekcije *Heracleum* bila je značajna zastupljenost oktilacetata (17,7-84,5%). Nasuprot tome, u etarskom ulju plodova *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sekcije *Wendia*, količina oktilacetata je bila mala (2,9%), a dominantan je bio oktilheksanoat (49,8%). Dodatno, etarska ulja *H. verticillatum* su sadržala značajnu količinu oktilizobutanoata (12,6-15,5%) i oktil-2-metilbutanoata (20,3-38,3%), a ulja *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* oktilheksanoata (22,1-30,1%). Sva ispitivana etarska ulja sadržala su i slobodan *n*-oktanol, u količini koja je značajno varirala (0,6-21,1%).

Prethodno je analiziran hemijski sastav etarskih ulja plodova *H. sphondylium* sakupljenih u blizini Trondhajma u Norveškoj (Falahati-Anbaran i sar., 2018) i Trefleza u Francuskoj (Pavela i sar., 2017), izolovanih destilacijom vodenom parom. Takođe, analiziran je i sastav etarskih ulja izolovanih direktno, ekstrakcijom heksanom, iz odgovarajućih sekretornih kanala (kako iz *vittae commissuralis*, tako i iz *vittae intrajugalis*) plodova poreklom iz okoline Trenta u Italiji (metoda izolacije objašnjena u Uvodu, odeljak 2.1.) (Bicchi i sar., 1990). Oba etarska ulja izolovana destilacijom vodenom parom i etarsko ulje izolovano iz *vittae commissuralis* bila su kvalitativno slična ispitivanom ulju plodova *H. sphondylium* iz Slovenije, uz izvesne kvantitativne razlike. Glavna komponenta svih ovih etarskih ulja bio je oktilacetat (78,1% u ulju iz Norveške, 66,6% u ulju iz Francuske, 18,1-34,6% u ulju iz Italije iz *vittae commissuralis*, a 67,1% u ulju iz Slovenije). Etarsko ulje iz *vittae commissuralis* bilo je bogato i oktilheksanoatom (24,5-30,5%). Od etarskih ulja izolovanih destilacijom vodenom parom značajnija količina ovog jedinjenja bila je prisutna samo u ulju iz Slovenije (8,4%). Etarsko ulje izolovano iz *vittae commissuralis* sadržalo je značajnu količinu furanokumarina (npr. biakangelikol 8,1-8,7%), dok su ovi sastojci u etarskim uljima izolovanim destilacijom vodenom parom bili odsutni ili prisutni samo u

tragovima (bergapten u ispitivanom ulju iz Slovenije), što je skladu sa slabijom isparljivošću furanokumarina. Etarsko ulje izolovano iz *vittae intrajugalis* pretežno je sadržalo monoterpene, najviše limonen (5,8-36,8%). U etarskim uljima izolovanim destilacijom vodenom parom iz celih plodova monoterpene su detektovani u znatno manjoj količini, npr. limonen je bio prisutan u sva tri ulja u količini  $\leq 0,01\%$ . To je očigledno posledica toga što je količina etarskog ulja lokalizovanog u *vittae commissuralis* mnogo veća u odnosu na onu lokalizovanu u *vittae intrajugalis* (*vittae commissuralis* su značajno krupnije u odnosu na *vittae intrajugalis*) (Bicchi i sar., 1990; Falahati-Anbaran i sar., 2018; Pavela i sar., 2017).

Prethodno je analizirano i etarsko ulje plodova *H. ternatum* sa po dva lokaliteta u Italiji (sa Sibilinskih planina i iz dve godine sa Umbrijsko-Markeških Apenina) i Turskoj (iz okoline Denizlija i Ankare) (İşcan i sar., 2003; 2004; Maggi i sar., 2014; Pavela i sar., 2017). U etarskim uljima iz Italije dominantan je bio oktilacetat (54,9-61,0%) (Maggi i sar., 2014; Pavela i sar., 2017). Malo manja količina ovog alifatičnog estra bila je prisutna u etarskim uljima plodova *H. ternatum* iz Crne Gore (49,0 i 42,0%), ispitivanim u okviru ove doktorske disertacije. Sa druge strane, oktilacetat nije bio dominantan u etarskim uljima plodova ove vrste iz okoline Ankare (31,6%) i Denizlija (svega 7,3%). U ovim etarskim uljima najzastupljeniji su bili oktilbutanoat (37,7%), odnosno *n*-oktanol (50,3%) (İşcan i sar., 2003; 2004). U etarskim uljima plodova *H. ternatum* ispitivanim u okviru ove doktorske disertacije, *n*-oktanol (9,6 i 7,6%) i oktilbutanoat (2,4 i 2,5%) su takođe identifikovani, ali u znatno manjem procentu.

**Tabela 11.** Hemijski sastav etarskih ulja plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* (%)

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
875	863	<i>n</i> -Heksanol	tr <sup>d</sup>	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
888	880	Izopropil-2-metilbutanoat	0,1 <sup>e</sup>	-	tr	-	tr	0,1	0,1	0,7	tr	0,3	tr	0,4	0,5	-	-	-	-	-
894	-	Izopropilizovalerat	tr	-	tr	-	tr	tr	0,1	0,5	tr	-	-	0,3	0,3	-	-	-	-	-
899	900	<i>n</i> -Nonan	tr	-	tr	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	tr	tr	tr	0,1	0,2	-	-
904	901	Heptanal	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr
916	908	Izobutilizobutanoat	tr	-	tr	-	tr	tr	tr	0,2	tr	-	-	tr	tr	-	0,1	0,2	-	-
931	924	$\alpha$ -Tujen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
940	932	$\alpha$ -Pinen	0,1	tr	tr	-	0,2	tr	0,2	0,6	0,2	2,9	0,5	1,9	0,8	tr	-	-	tr	-
955	946	Kamfen	tr	-	tr	-	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	0,4	0,2	-	-	-	-	-
961	953	Tuja-2,4(10)-dien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
979	969	Sabinen	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	-	tr
987	974	$\beta$ -Pinen	-	-	-	-	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	0,1	0,3	0,3	tr	tr	0,1	tr	-
994	988	Mircen	-	tr	-	-	0,2	-	-	tr	-	-	tr	tr	0,5	tr	-	-	-	tr
1004	-	Izobutil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	1,2	1,6	1,1	-	-	-	-	-
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	1,6	0,8	0,6	0,2	1,2	1,0	0,8	2,1	0,9	tr	tr	tr	-	tr	1,0	0,6	0,9	0,1
1006	-	Izobutilizovalerat	tr	-	tr	tr	tr	tr	0,2	0,3	0,1	tr	0,2	0,4	0,2	tr	0,1	0,1	-	-
1015	1007	Izoamilizobutanoat	-	-	-	-	-	tr	-	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-
1017	-	2-Metilbutilizobutanoat	tr	-	tr	-	tr	0,1	tr	0,5	-	tr	0,2	0,5	0,2	tr	0,1	0,2	-	-
1017	1007	Heksilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1028	1020	<i>p</i> -Cimen	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1036	1024	Limonen	0,1	tr	tr	tr	0,3	tr	0,1	0,2	0,2	0,5	tr	0,9	0,6	tr	tr	tr	-	tr
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	-	tr	0,2	0,1	1,7	0,2	-	0,1	0,2	0,3	0,2	tr	0,2	tr	-	-	-	tr



RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1044	-	Butil-2-metilbutanoat	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	tr	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-
1049	-	Butilizovalerat	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-
1052	1044	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	tr
1065	1047	(3 <i>Z</i> )-Okten-1-ol	0,2	tr	0,9	0,2	0,4	0,6	0,6	0,7	0,5	tr	0,4	0,5	0,1	-	-	-	-	0,1
1072	1063	<i>n</i> -Oktanol	16,6	6,0	21,1	5,4	5,6	17,0	15,7	9,6	7,6	9,7	4,1	3,0	2,9	0,6	1,6	2,5	2,3	5,4
1082	-	Izobutil-3-metil-2-butenolat	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	-	-	-	-	tr	0,2	0,2	-	-
1092	1086	Terpinolen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1094	-	( <i>E</i> )-4-Undecen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1099	1095	6-Kamfenon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1100	1100	<i>n</i> -Undekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1103	1095	Linalol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1103	1100	Izopentil-2-metilbutanoat	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	0,1	tr	0,4	tr	0,3	-	-	tr	-	-
1104	1100	2-Metilbutil-2-metilbutanoat	0,1	tr	tr	tr	tr	0,7	0,2	0,9	0,4	tr	0,6	1,3	1,0	tr	tr	tr	-	-
1106	1100	<i>n</i> -Nonanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1106	1102	Izopentilizovalerat	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	-	tr	0,7	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1109	1103	2-Metilbutilizovalerat	tr	tr	tr	0,1	tr	0,2	0,1	0,3	0,2	0,3	0,3	0,6	0,4	tr	tr	tr	-	-
1124	1118	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1130	1122	$\alpha$ -Kamfolenal	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1134	1128	( <i>Z</i> )-Epoksi-ocimen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1144	1137	<i>trans</i> -Sabinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1151	1147	Heksilizobutanoat	0,1	tr	0,2	0,1	tr	0,3	tr	0,6	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	tr	0,4	0,3	-	tr
1167	1160	Pinokarvon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1170	1165	Borneol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1181	1174	Terpinen-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1186	-	1-Metilbutil-3-metil-2-butenoat	tr	tr	tr	-	-	-	tr	0,2	tr	-	-	tr	tr	tr	0,2	0,2	-	-
1191	1167	Oktanska kiselina	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1193	1191	Heksilbutanoat	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1196	1193	(4Z)-Decenal	tr	-	tr	-	-	-	tr	0,5	0,3	-	-	tr	0,3	-	1,2	0,6	-	-
1206	1201	<i>n</i> -Dekanal	tr	-	tr	-	-	tr	0,6	1,2	1,3	-	-	2,1	0,6	-	0,7	0,3	-	tr
1216	1211	Oktilacetat	67,1	64,6	64,3	73,1	57,0	62,2	57,5	49,0	42,0	66,1	50,5	36,8	30,3	17,7	42,3	47,8	84,5	2,9
1239	1233	Heksil-2-metilbutanoat	0,4	0,6	0,4	0,6	0,4	0,7	0,2	0,7	0,5	0,8	0,8	0,7	0,7	tr	0,4	0,4	-	tr
1244	1241	Heksilizovalerat	0,3	0,6	0,3	0,4	0,4	0,3	0,1	0,3	0,3	0,8	0,7	0,6	0,4	tr	0,1	tr	tr	tr
1260	1255	(4Z)-Decen-1-ol	tr	-	tr	-	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	-	-	tr	-	-	-	-
1264	1260	(2E)-Decenal	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1274	1266	<i>n</i> -Dekanol	0,1	-	tr	-	-	tr	0,2	-	tr	tr	tr	-	-	tr	-	-	tr	-
1289	1287	Bornilacetat	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	0,1	0,2	0,4	tr	0,5	0,2	-	-	-	tr	-
1290	1288	Lavadulilacetat	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1303	-	Oktilpropanoat	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	0,6	-	-	1,2	1,4	1,0	-	0,2
1307	1305	Undekanal	tr	tr	tr	-	-	-	tr	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1311	1311	Nonanilacetat	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	tr	-
1316	1315	(2E,4E)-Dekadienal	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1324	-	Heksil-3-metil-2-butenoat	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	0,1	tr	-	-
1346	-	Oktilizobutanoat	0,1	0,3	0,2	0,8	0,8	1,0	tr	0,2	0,2	tr	8,0	0,8	0,4	15,5	15,2	12,6	-	4,5
1362	1356	Eugenol	-	tr	tr	tr	tr	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1378	1374	$\alpha$ -Kopaen	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1385	1382	Heksilheksanoat	tr	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1387	1387	$\beta$ -Burbonen	-	tr	tr	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr
1389	-	Oktilbutanoat	1,0	9,8	2,8	2,6	9,3	4,0	1,6	2,4	2,5	-	-	3,6	3,0	-	-	-	0,6	2,3
1394	-	1-Buteniliden-cikloheksan	0,2	-	0,2	-	0,4	0,3	0,4	0,6	0,8	tr	0,6	1,0	0,6	tr	0,5	0,6	-	-
1397	1397	(Z)-Trimenal	tr	-	0,2	tr	tr	0,3	0,2	0,2	0,3	-	-	-	0,1	tr	1,5	2,0	-	-
1404	-	(Z)-6-Decenilacetat	-	tr	-	0,3	tr	-	-	-	-	-	0,8	-	0,4	-	-	-	-	-
1404	1403	Metileugenol	-	0,7	0,4	1,1	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1410	1407	Decilacetat	0,8	1,2	0,8	0,6	1,0	0,7	1,1	0,6	0,9	0,6	1,2	0,6	0,7	0,6	0,4	0,5	1,0	tr
1411	1408	Dodekanal	-	tr	-	0,5	-	tr	-	0,6	0,6	-	-	0,9	0,1	-	0,1	tr	tr	-
1417	-	Bornilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-
1421	1417	(E)-Kariofilen	tr	0,8	0,2	-	0,2	-	-	-	0,1	-	-	tr	0,8	tr	-	-	tr	0,8
1429	1421	(E)-Trimenal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,7	0,9	-	-
1431	1430	$\beta$ -Kopaen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr
1435	-	Oktil-2-metilbutanoat	0,1	0,3	0,4	2,1	1,3	1,1	tr	0,1	0,2	0,4	7,5	0,7	0,5	38,3	22,3	20,3	-	11,0
1437	1432	$\alpha$ -trans-Bergamoten	-	0,6	0,1	-	1,8	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1439	-	Oktilizovalerat	0,1	0,2	0,5	1,4	1,3	0,8	0,1	0,1	0,2	tr	3,5	0,5	0,3	8,8	2,6	2,0	0,1	0,5
1459	1452	$\alpha$ -Humulen	-	tr	tr	tr	tr	-	-	tr	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	-	tr
1461	1454	(E)- $\beta$ -Farnezen	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	-	0,2	-	0,2	-	-	-	-	tr
1471	1465	$\gamma$ -Dekalakton	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1486	1484	Germakren D	-	0,3	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	0,4
1488	1486	Feniletil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-
1489	1489	$\beta$ -Selinen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1491	1490	Feniletilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1497	1496	Valencen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-
1498	1500	Biciklogermakren	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	tr
1500	1500	Izodaucen	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1510	1505	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1512	1505	$\beta$ -Bisabolen	tr	2,2	tr	tr	2,3	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	0,2
1518	1513	$\gamma$ -Kadinen	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1521	-	Bornilizovalerat	-	-	-	-	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-
1522	-	Oktil-3-metil-2-butenoat	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	0,3	-	-	1,2	0,7	0,7	-	-
1526	1521	$\beta$ -Seskvifelandren	-	tr	-	tr	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr
1532	1529	Kesan	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-
1559	1555	Elemicin	tr	0,7	0,3	2,7	1,5	tr	-	tr	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1564	1561	( <i>E</i> )-Nerolidol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	tr	0,2	-	-	-	tr	-
1575	1568	( <i>Z</i> )-Izoelemicin	-	1,7	0,2	0,5	1,1	-	-	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1583	-	Oktilheksanoat	8,4	3,8	2,5	1,1	2,7	0,9	15,0	11,3	19,8	7,6	3,5	22,1	30,1	3,2	1,2	0,5	9,7	49,8
1633	1632	$\alpha$ -Akorenol	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1641	1639	Kariofila-4(14),8(15)-dien-5 $\alpha$ -ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1662	1665	Intermedeol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	0,2	-	-
1689	1687	Eudezma-4(15),7-dien-1- $\beta$ -ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr
1777	-	Oktiloktanoat	0,8	0,7	0,8	0,5	1,5	0,2	1,7	3,2	7,2	1,2	1,1	6,7	8,4	1,6	0,2	tr	0,3	13,2
1837	-	Neofitadien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr
1844	-	Heksahidrofarnezilaceton	-	tr	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1878	1874	<i>n</i> -Heksadekanol	-	tr	-	-	-	0,4	-	-	tr	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
1898	1900	<i>n</i> -Nonadekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-
1968	1959	Heksadekanska kiselina	-	tr	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,1	-	-	-	-
2005	2003	Heksadecilacetat	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2030	2033	Izobergapten	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	tr	-	-
2038	2035	( <i>Z</i> )-Falkarinol	-	tr	-	tr	0,5	-	-	-	0,5	-	0,2	tr	0,2	2,0	-	-	-	0,2
2059	2056	Bergapten	tr	tr	-	tr	tr	-	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	-	tr	tr	-	-
2080	2077	<i>n</i> -Oktadekanol	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2095	2100	<i>n</i> -Heneikozan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	tr
2099	-	$\gamma$ -Palmitolakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-	0,4
2112	-	Fitol izomer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	0,5	-	-	-	-
2128	-	Pimpinelin	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	tr	tr	-	-
2206	-	Oktadecilacetat	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2207	-	( <i>Z</i> )-13-Oktadecenilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
2294	2300	<i>n</i> -Trikozan	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	tr
2494	2500	<i>n</i> -Pentakozan	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	tr
2693	2700	<i>n</i> -Heptakozan	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr
2892	2900	<i>n</i> -Nonakozan	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	tr
		Monoterpenski ugljovodonici	0,2	tr	0,2	0,1	2,4	0,2	0,3	1,1	0,5	3,7	0,8	3,5	2,6	tr	tr	0,1	tr	tr
		Oksidovani monoterpenni	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	0,1	0,2	0,4	tr	0,5	0,5	-	-	-	tr	-
		Seskviterpenski ugljovodonici	tr	3,9	0,3	tr	4,4	tr	-	tr	0,1	tr	0,2	tr	1,0	0,7	tr	tr	tr	1,4
		Oksidovani seskviterpeni	0,1	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	0,9	tr	0,2	tr	0,1	0,2	tr	-
		Fenilpropani	tr	3,1	0,9	4,3	2,6	tr	-	0,2	0,2	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
		Poliacetileni	-	tr	-	tr	0,5	-	-	-	0,5	-	0,2	tr	0,2	2,0	-	-	-	0,2

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	ver3	orp	aus
		Alifatični estri	79,5	82,1	73,2	84,0	75,6	75,0	78,2	72,7	75,1	80,9	81,8	78,7	79,9	88,1	88,0	87,0	96,2	84,4
		Alifatični alkoholi	16,7	6,0	21,1	5,4	5,6	17,7	15,9	9,6	7,6	9,7	4,1	3,0	2,9	0,6	1,6	2,5	2,3	5,4
		Ostali	2,0	0,8	1,9	1,9	1,9	2,2	2,6	6,2	4,9	tr	1,0	4,5	1,9	4,7	5,8	5,2	0,9	0,6
		Ukupno	98,5	95,9	97,6	95,7	93,1	95,1	97,1	89,8	89,1	94,7	89,0	90,2	89,2	96,1	95,5	95,0	99,4	92,1
		Ukupno identifikovanih jedinjenja	52	55	54	51	64	48	50	59	65	37	57	78	70	51	38	38	19	41

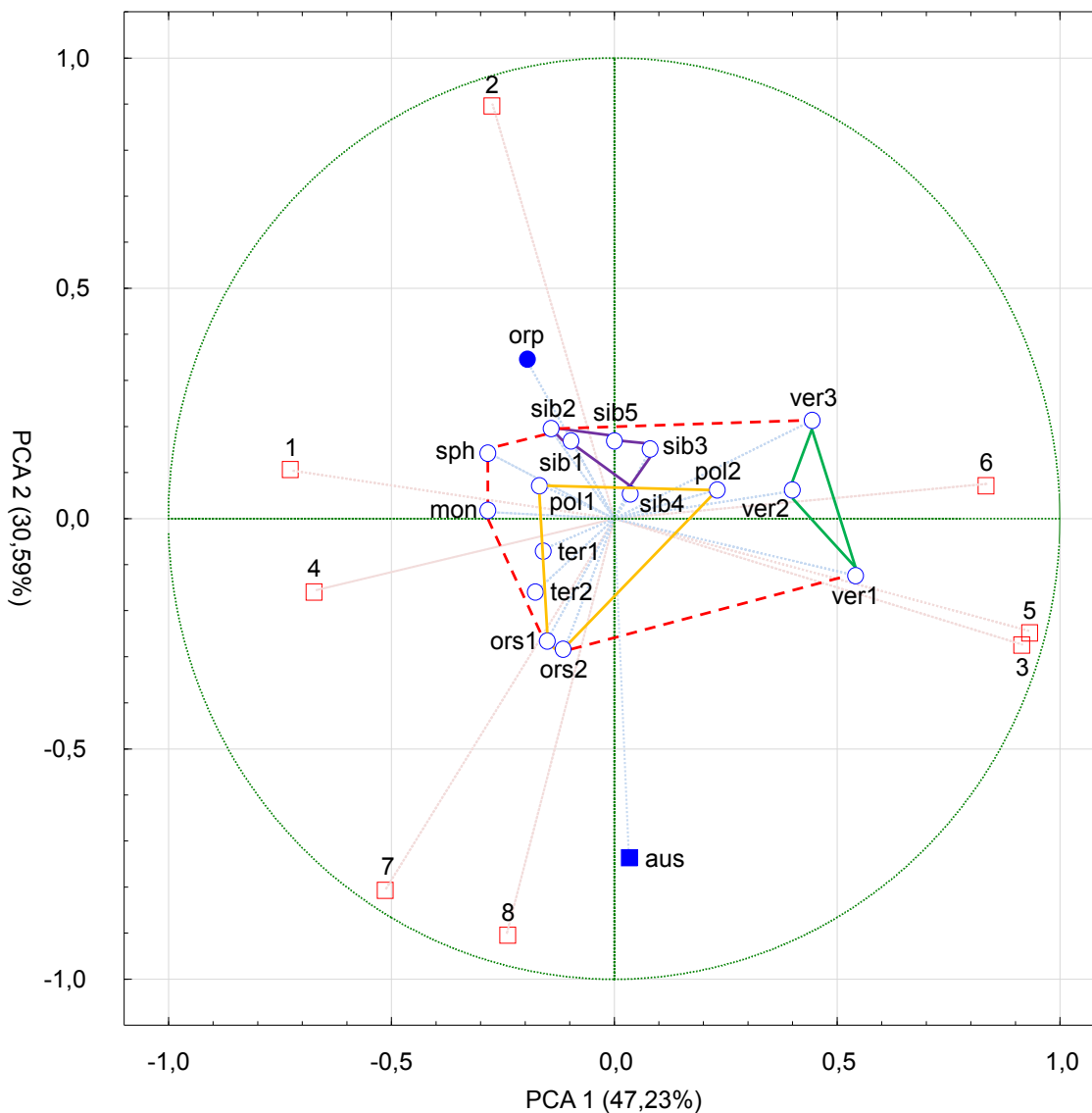
<sup>a</sup> RI<sub>exp</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> *n*-alkane. <sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007).

<sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2011. god., **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2014. god., **sib3** - *H. sibiricum* sakupljen na Žarkovoj čuki, Stara planina, **sib4** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **sib5** - *H. sibiricum* sakupljen na Velikom Jastrebcu, **mon** - *H. montanum*, **ter1** - *H. ternatum* sakupljen 2013. god., **ter2** - *H. ternatum* sakupljen 2014. god., **pol1** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Jablanici, **pol2** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Galičici, **ors1** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sakupljen 2011. god., **ors2** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sakupljen 2013. god., **ver1** - *H. verticillatum* sakupljen na Vražjoj glavi, Stara planina, **ver2** - *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2012. god., **ver3** - *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2013. god., **orp** - *H. orphanidis*, **aus** - *H. austriacum* subsp. *siifolium*.

<sup>d</sup> tr-tragovi (<0,1%). <sup>e</sup> Relativni udeo komponente u etarskom ulju.

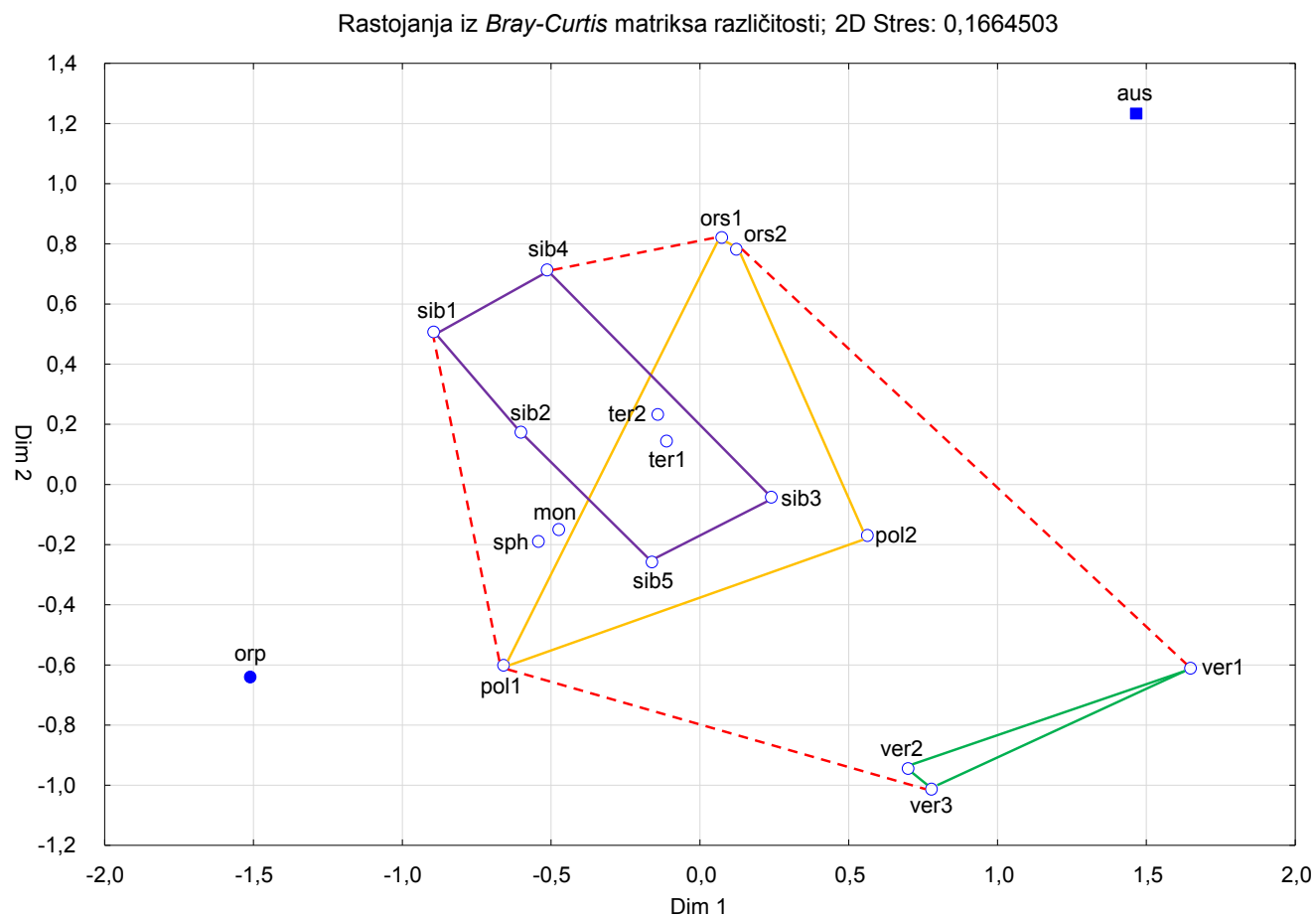
Multivarijantna statistička analiza (PCA, 2D nMDS i UPGMA) sastava etarskih ulja plodova devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* (**Slike 18, 19 i 21**), pokazala je jasno odvajanje *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sekcije *Wendia* od predstavnika sekcije *Heracleum*, kao i grupisanje morfološki bliskih vrsta *H. sphondylium* i *H. montanum*, i izolovane pozicije *H. orphanidis* i *H. verticillatum* u okviru sekcije *Heracleum*. PCA analiza je pokazala da su svi detektovani estri *n*-oktanola (osim oktilbutanoata) imali visoka opterećenja faktora. Razdvajanju po prvoj glavnoj osi (koja objašnjava 47,23% varijacije) najviše su doprineli oktil-2-metilbutanoat i oktilizobutanoat, značajno zastupljeni u ulju plodova svih uzoraka *H. verticillatum*, sa visokim pozitivnim opterećenjima faktora (0,93 i 0,92). Razdvajanju po drugoj glavnoj osi (koja objašnjava 30,59% varijacije) prvenstveno su doprineli oktilacetat, prisutan u velikoj količini u ulju plodova ispitivanih taksona sekcije *Heracleum* (pre svega *H. orphanidis*), sa značajnim pozitivnim opterećenjem faktora (0,90), kao i oktiloktanoat i oktilheksanoat, čije količine su bile osetno veće u ulju plodova *H. austriacum* subsp. *siifolium*, sa visokim negativnim opterećenjima faktora (-0,90 i -0,81). Međutim, iako je postojala ta tendencija, vrste *H. sibiricum*, *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* se nisu potpuno razdvojile. Stoga je prikazan i trodimenzionalni nMDS dijagram (3D nMDS) u kome je vidljivo potpuno razdvajanje svih taksona, kao i izdvajanje ispitivanih vrsta grupe *H. sphondylium* (**Slika 20**).

Alifatični estri bili su dominantni u većini etarskih ulja plodova prethodno ispitivanih taksona roda *Heracleum*, a ustanovljen je i njihov hemosistematski značaj. Naime, etarska ulja plodova vrsta iz sekcije *Pubescentia* (*H. persicum*, *H. gorganicum* i *H. rechingeri*) su sadržala podjednako visoke količine oktilacetata (11,0-44,2%) i heksilbutanoata (12,6-51,2%). Sa druge strane, u etarskim uljima vrsta iz sekcije *Wendia* (*H. rawianum*, *H. pastinacifolium* i *H. anisactis*) i *Villosa* (*H. antasiaticum*) iz Irana utvrđene su manje količine heksilbutanoata (0,03-11,0%), a veće oktilacetata (48,7-93,5%) (Falahati-Anbaran i sar., 2018; Radjabian i sar., 2014). Međutim, *H. austriacum* subsp. *siifolium* jedini predstavnik sekcije *Wendia* ispitivan u okviru ove doktorske disertacije (poreklom iz jugoistočne Evrope, tj. iz Slovenije) je u etarskom ulju plodova sadržao značajno manje (2,9%) oktilacetata (dominantan je bio drugi estar *n*-oktanola, oktilheksanoat), dok heksilbutanoat nije bio ni detektovan.

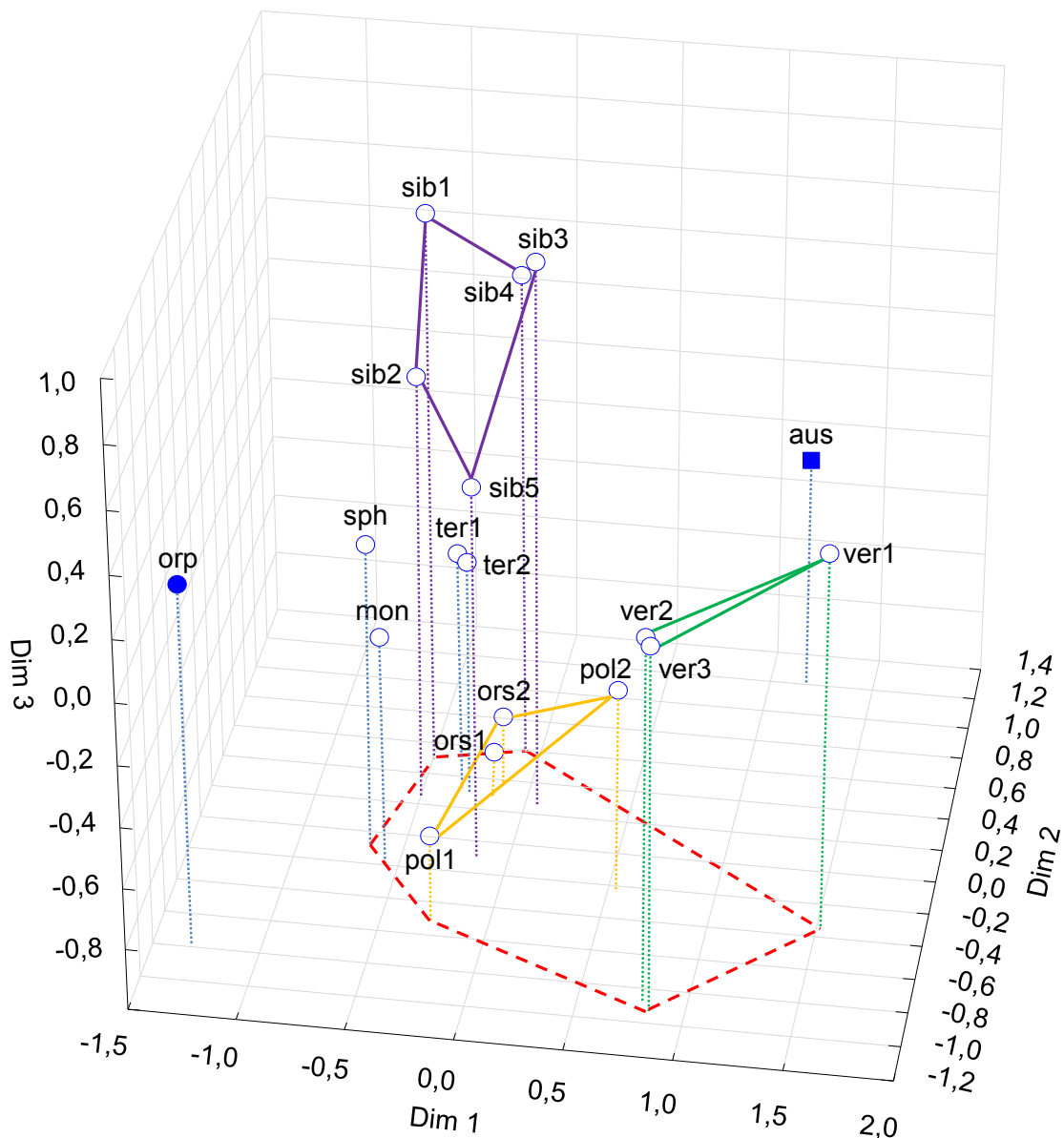


**Slika 18.** PCA analiza etarskih ulja plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 11**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *sifolium*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*, a punom zelenom linijom uzorci *H. verticillatum*. Komponente (prazni kvadrati): *n*-oktanol (1), oktilacetat (2), oktilizobutanoat (3), oktilbutanoat (4), oktil-2-metilbutanoat (5), oktilizovalerat (6), oktilheksanoat (7) i oktiloktanoat (8).



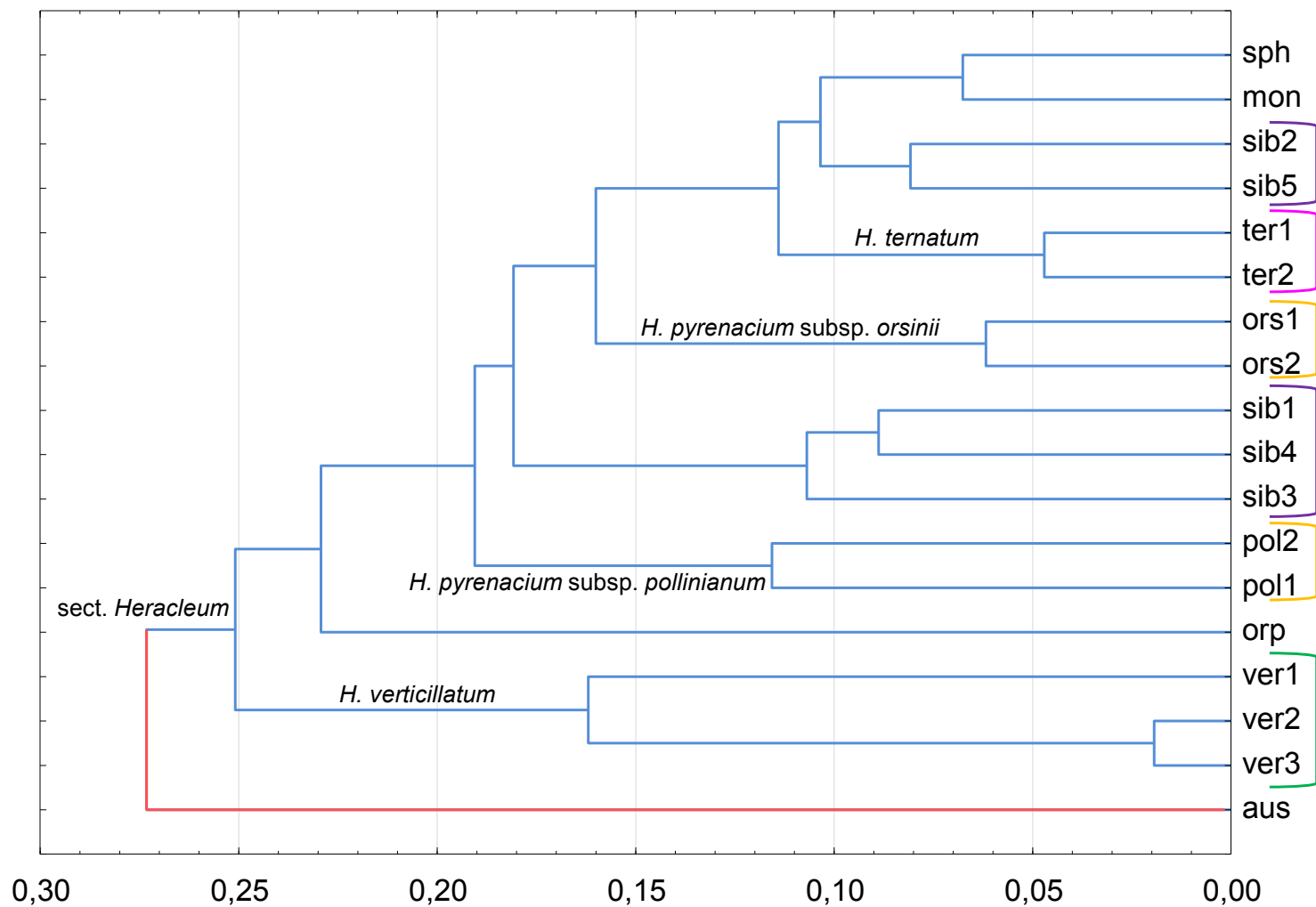


**Slika 19.** 2D nMDS analiza etarskih ulja plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 11**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*, a punom zelenom linijom uzorci *H. verticillatum*.

Rastojanja iz *Bray-Curtis* matriksa različitosti; 3D Stres: 0,0765391

**Slika 20.** 3D nMDS analiza etarskih ulja plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 11**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*, a punom zelenom linijom uzorci *H. verticillatum*.

Unweighted pair-group average; različitosti iz matriksa



Slika 21. UPGMA analiza etarskih ulja plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u Tabeli 11.

#### **1.4. Isparljive komponente plodova ispitivane headspace GC-FID i GC-MS metodom**

Najisparljivije komponente 17 uzoraka plodova devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* analizirane su headspace GC-FID i GC-MS metodom (Tabela 12). Broj komponenti headspace frakcija kretao se od 7 (u slučaju *H. orphanidis*) do 31 (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u Arbinju na Staroj planini), i one su činile od 94,8% (u slučaju *H. sibiricum* iz Arbinja) do 99,8% (u slučaju *H. orphanidis*) ukupne količine ovih frakcija.

Kao i u slučaju etarskih ulja ovih uzoraka plodova, headspace frakcije bile su bogate alifatičnim estrima (47,0-86,7%), prvenstveno oktilacetatom (14,0-85,9%) u slučaju ispitivanih taksona sekcije *Heracleum*, i oktil-2-metilbutanoatom (22,8%) u slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium*, u čijoj headspace frakciji je utvrđeno i prisustvo 48,5% slobodnog *n*-oktanola. Međutim, u headspace frakcijama plodova *H. sibiricum* iz Arbinja, kao i svih uzoraka *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* detektovana je i značajna količina monoterpena (22,7-47,9%), prvenstveno  $\alpha$ -pinena (12,0-33,9%), što je u skladu sa sastavom njihovih etarskih ulja i isparljivošću monoterpenskih komponenti. Naime, iako su sva ispitivana etarska ulja plodova imala generalno nizak sadržaj monoterpena, u etarskim uljima tri navedene vrste on je bio viši (0,7-4,1%) u odnosu na ostala (maksimalno 0,3%). Značajno veći udeo monoterpena u headspace frakcijama u odnosu na sama etarska ulja je i očekivan, s obzirom da monoterpeni spadaju u njihove najisparljivije komponente.

**Tabela 12.** Hemijski sastav *headspace* frakcija plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* (%)

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	orp1	aus
888	880	Izopropil-2-metilbutanoat	1,4 <sup>d</sup>	tr <sup>e</sup>	1,9	7,9	tr	9,2	2,2	2,2	4,3	3,1	-	3,2	4,8	-	tr	-	-
894	-	Izopropilizovalerat	1,0	2,4	tr	10,9	2,8	13,9	2,3	8,2	6,4	3,4	-	10,2	15,3	-	-	-	-
899	900	<i>n</i> -Nonan	1,3	-	1,9	-	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	10,9	10,0	-	-
916	908	Izobutilizobutanoat	-	-	-	-	-	1,7	0,4	0,4	1,1	0,7	tr	2,0	1,2	6,3	5,7	-	-
931	924	$\alpha$ -Tujen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-
940	932	$\alpha$ -Pinen	1,9	0,3	1,0	1,7	12,0	4,5	3,1	23,7	33,9	29,3	15,6	27,3	21,3	tr	tr	0,1	-
955	946	Kamfen	0,4	-	0,1	-	1,9	1,1	0,7	2,5	2,9	2,3	-	4,3	4,7	-	-	-	-
979	969	Sabinen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	tr	tr	-	-	-	-
987	974	$\beta$ -Pinen	tr	-	-	-	1,0	2,3	tr	1,0	2,1	1,3	2,6	2,5	5,7	1,6	1,6	-	-
994	988	Mircen	-	0,4	-	-	3,2	-	-	tr	-	-	0,7	tr	7,1	-	-	-	-
1004	-	Izobutil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	3,1	2,3	2,2	5,0	4,0	3,2	-	1,2	-	-
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	3,9	2,5	8,1	5,9	tr	tr	2,3	-	-	-	-	-	-	12,2	tr	9,9	1,1
1006	-	Izobutilizovalerat	-	tr	tr	tr	tr	8,6	1,9	3,0	2,0	1,6	-	4,0	3,2	-	1,1	-	-
1015	1007	Izoamilizobutanoat	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-
1017	-	2-Metilbutilizobutanoat	-	tr	-	tr	1,2	3,0	0,8	1,6	1,3	1,0	0,8	3,7	2,5	1,8	1,8	-	-
1017	1007	Heksilacetat	0,4	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1028	1020	<i>p</i> -Cimen	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1036	1024	Limonen	0,4	-	0,4	0,7	1,9	0,5	0,5	1,7	2,1	1,7	0,8	3,9	4,1	tr	tr	-	-
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	-	1,0	1,8	6,2	12,2	1,9	-	0,7	tr	0,6	2,1	tr	5,0	-	-	-	-
1044	-	Butil-2-metilbutanoat	tr	-	-	-	-	-	tr	tr	0,2	0,5	tr	1,6	tr	-	-	-	-
1049	-	Butilizovalerat	tr	-	-	-	-	-	tr	-	tr	0,6	-	0,9	tr	-	-	-	-
1052	1044	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	-	-	-	-	2,8	-	-	-	-	-	0,9	-	tr	tr	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	orp1	aus
1072	1063	<i>n</i> -Oktanol	22,1	5,5	17,0	4,4	5,2	11,5	15,8	7,3	4,8	3,9	5,9	0,8	tr	5,2	1,2	3,5	48,5
1082	-	Izobutil-3-metil-2-butenolat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	tr	2,8	1,4	-	-
1092	1086	Terpinolen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-
1100	1100	Izopentil-2-metilbutanoat	-	0,3	0,5	0,7	0,5	0,3	-	tr	tr	0,4	0,3	0,3	tr	-	-	-	-
1104	1100	2-Metilbutil-2-metilbutanoat	-	1,0	1,1	-	1,5	2,7	-	1,2	1,2	tr	1,8	2,4	2,1	tr	tr	-	-
1106	1102	Izopentilizovalerat	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	1,1	tr	-	-	-	-	-	-
1109	1103	2-Metilbutilizovalerat	-	1,5	0,5	1,6	1,4	0,3	1,6	1,2	0,8	1,5	1,5	2,1	2,2	0,5	0,3	-	-
1151	1147	Heksilizobutanoat	tr	0,4	0,5	tr	tr	0,4	tr	0,7	0,4	0,5	0,6	0,4	0,5	0,5	0,6	-	-
1216	1211	Oktilacetat	65,7	77,0	58,4	57,0	45,6	36,1	63,3	36,9	29,4	40,4	52,3	21,5	14,0	47,8	65,2	85,9	2,0
1239	1233	Heksil-2-metilbutanoat	-	0,6	0,8	0,3	-	-	-	tr	tr	-	0,8	0,2	-	-	-	-	tr
1244	1241	Heksilizovalerat	-	1,5	0,8	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	0,6	tr	0,7	-	-	-	-
1289	1287	Bornilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	-
1303	-	Oktilpropanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
1346	-	Oktilizobutanoat	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	tr	tr	2,8	-	-	4,9	5,2	-	11,0
1389	-	Oktilbutanoat	tr	2,0	0,3	tr	0,4	0,2	tr	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	0,1	1,4
1410	1407	Decilacetat	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
1421	1417	( <i>E</i> )-Kariofilen	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1435	-	Oktil-2-metilbutanoat	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	tr	-	0,8	-	-	2,3	3,2	-	22,8
1437	1432	$\alpha$ - <i>trans</i> -Bergamoten	-	-	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1439	-	Oktilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	0,9	tr	-	-
1461	1454	( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnezen	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1486	1484	Germakren D	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1512	1505	$\beta$ -Bisabolen	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	mon	ter1	ter2	pol1	pol2	ors1	ors2	ver1	ver2	orp1	aus
1559	1555	Elemicin	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1575	1568	(Z)-Izoelemicin	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1583	-	Oktilheksanoat	tr	tr	-	-	tr	-	tr	0,2	tr	tr	tr	0,2	0,5	-	-	0,2	9,8
		Monoterpenski ugljovodonici	2,7	1,7	3,2	8,6	35,1	10,3	4,3	29,5	41,1	37,1	22,7	38,0	47,9	1,6	1,6	0,1	-
		Oksidovani monoterpeni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	-
		Seskviterpenski ugljovodonici	-	tr	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
		Oksidovani seskviterpeni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Fenilpropani	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Alifatični estri	68,6	86,7	64,7	78,4	53,4	76,4	73,8	58,6	49,6	57,6	68,0	57,1	50,2	67,7	85,5	86,3	47,0
		Alifatični alkoholi	22,1	5,5	17,0	4,4	5,2	11,5	15,8	7,3	4,8	3,9	5,9	0,8	tr	5,2	1,2	3,5	48,5
		Alifatični aldehidi	3,9	2,5	8,1	5,9	tr	tr	2,3	-	-	-	-	-	-	12,2	tr	9,9	1,1
		Alifatični ugljovodonici	1,3	-	1,9	-	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	10,9	10,0	-	-
		Ukupno	98,6	96,4	94,9	97,3	94,8	98,1	97,2	95,4	95,4	98,6	96,6	95,9	98,0	97,5	98,3	99,8	96,5
		Ukupno identifikovanih jedinjenja	16	19	19	19	31	21	21	21	24	28	24	27	28	17	19	7	8

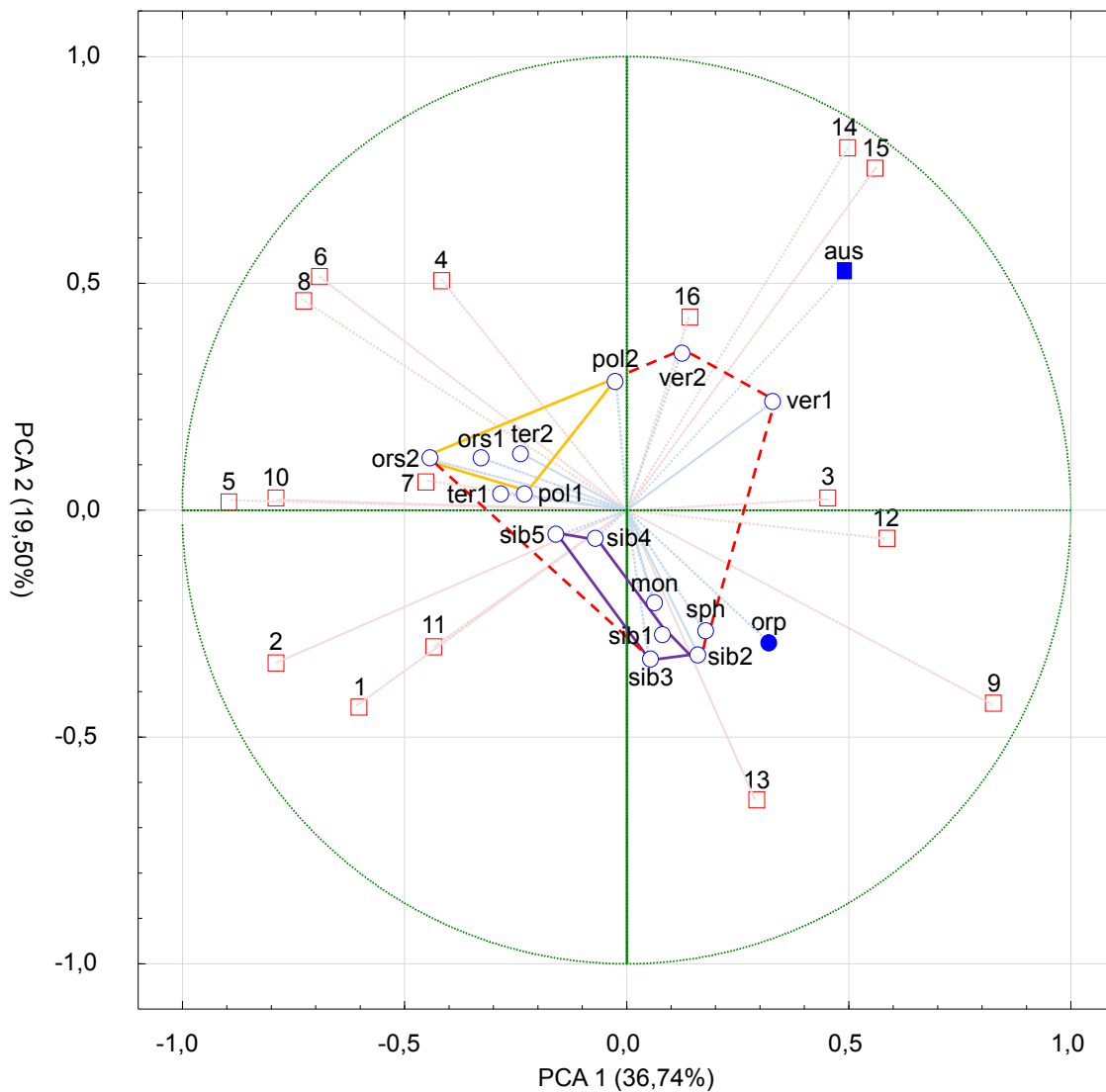
<sup>a</sup> RI<sub>eks</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> n-alkane. <sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007).

<sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2011. god., **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2014. god., **sib3** - *H. sibiricum* sakupljen na Žarkovoj čuki, Stara planina, **sib4** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **sib5** - *H. sibiricum* sakupljen na Velikom Jastrebcu, **mon** - *H. montanum*, **ter1** - *H. ternatum* sakupljen 2013. god., **ter2** - *H. ternatum* sakupljen 2014. god., **pol1** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Jablanici, **pol2** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Galičici, **ors1** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sakupljen 2011. god., **ors2** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sakupljen 2013. god., **ver1** - *H. verticillatum* sakupljen 2012. god., **ver2** - *H. verticillatum* sakupljen 2013. god., **orp** - *H. orphanidis*, **aus** - *H. austriacum* subsp. *siifolium*.

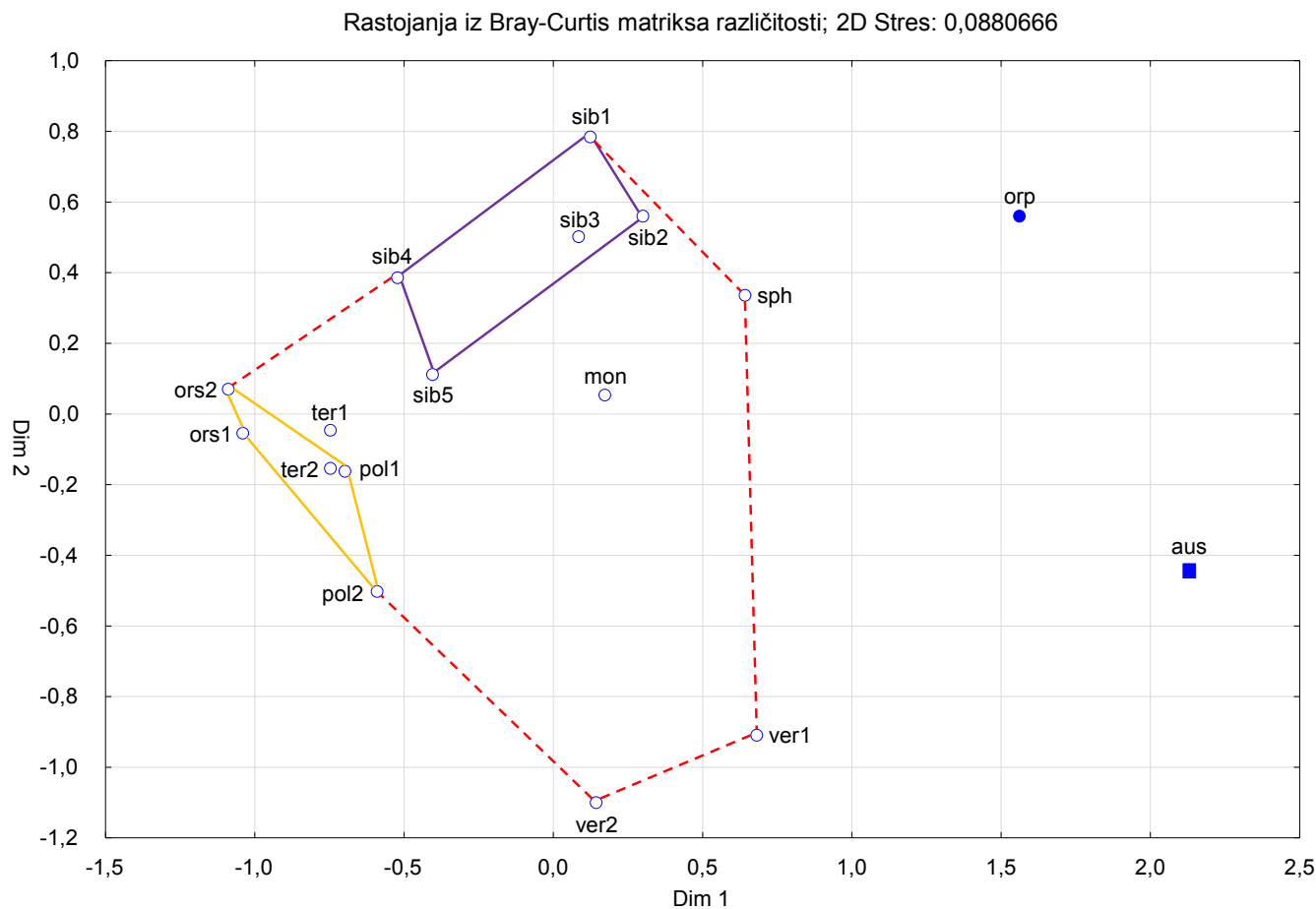
<sup>d</sup> Relativni udeo komponente u etarskom ulju. <sup>e</sup> tr-tragovi (<0,1%).

PCA, 2D nMDS i UPGMA analize sastava *headspace* frakcija plodova (**Slike 22-24**), pokazale su jasno odvajanje *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium* od ispitivanih predstavnika iz grupe *H. sphondylium*. Iako je postojala ta tendencija, vrste *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* se nisu potpuno razdvojile, čak ni u 3D nMDS analizi. PCA analiza sastava *headspace* frakcija plodova je pokazala da su razdvajanju po prvoj glavnoj osi (koja objašnjava 36,74% varijacije) najviše doprineli  $\alpha$ -pinen (-0,89), kao i izopropilizovalerat (-0,79) i izobutilizovalerat (-0,79) sa visokim negativnim opterećenjima faktora, i *n*-oktanal (0,82) sa visokim pozitivnim opterećenjem faktora. Za oba estra izovalerijanske kiseline uglavnom je bilo karakteristično njihovo odsustvo iz *headspace* frakcija plodova *H. verticillatum*, *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium*, a za *n*-oktanal odsustvo iz *headspace* frakcija plodova *H. ternatum* i *H. pyrenaicum*. Sa druge strane,  $\alpha$ -pinen je bio među dominantnim komponentama upravo *headspace* frakcija plodova *H. ternatum* i *H. pyrenaicum*. Razdvajanju po drugoj glavnoj osi (koja objašnjava 19,50% varijacije) pre svih su doprineli oktilizobutanoat i oktil-2-metilbutanoat, značajno zastupljeni u *headspace* frakciji plodova *H. austriacum* subsp. *siifolium*, sa visokim pozitivnim opterećenjima faktora (0,80 i 0,76).



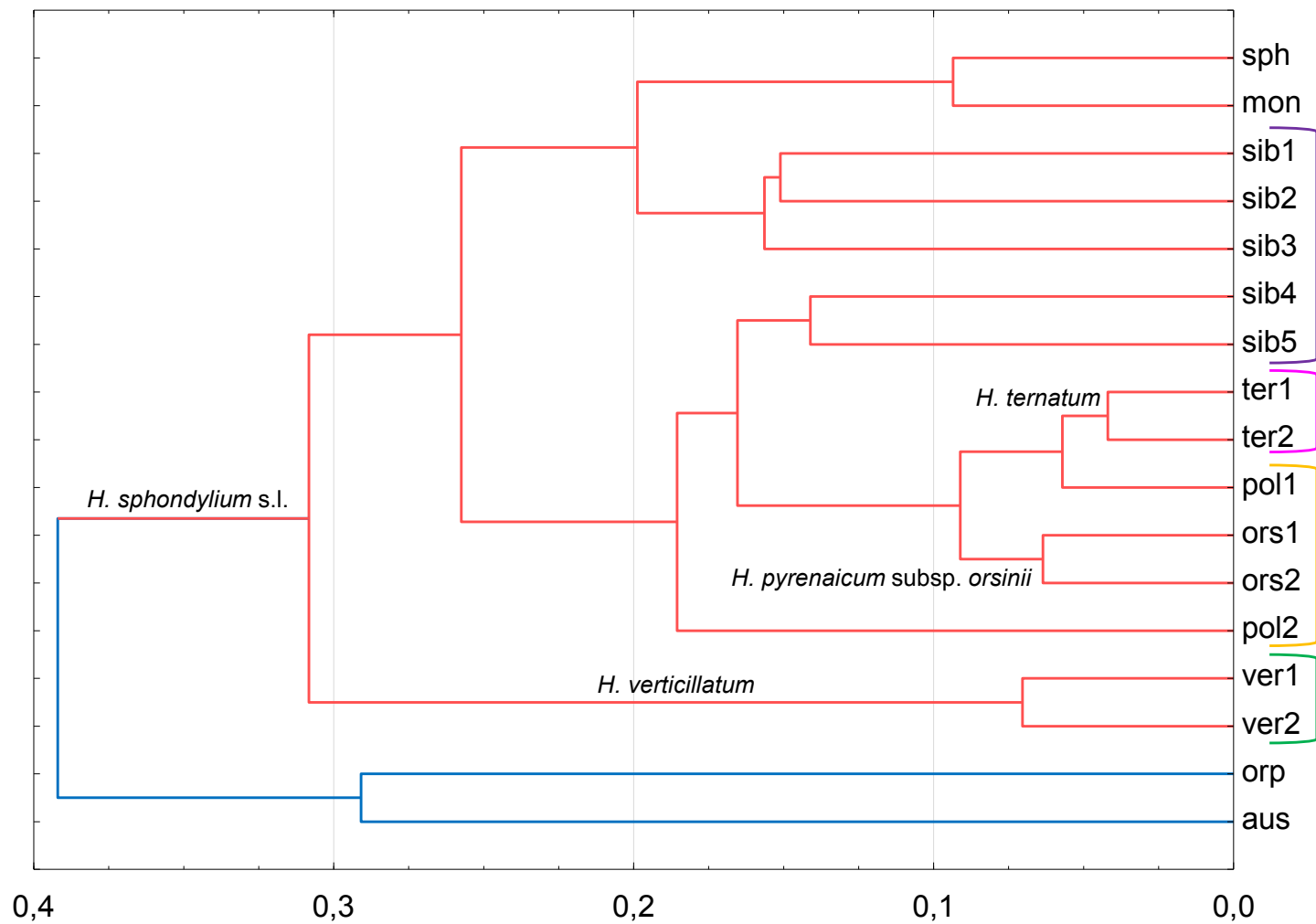


**Slika 22.** PCA analiza *headspace* frakcija plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 12**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, a punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*. Komponente (prazni kvadrati): izopropil-2-metilbutanoat (1), izopropilizovalerat (2), *n*-nonan (3), izobutilizobutanoat (4),  $\alpha$ -pinen (5),  $\beta$ -pinen (6), mircen (7), izobutil-2-metilbutanoat (8), *n*-oktanal (9), izobutilizovalerat (10), (*Z*)- $\beta$ -ocimen (11), *n*-oktanol (12), oktilacetat (13), oktilizobutanoat (14), oktil-2-metilbutanoat (15) i oktilheksanoat (16).



**Slika 23.** 2D nMDS analiza *headspace* frakcija plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 12**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, punom ljubičastom linijom uzorci *H. sibiricum*, punom žutom linijom uzorci *H. pyrenaicum*, a punom zelenom linijom uzorci *H. verticillatum*.

## Unweighted pair-group average; različitosti iz matriksa



Slika 24. UPGMA analiza *headspace* frakcija plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u Tabeli 12.

### 1.5. Etarska ulja listova i cvasti

Etarsko ulje je izolovano iz listova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* i cvasti sedam taksona, dok je u slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium*, zbog malog habitusa biljke i nedovoljno biljnog materijala, etarsko ulje izolovano iz čitavih nadzemnih delova biljke u cvetu.

U etarskim uljima izolovanim iz 16 uzoraka listova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* (**Tabela 13**), broj identifikovanih jedinjenja kretao se od 45 (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u Arbinju na Staroj planini) do 92 (u slučaju *H. montanum*), i ona su činila od 77,4% (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u Arbinju) do 99,5% (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog na Žarkovoj čuki na Staroj planini) ukupne količine ulja.

Etarska ulja listova ispitivanih taksona sadržala su značajne količine seskviterpena (31,1-62,3%) i fenilpropana (18,4-62,8%) u slučaju listova *H. sibiricum* (osim uzoraka sakupljenih u Arbinju i Jelašničkoj klisuri, kao i na Velikom Jastrebcu) i *H. ternatum*, ili seskviterpena (34,2-66,4%) i monoterpena (18,0-31,0%) u slučaju *H. pyrenaicum*, *H. montanum* i *H. verticillatum*, ili su se prvenstveno sastojala od seskviterpena (64,6-81,2%) u slučaju ostalih uzoraka ispitivanih taksona grupe *H. sphondylium*. Među dominantnim seskviterpenima nalazili su se (*E*)-kariofilen u etarskim uljima listova *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2014. god. (9,5%) i *H. verticillatum* (19,1%),  $\alpha$ -trans-bergamoten u ulju *H. sibiricum* iz Jelašničke klisure (33,7%), (*E*)- $\beta$ -farnezen u ulju *H. montanum* (18,4%), germakren D u uljima *H. sphondylium* (11,0%), *H. sibiricum* sa Velikog Jastrebcu (14,6%) i Žarkove čuke (17,8%) i oba uzorka *H. ternatum* (9,4 i 20,7%),  $\beta$ -bisabolen u uljima uzoraka *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2011. god. (15,5%) i Arbinja (31,5%),  $\beta$ -seskvifelandren u uljima uzoraka *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2012. god. (8,7%) i sa Suve planine (16,7%), i (*E*)-nerolidol u uljima *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (28,5%) i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (20,5%). Među fenilpropanima dominantni su bili (*Z*)-izoelemicin u etarskim uljima oba uzorka listova *H. ternatum* (19,3 i 35,1%) i *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2014. god. (16,6%), elemicin u ulju *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2011. god. (22,6%) i metileugenol u uljima *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2012. god. (57,0%), sa Žarkove čuke (27,9%) i Suve planine (18,4%). U slučaju monoterpena, treba istaći prisustvo značajne količine limonena u etarskom ulju listova *H. verticillatum* (20,3%). Za razliku od etarskih ulja

listova predstavnika grupe *H. sphondylium*, ulje listova *H. orphanidis* se dominantno sastojalo od alifatičnih estara (85,1%), prvenstveno oktilacetata (83,5%).

U etarskim uljima izolovanim iz osam uzoraka cvasti sedam ispitivanih taksona roda *Heracleum* (**Tabela 14**), broj identifikovanih jedinjenja se kretao od 45 (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u Arbinju na Staroj planini) do 113 (u slučaju *H. montanum*), i ona su činila od 93,8% (u slučaju *H. sphondylium*) do 98,9% (u slučaju *H. sibiricum* sakupljenog u okolini Niša) ukupne količine ulja.

Analizirana etarska ulja cvasti i listova ispitivanih taksona sa istih lokaliteta bila su kvalitativno vrlo slična uz manje ili veće kvantitativne razlike. Dominantne komponente etarskih ulja cvasti *H. sibiricum*, *H. ternatum* i *H. sphondylium* su bili seskviterpeni (14,9-48,3%) i fenilpropani (16,8-66,0%), ulja *H. montanum* i *H. pyrenaicum* seskviterpeni (33,7-51,0%) i monoterpeni (16,9-35,1%), a ulja *H. orphanidis* alifatični estri (77,7%). U etarskom ulju cvasti *H. sphondylium* dominantan je bio apiol (16,8%), u uljima *H. sibiricum* i *H. ternatum* metileugenol (19,3-22,9%), (*Z*)-izoelemicin (18,5-25,4%) i elemicin (6,7-22,7%), u ulju *H. montanum* (*E*)- $\beta$ -farnezen (11,4%), u ulju *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (*E*)-nerolidol (30,2%), u ulju *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (*E*)-kariofilen (11,6%), a u ulju *H. orphanidis* oktilacetat (51,0%).

Etarsko ulje nadzemnih delova u cvetu (herbe) *H. austriacum* subsp. *siifolium* bilo je bogato seskviterpenima (55,8%), prvenstveno (*E*)-kariofilenom (31,0%) (radi poređenja i sa etarskim uljima listova i sa uljima cvasti analiziranih taksona, sastav ovog etarskog ulja prikazan je i u **Tabeli 13** i u **Tabeli 14**).

**Tabela 13.** Hemijski sastav etarskih ulja listova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* i nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium* (%)

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
865	-	2-Metiloktan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
875	863	<i>n</i> -Heksanol	tr <sup>d</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
899	900	<i>n</i> -Nonan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	-
902	-	4-Nonen+3-nonen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5 <sup>e</sup>	-	-
904	901	Heptanal	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr
916	908	Izobutilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
916	-	2-Nonen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
931	924	$\alpha$ -Tujen	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,4	tr	tr	-	tr	-	-	-
940	932	$\alpha$ -Pinen	1,4	tr	tr	tr	tr	0,4	0,3	tr	0,1	1,7	0,8	0,2	1,1	3,4	0,2	0,1	tr
955	946	Kamfen	0,3	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	0,1	tr	0,2	0,6	-	-	-
961	953	Tuja-2,4(10)-dien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
966	952	Benzaldehid	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-
973	959	<i>n</i> -Heptanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
979	969	Sabinen	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	6,2	tr	tr	tr	0,3	0,4	-	tr
987	974	$\beta$ -Pinen	tr	tr	-	tr	0,2	0,3	0,3	tr	0,1	2,1	0,3	0,1	4,7	5,5	5,7	tr	-
990	981	6-Metil-5-hepten-2-on	0,5	-	tr	tr	-	-	tr	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	tr
994	988	Mircen	1,5	tr	tr	tr	0,1	0,1	0,3	-	tr	4,7	0,6	0,2	1,0	1,7	0,6	-	0,5
995	984	2-Pentilfuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
995	988	Dehidro-1,8-cineol	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	0,2	-	-	-	-
1004	-	Izobutil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	0,3	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	0,2	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	0,5	tr	tr
1006	-	Izobutilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,5	0,2	0,1	-	-
1015	1007	Izoamilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
1017	-	2-Metilbutilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	0,2	tr	-	-
1021	1014	$\alpha$ -Terpinen	tr	tr	-	tr	tr	-	tr	-	tr	0,4	-	-	-	-	-	-	-
1028	1020	<i>p</i> -Cimen	tr	0,2	tr	0,2	0,1	0,6	1,7	0,1	0,5	0,3	0,1	tr	0,2	1,2	tr	tr	tr
1036	1024	Limonen	2,8	tr	tr	0,1	0,4	1,5	2,6	tr	0,4	2,7	0,4	0,2	1,4	2,4	20,3	tr	tr
1036	1025	$\beta$ -Felandren	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	0,9	tr	0,5	0,3	1,3	0,5	2,9	tr	0,4	2,6	0,4	0,5	2,8	1,0	1,5	tr	0,4
1044	-	Butil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1049	-	Butilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1052	1044	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	1,3	tr	0,3	tr	0,5	tr	1,3	tr	tr	2,8	0,2	0,1	3,2	0,3	1,7	tr	0,9
1062	1049	( <i>2E</i> )-Okten-1-al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1063	1054	$\gamma$ -Terpinen	tr	0,3	0,2	0,3	0,5	0,6	2,2	tr	2,1	1,1	0,2	tr	tr	0,4	-	tr	-
1066	-	2-Metildekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1072	1063	<i>n</i> -Oktanol	tr	tr	-	-	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	tr	tr	4,7	1,4
1082	-	Izobutil-3-metil-2-butenoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1092	1086	Terpinolen	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	0,4	tr	tr
1093	1087	2-Nonanon	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1094	-	( <i>E</i> )-4-Undecen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1100	1098	<i>trans</i> -Sabinenhidrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-
1100	1100	<i>n</i> -Undekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1103	1095	Linalol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1103	1100	Izopentil-2-metilbutanoat	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,8	0,4	-	-	-
1104	1100	2-Metilbutil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	0,2	-	tr	tr	tr	0,1	3,0	1,4	-	-	-
1106	1100	<i>n</i> -Nonanal	tr	tr	tr	-	tr	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	0,5	0,4	0,5
1106	1102	Izopentilizovalerat	-	tr	-	-	0,1	-	tr	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-
1109	1103	2-Metilbutilizovalerat	-	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	0,1	2,0	1,2	1,1	-	-
1120	-	( <i>E</i> )-4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
1124	1118	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,5	0,3	-	-	-
1130	1122	$\alpha$ -Kamfolenal	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-
1131	1128	<i>allo</i> -Ocimen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-
1134	1128	( <i>Z</i> )-Epoksi-ocimen	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-
1141	1137	<i>trans</i> -Limonenoksid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
1142	1135	Nopinon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1143	1136	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,2	0,2	-	-	-
1150	-	4,8-Epoksi- <i>p</i> -ment-1-en	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1150	1140	<i>trans</i> -Verbenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-
1151	1147	Heksilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr
1160	1160	( <i>Z</i> )-Izocitral	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1163	1157	( <i>2E</i> )-Nonen-1-al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
1167	1160	Pinokarvon	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	tr	tr	-	tr	tr	-	-
1170	1165	Lavandulol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1170	1165	Borneol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1176	1168	2-Metoksi-3-(1-metilpropil)piazin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1181	-	1,8-Mentadien-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-



RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1181	1174	Terpinen-4-ol	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	2,5	tr	tr	-	tr	-	-	-
1186	-	1-Metilbutil-3-metil-2-butenolat	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	tr	0,4	-	-
1188	1179	<i>p</i> -Cimen-8-ol	-	tr	tr	-	tr	-	tr	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-
1193	1186	$\alpha$ -Terpineol	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr
1198	1194	Mirtenol	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1200	1195	Mirtenal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	tr	-	-
1200	1195	Metilhavikol	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	3,2	1,1	-	-	-
1205	1197	2-Metil-4-metilpentilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-
1206	1201	<i>n</i> -Dekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1216	1211	Oktilacetat	-	tr	tr	-	-	-	-	tr	-	-	tr	-	0,5	-	tr	83,5	0,8
1221	1215	<i>trans</i> -Karveol	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1239	1233	Heksil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr
1244	1241	Heksilizovalerat	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-
1249	1239	Karvon	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1260	1255	(4 <i>Z</i> )-Decen-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1264	1260	(2 <i>E</i> )-Decenal	tr	tr	tr	-	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr
1274	1266	<i>n</i> -Dekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1287	1282	( <i>E</i> )-Anetol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-
1289	1287	Bornilacetat	tr	tr	-	-	tr	0,2	tr	tr	-	0,2	tr	0,1	1,5	1,0	-	tr	-
1290	1288	Lavadulilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1293	1289	<i>trans</i> -Sabinilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1293	1292	(2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> )-Dekadienal	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr
1298	1300	<i>n</i> -Tridekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1302	1298	Karvakrol	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1303	-	Oktilpropanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1307	1305	Undekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	tr
1311	1311	Nonanilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1316	1315	(2E,4E)-Dekadienal	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	-	tr	tr
1346	-	Oktilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	tr	-	-	0,8
1351	1345	$\alpha$ -Kubeben	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-
1353	1346	$\alpha$ -Terpinilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
1362	1356	Eugenol	-	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,2	-	tr	tr	-	-	-	-	-
1376	1373	$\alpha$ -Ilangen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1378	1374	$\alpha$ -Kopaen	0,7	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	0,1	1,1	0,3	0,1	0,1	-	-	-	-	tr
1381	1380	Daucen	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-
1391	1387	$\beta$ -Kubeben	tr	-	-	0,2	-	-	tr	tr	0,2	tr	0,1	-	-	-	-	-	-
1387	1387	$\beta$ -Burbonen	0,4	0,9	0,4	0,2	0,1	tr	0,4	0,9	0,5	0,5	0,4	0,4	0,9	0,2	-	0,2	1,1
1389	-	Oktilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	1,2
1394	1389	$\beta$ -Elemen	4,2	7,2	2,5	2,6	1,2	1,2	3,5	8,9	1,1	4,5	1,0	1,5	2,0	3,0	-	0,3	tr
1397	1393	Feniletilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	tr	-	-	-
1404	-	(Z)-6-Decenilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
1404	1403	Metileugenol	-	21,1	57,0	14,1	27,9	4,7	18,4	0,6	7,7	tr	10,7	8,5	tr	tr	-	-	-
1410	1407	Decilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	0,5	-
1411	1408	Dodekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,6	tr
1411	1409	$\alpha$ -Gurjunen	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1416	1411	$\alpha$ -cis-Bergamoten	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1417	-	Bornilizobutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	0,3	0,7	-	-	-
1421	1417	(E)-Kariofilen	2,8	3,3	2,1	9,5	4,8	1,5	1,5	3,2	11,3	12,4	8,5	12,0	2,9	17,0	19,1	2,6	31,0
1431	1430	$\beta$ -Kopaen	tr	-	-	tr	-	-	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	tr	-	-	-	tr
1435	-	Oktil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	2,0
1437	1432	$\alpha$ -trans-Bergamoten	3,3	2,8	3,6	8,1	tr	-	0,2	0,2	33,7	tr	-	tr	-	tr	tr	-	-
1439	-	Oktilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	tr	tr
1459	1452	$\alpha$ -Humulen	tr	1,7	2,7	2,8	1,3	0,2	0,4	0,7	3,3	1,7	1,5	1,7	0,1	2,1	1,4	0,2	2,3
1461	1454	(E)- $\beta$ -Farnezen	6,3	tr	tr	tr	0,1	tr	0,3	0,6	-	18,4	0,8	0,2	6,4	-	-	-	1,0
1463	1464	$\alpha$ -Akoradien	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	tr	0,3	-	-	-	-	-
1466	1461	cis-Kadina-1(6),4-dien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	-
1480	1478	$\gamma$ -Murolen	-	-	-	0,2	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr
1483	1479	ar-Kurkumen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
1486	1484	Germakren D	11,0	8,8	5,3	5,6	17,8	4,7	5,3	14,6	7,1	8,7	9,4	20,7	10,8	2,5	-	0,4	6,6
1488	1486	Feniletil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	tr	-	1,3	0,9	-	-	-
1488	1487	(E)- $\beta$ -Jonon	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	0,2	0,2	tr
1489	1489	$\beta$ -Selinen	tr	0,3	tr	0,2	tr	-	-	0,6	tr	0,2	tr	0,1	-	-	tr	-	-
1491	1490	Feniletilizovalerat	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	tr	1,3	0,5	-	-	-
1493	1491	10,11-Epoksi-kalamenen	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1495	1495	2-Tridekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-
1498	1493	$\alpha$ -Zingiberen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,1	tr	tr	-	-	-	-	-
1498	1498	$\alpha$ -Selinen	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1498	1500	Biciklogermakren	4,1	0,5	tr	0,8	2,5	0,7	1,2	0,6	0,6	tr	1,3	3,5	0,9	1,9	0,8	-	tr
1500	1500	Izodaucen	tr	tr	0,2	0,3	1,6	-	0,5	-	0,7	tr	1,4	-	0,8	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1510	1505	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	2,7	tr	tr	-	tr	1,1	4,8	6,2	1,6	4,9	-	-	-	-	-	-	-
1512	1505	$\beta$ -Bisabolen	4,3	15,5	3,5	3,9	2,6	31,5	4,8	8,5	1,0	tr	1,5	2,1	4,8	3,2	0,2	tr	2,6
1518	1513	$\gamma$ -Kadinen	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-
1518	1514	( <i>Z</i> )- $\gamma$ -Bisabolen	6,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1521	-	Bornilizovalerat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	0,2	0,5	-	-	-
1524	1517	Miristicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1526	1511	$\delta$ -Amorfen	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1526	1521	$\beta$ -Seskvifelandren	10,6	tr	8,7	1,9	0,4	1,3	16,7	-	5,6	2,0	2,0	8,0	-	0,3	-	-	0,9
1532	1529	Kesan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	0,3	tr	-	-	-
1535	1529	( <i>E</i> )- $\gamma$ -Bisabolen	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	0,1	-	tr	-	-	-
1545	1545	Selina-3,7(11)-dien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,8	-	tr	-	-	-
1545	-	( <i>E</i> )- $\alpha$ -Bisabolen	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1559	1555	Elemicin	-	22,6	2,2	14,9	tr	-	-	-	2,4	0,9	12,6	tr	-	-	tr	-	-
1560	1559	Germakren B	tr	tr	tr	-	5,7	9,3	3,6	1,6	-	-	-	6,3	-	1,5	-	-	-
1564	1561	( <i>E</i> )-Nerolidol	0,5	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,3	-	-	28,5	20,5	-	0,3	0,6
1572	-	1,5-Epoksisalvial-4(14)-en	-	-	-	-	-	-	0,2	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1575	1568	( <i>Z</i> )-Izoelemicin	-	5,2	3,6	16,6	27,3	tr	tr	tr	0,1	-	35,1	19,3	-	0,1	-	-	-
1580	1577	Spatulenol	2,3	tr	-	-	-	4,6	2,6	3,6	0,5	0,7	-	-	0,8	4,8	1,8	tr	-
1583	-	Oktilheksanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	7,8
1590	1582	Kariofilenoksid	2,9	1,1	1,9	4,9	-	5,2	2,0	5,0	4,4	3,2	3,7	3,0	0,5	6,5	5,4	0,3	6,9
1596	1594	Salvial-4(14)-en-1-on	0,3	-	-	tr	-	0,6	tr	0,3	tr	tr	0,1	0,2	-	-	-	-	-
1600	1595	6-Metoksielemicin	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1614	1608	Humulenepoksid II	1,6	-	0,2	0,9	-	1,5	0,5	0,8	0,5	0,2	0,7	0,5	-	-	0,4	-	0,3

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1633	1632	$\alpha$ -Akorenol	3,1	-	-	0,4	-	-	0,4	0,9	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
1635	1639	Kariofila-4(14),8(15)-dien-5 $\beta$ -ol	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	0,3	0,8	-	tr
1640	1636	Gosonorol	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1641	1639	Kariofila-4(14),8(15)-dien-5 $\alpha$ -ol	-	-	tr	0,1	-	-	-	tr	0,2	0,3	-	-	-	1,1	1,8	-	1,0
1648	-	Izospatulanol	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1651	-	Kariofila-3,8(13)-dien- $\alpha$ -ol	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1657	1658	<i>neo</i> -Intermedeol	0,9	-	-	-	-	-	0,5	0,7	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-
1658	1652	$\alpha$ -Kadinol	-	-	tr	0,5	0,2	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1659	1666	14-Hidroksi-( <i>Z</i> )-kariofilen	-	-	-	-	-	-	0,3	0,6	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
1662	1665	Intermedeol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-
1662	1660	<i>cis</i> -Kalamenen-10-ol	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1671	1668	<i>trans</i> -Kalamenen-10-ol	0,4	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1672	1668	14-Hidroksi-9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-kariofilen	1,0	-	-	-	-	-	-	0,2	0,4	0,2	-	-	-	-	0,8	-	-
1674	1674	$\beta$ -Bisabolol	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-
1684	1685	$\alpha$ -Bisabolol	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-
1685	1677	Apiol	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1689	1685	Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- $\alpha$ -ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	0,9	-	0,5	-	-	-
1689	1687	Eudezma-4(15),7-dien-1- $\beta$ -ol	2,1	0,9	tr	0,1	0,2	1,3	0,5	2,0	0,5	0,9	-	-	0,9	-	-	-	0,9
1706	1690	( <i>Z</i> )- $\alpha$ - <i>trans</i> -Bergamotol	-	-	-	-	-	-	1,1	2,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
1710	1700	Amorfa-4,9-dien-2-ol	0,4	-	-	tr	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
1722	1722	(2 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-Farnesol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
1725	-	Eudezma-4,11-dien-2-ol	0,8	-	-	-	-	-	1,1	2,0	0,2	0,5	-	-	-	-	-	-	-
1747	1714	Notkatol	0,4	-	tr	tr	-	-	0,4	0,7	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
1759	1755	7,14-Anhidro-amorfa-4,9-dien	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1768	1775	2- $\alpha$ -Hidroksi-amorfa-4,7(11)-dien	tr	-	-	0,3	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1770	1766	$\gamma$ -Kurkumen-15-al	-	-	-	-	-	-	0,7	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1777	-	Oktiloktanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	1,3
1837	-	Neofitadien	0,6	tr	0,2	0,1	0,4	0,3	0,2	tr	0,1	0,4	0,3	0,4	-	0,3	2,7	0,2	1,7
1844	-	Heksahidrofarnezilacetone	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	0,8	0,8	0,2	0,1	0,2	-	0,3	0,9	0,3	0,4
1878	1874	<i>n</i> -Heksadekanol	-	tr	-	-	0,2	-	-	3,0	-	-	-	-	tr	-	0,6	tr	-
1917	1913	(5 <i>E</i> ,9 <i>E</i> )-Farnezilacetone	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1968	1959	Heksadekanska kiselina	0,4	0,6	-	1,5	-	0,8	0,4	2,4	1,2	-	-	-	-	0,5	1,6	-	1,1
2030	2033	Izobergapten	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
2038	2035	( <i>Z</i> )-Falkarinol	-	0,7	-	tr	tr	0,3	tr	-	-	-	-	0,1	-	-	5,1	tr	0,5
2059	2056	Bergapten	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-
2076	-	( <i>Z</i> )-9-Oktadecen-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	tr	-
2080	2077	<i>n</i> -Oktadekanol	0,3	tr	0,1	-	0,5	-	-	9,1	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-
2095	2100	<i>n</i> -Heneikozan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
2099	-	$\gamma$ -Palmitolakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	-	0,3	8,9	-	4,0
2112	-	Fitol izomer	0,8	1,5	1,0	2,0	1,4	1,6	0,5	2,4	2,6	1,1	0,1	1,1	0,6	0,6	2,1	1,2	1,1
2127	2115	7-Izopreniloksikumarin	-	-	tr	-	-	-	0,4	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-
2128	-	Pimpinelin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-
2137	2095	Metillinoleat	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2141	2140	Ostol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,6	-	-
2194	2200	<i>n</i> -Dokozan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr
2207	-	( <i>Z</i> )-13-Oktadecenilacetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	sib3	sib4	sib5	sib6	sib7	sib8	mon	ter1	ter2	pol	ors	ver	orp	aus
2282	-	<i>n</i> -Eikozanol	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2294	2300	<i>n</i> -Trikozan	tr	-	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	0,5
2394	2400	<i>n</i> -Tetrakozan	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	tr	-	-	-	tr
2485	-	<i>n</i> -Trikozanol	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
2494	2500	<i>n</i> -Pentakozan	tr	-	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	0,2	-	1,4
2693	2700	<i>n</i> -Heptakozan	tr	-	tr	tr	-	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	tr	0,2	0,9	0,1	1,6
2892	2900	<i>n</i> -Nonakozan	tr	-	-	0,1	-	0,3	tr	0,2	0,2	tr	tr	0,3	-	0,2	0,5	0,1	0,9
		Monoterpenski ugljovodonici	8,2	0,5	1,0	0,9	3,2	4,1	11,8	0,1	3,7	25,7	3,1	1,3	14,8	16,8	30,9	0,1	1,8
		Oksidovani monoterpeni	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	3,4	tr	0,1	3,2	3,5	0,1	tr	tr
		Seskviterpenski ugljovodonici	58,3	41,0	29,0	36,6	38,1	51,5	43,1	47,6	68,2	58,4	28,2	57,7	29,6	31,8	21,7	3,7	45,4
		Oksidovani seskviterpeni	22,9	2,0	2,1	7,6	0,4	13,1	10,8	19,9	7,1	8,0	6,2	4,5	31,0	33,6	12,5	0,6	10,5
		Fenilpropani	-	48,9	62,8	46,2	55,2	4,7	18,4	0,6	10,4	1,0	58,4	27,8	3,2	1,2	tr	-	-
		Poliacetileni	-	0,7	-	tr	tr	0,3	tr	-	-	-	-	0,1	-	-	5,1	tr	0,5
		Alifatični estri	-	tr	tr	-	0,1	tr	0,2	tr	tr	0,1	tr	0,2	9,4	3,6	1,6	85,1	14,0
		Masne kiseline i njihovi derivati	0,4	0,6	-	1,5	-	0,8	0,4	2,4	1,2	-	tr	0,2	-	0,8	10,5	-	5,1
		Ostali	2,4	1,8	1,3	2,3	2,5	2,6	1,4	16,7	3,7	1,7	0,5	2,4	4,3	2,9	12,9	8,7	9,6
		Ukupno	92,2	95,5	96,2	95,1	99,5	77,4	86,0	87,4	94,4	98,3	96,4	94,4	95,5	94,2	95,3	98,2	86,8
		Ukupno identifikovanih jedinjenja	82	62	55	64	59	45	76	73	64	92	65	70	72	89	66	50	64

<sup>a</sup> RI<sub>eks</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> *n*-alkane. <sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007). <sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2011. god., **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2012. god., **sib3** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2014. god., **sib4** - *H. sibiricum* sakupljen na Žarkovoj čuki, Stara planina, **sib5** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **sib6** - *H. sibiricum* sakupljen na Suvoj planini, **sib7** - *H. sibiricum* sakupljen na Velikom Jastrebcu, **sib8** - *H. sibiricum* sakupljen u Jelašničkoj klisuri, **mon** - *H. montanum*, **ter1** - *H. ternatum* sakupljen 2013. god., **ter2** - *H. ternatum* sakupljen 2014. god., **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*, **orp** - *H. orphanidis*, **aus** - *H. austriacum* subsp. *stifolium*. <sup>d</sup> tr-tragovi (<0,1%). <sup>e</sup> Relativni udeo komponente u etarskom ulju.

**Tabela 14.** Hemijski sastav etarskih ulja cvasti sedam ispitivanih taksona roda *Heracleum* i nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium* (%)

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
865	-	2-Metiloktan	-	-	-	-	-	-	3,0 <sup>d</sup>	-	-
875	863	<i>n</i> -Heksanol	tr <sup>e</sup>	-	-	tr	-	-	-	-	-
888	880	Izopropil-2-metil butanoat	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
894	-	Izopropilizovalerat	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
899	900	<i>n</i> -Nonan	-	-	-	tr	tr	-	tr	-	-
904	901	Heptanal	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr
916	908	Izobutilizobutanoat	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-
931	924	$\alpha$ -Tujen	-	tr	tr	tr	tr	-	tr	-	-
940	932	$\alpha$ -Pinen	0,6	tr	0,3	3,1	1,0	1,2	tr	0,2	tr
955	946	Kamfen	tr	tr	tr	0,5	0,1	tr	0,5	tr	-
961	953	Tuja-2,4(10)-dien	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
966	952	Benzaldehid	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
979	969	Sabinen	tr	tr	tr	8,0	tr	tr	tr	-	tr
987	974	$\beta$ -Pinen	tr	tr	0,1	0,8	0,2	2,0	2,6	tr	-
990	981	6-Metil-5-hepten-2-on	tr	-	-	tr	tr	tr	-	-	tr
994	988	Mircen	2,2	0,6	1,2	5,1	3,4	5,3	4,1	0,4	0,5
995	988	Dehidro-1,8-cineol	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1004	-	Izobutil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	0,4	1,3	-	-
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	1,4	0,3	0,2	1,0	0,3	-	tr	0,4	tr
1006	-	Izobutilizovalerat	-	-	-	-	tr	0,4	0,3	-	-



RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1015	1007	Izoamilizobutanoat	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-
1017	-	2-Metilbutilizobutanoat	-	-	-	-	tr	0,2	0,3	-	-
1021	1014	$\alpha$ -Terpinen	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
1028	1020	<i>p</i> -Cimen	tr	tr	0,1	0,2	0,1	tr	tr	tr	tr
1036	1024	Limonen	4,2	0,1	0,7	3,3	0,6	0,9	2,4	0,1	tr
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	0,6	0,6	1,1	2,4	1,0	3,0	2,9	0,1	0,4
1044	-	Butil-2-metilbutanoat	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1049	-	Butilizovalerat	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1052	1044	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	0,4	0,1	0,2	5,3	0,2	3,9	0,4	-	0,9
1057	-	(4 <i>Z</i> )-2-Metil-4-decen	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1062	1049	(2 <i>E</i> )-Okten-1-al	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr
1063	1054	$\gamma$ -Terpinen	tr	tr	0,1	1,0	tr	tr	tr	tr	-
1066	-	2-Metildekan	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1072	1063	<i>n</i> -Oktanol	1,5	1,2	0,2	2,0	0,6	1,4	1,4	7,8	1,4
1092	1086	Terpinolen	-	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	-	tr
1093	1087	2-Nonanon	0,1	-	-	tr	-	-	-	-	-
1094	-	( <i>E</i> )-4-Undecen	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1100	1098	<i>trans</i> -Sabinenhidrat	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
1100	1100	<i>n</i> -Undekan	-	-	-	-	-	-	-	tr	-
1100	1100	Izopentil-2-metilbutanoat	-	tr	tr	-	tr	0,6	0,5	-	-
1104	1100	2-Metilbutil-2-metilbutanoat	-	tr	tr	-	0,2	1,8	2,4	-	-
1106	1100	<i>n</i> -Nonanal	0,7	-	-	0,9	-	-	-	0,3	0,5
1106	1102	Izopentilizovalerat	-	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1109	1103	2-Metilbutilizovalerat	-	tr	tr	tr	tr	1,2	1,2	tr	-
1120	-	( <i>E</i> )-4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrien	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
1124	1118	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	0,2	-	0,4	tr	-	-
1130	1122	$\alpha$ -Kamfolenal	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
1131	1128	<i>allo</i> -Ocimen	-	-	-	tr	tr	-	tr	-	-
1134	1128	( <i>Z</i> )-Epoksi-ocimen	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1143	1136	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	tr	-	0,2	-	-	-
1151	1147	Heksilizobutanoat	-	tr	-	-	tr	tr	tr	-	tr
1160	1154	$\beta$ -Pinenoksid	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	-
1160	1160	( <i>Z</i> )-Izocitral	0,3	-	-	tr	-	-	-	-	-
1163	1157	( <i>2E</i> )-Nonen-1-al	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1167	1160	Pinokarvon	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-
1170	1165	Lavandulol	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
1170	1165	Borneol	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
1181	1174	Terpinen-4-ol	tr	-	-	1,4	tr	tr	tr	-	-
1186	-	1-Metilbutil-3-metil-2-butenat	-	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	-
1188	1179	<i>p</i> -Cimen-8-ol	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
1193	1186	$\alpha$ -Terpineol	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	tr
1196	1193	( <i>4Z</i> )-Decenal	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1200	1195	Mirtenal	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
1200	1195	Metilhavikol	-	-	-	-	-	1,1	0,3	-	-
1205	1197	2-Metil-4-metilpentilbutanoat	-	-	-	tr	-	-	0,3	-	-
1206	1201	<i>n</i> -Dekanal	tr	-	-	-	-	-	-	tr	tr

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1216	1211	Oktilacetat	4,4	13,4	3,2	3,2	2,6	10,5	4,5	51,0	0,8
1221	1215	<i>trans</i> -Karveol	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1239	1233	Heksil-2-metilbutanoat	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,4	-	tr
1241	1232	(3 <i>Z</i> )-Heksenilizovalerat	-	-	-	-	tr	0,3	-	-	-
1244	1241	Heksilizovalerat	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-
1260	1255	(4 <i>Z</i> )-Decen-1-ol	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1264	1260	(2 <i>E</i> )-Decenal	0,5	-	-	tr	tr	tr	tr	-	tr
1274	1266	<i>n</i> -Dekanol	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
1289	1287	Bornilacetat	tr	-	tr	0,7	0,2	1,3	1,4	-	-
1290	1288	Lavadulilacetat	tr	-	-	1,8	-	-	-	-	-
1293	1292	(2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> )-Dekadienal	tr	-	-	-	tr	-	-	-	tr
1298	1300	<i>n</i> -Tridekan	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-
1303	-	Oktilpropanoat	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr
1307	1305	Undekanal	tr	-	-	tr	-	tr	-	tr	tr
1311	1311	Nonanilacetat	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1316	1315	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-Dekadienal	tr	-	-	tr	tr	tr	-	-	tr
1346	-	Oktilizobutanoat	tr	tr	-	tr	tr	tr	0,3	-	0,8
1353	1346	$\alpha$ -Terpinilacetat	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1362	1356	Eugenol	-	0,7	tr	-	tr	-	-	-	-
1378	1374	$\alpha$ -Kopaen	0,5	tr	-	tr	0,1	tr	-	tr	tr
1381	1380	Daucen	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-
1391	1387	$\beta$ -Kubeben	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1387	1387	$\beta$ -Burbonen	tr	tr	-	0,3	0,2	0,8	tr	tr	1,1

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1389	-	Oktilbutanoat	1,0	0,7	2,6	1,1	0,6	-	1,6	1,8	1,2
1394	-	1-Buteniliden-cikloheksan	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-
1394	1389	$\beta$ -Elemen	0,8	0,6	0,6	0,6	0,4	1,0	tr	0,6	tr
1397	1397	(Z)-Trimenal	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1397	1393	Feniletilizobutanoat	-	-	-	-	-	0,6	tr	-	-
1404	1403	Metileugenol	-	22,9	20,0	tr	19,3	tr	0,5	tr	-
1410	1407	Decilacetat	0,3	-	-	tr	-	tr	tr	0,4	-
1411	1408	Dodekanal	-	-	-	-	-	tr	-	0,2	tr
1417	-	Bornilizobutanoat	-	-	-	-	-	tr	1,4	-	-
1421	1417	(E)-Kariofilen	4,7	3,1	0,5	2,8	3,5	1,5	11,6	2,4	31,0
1431	1430	$\beta$ -Kopaen	tr	tr	-	tr	tr	tr	-	tr	tr
1435	-	Oktil-2-metilbutanoat	tr	0,1	0,1	tr	-	tr	tr	-	2,0
1437	1432	$\alpha$ -trans-Bergamoten	tr	2,6	6,2	tr	tr	-	tr	-	-
1439	-	Oktilizovalerat	tr	-	-	tr	-	tr	tr	tr	tr
1459	1452	$\alpha$ -Humulen	0,8	0,9	-	0,3	0,6	tr	1,7	0,2	2,3
1461	1454	(E)- $\beta$ -Farnezen	6,2	3,3	0,7	11,4	2,2	6,5	3,6	-	1,0
1463	1464	$\alpha$ -Akoradien	tr	0,1	-	-	0,3	-	-	-	-
1466	1461	cis-Kadina-1(6),4-dien	-	-	-	1,6	-	-	-	-	-
1469	1469	$\beta$ -Akoradien	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1480	1478	$\gamma$ -Murolen	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	tr
1483	1479	ar-Kurkumen	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-
1486	1484	Germakren D	6,3	0,9	2,0	3,6	7,1	6,2	-	0,8	6,6
1488	1486	Feniletil-2-metilbutanoat	-	-	-	tr	tr	1,5	0,5	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1488	1487	(E)- $\beta$ -Jonon	tr	-	-	tr	-	-	-	-	tr
1489	1489	$\beta$ -Selinen	tr	tr	-	-	-	-	-	0,1	-
1491	1490	Feniletilizovalerat	-	-	-	tr	tr	1,5	tr	-	-
1498	1493	$\alpha$ -Zingiberen	-	tr	-	1,8	0,5	-	0,7	tr	-
1498	1500	Biciklogermakren	4,9	0,1	0,4	tr	0,9	tr	tr	tr	tr
1500	1500	Izodaucen	tr	tr	0,1	tr	0,7	-	tr	0,1	-
1510	1505	(E,E)- $\alpha$ -Farnezen	2,4	0,6	0,7	tr	-	0,9	-	0,5	-
1512	1505	$\beta$ -Bisabolen	tr	0,3	9,3	7,1	0,5	-	0,9	-	2,6
1518	1513	$\gamma$ -Kadinen	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-
1521	-	Bornilizovalerat	-	-	-	-	-	tr	0,8	-	-
1524	1517	Miristicin	tr	1,2	-	tr	-	-	-	-	-
1526	1521	$\beta$ -Seskvifelandren	2,8	0,1	0,5	2,2	5,4	0,7	7,6	0,4	0,9
1532	1529	Kesan	-	-	-	tr	-	tr	tr	-	-
1535	1529	(E)- $\gamma$ -Bisabolen	-	-	-	0,3	0,2	-	0,5	-	-
1536	1531	(Z)-Nerolidol	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
1545	1545	Selina-3,7(11)-dien	-	-	-	-	0,4	-	tr	tr	-
1545	-	(E)- $\alpha$ -Bisabolen	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-
1559	1555	Elemicin	tr	22,7	14,3	7,9	6,7	-	-	-	-
1560	1559	Germakren B	-	-	-	-	-	-	2,6	0,4	-
1564	1561	(E)-Nerolidol	0,7	-	-	0,3	1,9	30,2	5,4	0,3	0,6
1575	1568	(Z)-Izoelemicin	-	18,5	25,4	-	22,4	-	tr	-	-
1580	1577	Spatulenol	1,2	-	-	tr	-	-	-	-	-
1583	-	Oktilheksanoat	3,2	-	-	3,4	1,9	1,2	3,9	23,6	7,8

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1590	1582	Kariofilenoksid	2,5	0,8	-	0,5	0,7	0,5	3,8	-	6,9
1596	1594	Salvial-4(14)-en-1-on	0,3	-	-	tr	0,1	tr	-	-	-
1600	1595	6-Metoksielemicin	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1614	1608	Humulenepoksid II	0,4	0,1	-	-	0,4	-	-	-	0,3
1615	1611	Tetradekanal	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
1633	1632	$\alpha$ -Akorenol	9,0	1,3	-	tr	-	-	-	-	-
1635	1639	Kariofila-4(14),8(15)-dien-5 $\beta$ -ol	-	-	-	tr	-	-	0,9	-	tr
1641	1639	Kariofila-4(14),8(15)-dien-5 $\alpha$ -ol	0,9	tr	-	tr	-	-	1,6	-	1,0
1647	1640	<i>epi</i> - $\alpha$ -Murolol	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-
1651	-	Kariofila-3,8(13)-dien- $\alpha$ -ol	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-
1657	1658	<i>neo</i> -Intermedeol	0,7	tr	-	-	-	-	-	-	-
1658	1658	Selin-11-en-4 $\alpha$ -ol	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
1658	1652	$\alpha$ -Kadinol	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-
1659	1666	14-Hidroksi-( <i>Z</i> )-kariofilen	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
1662	1660	<i>cis</i> -Kalamenen-10-ol	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1671	1668	<i>trans</i> -Kalamenen-10-ol	0,7	tr	-	tr	-	-	-	-	-
1672	1668	14-Hidroksi-9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-kariofilen	-	-	-	tr	-	-	0,8	-	-
1674	1674	$\beta$ -Bisabolol	0,8	-	-	tr	-	-	-	-	-
1685	1677	Apiol	16,8	-	-	tr	-	-	-	-	-
1689	1685	Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- $\alpha$ -ol	-	-	1,8	-	1,4	1,6	-	-	-
1689	1687	Eudezma-4(15),7-dien-1- $\beta$ -ol	1,0	-	-	0,9	-	-	-	-	0,9
1706	1690	( <i>Z</i> )- $\alpha$ - <i>trans</i> -Bergamotol	0,3	-	-	tr	-	-	-	-	-
1710	1700	Amorfa-4,9-dien-2-ol	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
1722	1722	(2Z,6E)-Farnezol	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
1725	-	Eudezma-4,11-dien-2-ol	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-
1747	1714	Notkatol	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-
1759	1755	7,14-Anhidro-amorfa-4,9-dien	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
1766	-	Tetradekanska kiselina	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-
1768	1775	2- $\alpha$ -Hidroksi-amorfa-4,7(11)-dien	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-
1777	-	Oktiloktanoat	0,5	tr	-	0,5	0,4	tr	0,8	0,9	1,3
1837	-	Neofitadien	-	-	-	tr	tr	-	tr	0,1	1,7
1844	-	Heksahidrofarnezilaceton	0,2	tr	tr	tr	0,1	-	0,4	0,1	0,4
1878	1874	<i>n</i> -Heksadekanol	-	-	-	-	tr	tr	-	0,1	-
1898	1900	<i>n</i> -Nonadekan	-	-	-	-	tr	tr	tr	0,1	-
1968	1959	Heksadekanska kiselina	1,2	-	-	1,8	0,8	0,9	2,2	-	1,1
1999	2000	<i>n</i> -Eikozan	-	-	-	-	tr	-	-	tr	-
2038	2035	( <i>Z</i> )-Falkarinol	0,5	-	0,5	tr	0,3	0,6	0,4	-	0,5
2095	2100	<i>n</i> -Heneikozan	tr	tr	-	0,5	0,3	tr	0,2	0,4	-
2099	-	$\gamma$ -Palmitolakton	tr	-	-	0,5	0,1	-	tr	-	4,0
2112	-	Fitol izomer	0,3	0,1	-	tr	0,2	tr	tr	0,1	1,1
2128	-	Pimpinelin	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
2194	2200	<i>n</i> -Dokozan	tr	tr	-	0,3	0,2	tr	-	0,1	tr
2294	2300	<i>n</i> -Trikozan	1,4	0,2	0,5	3,1	1,9	1,0	3,2	1,2	0,5
2394	2400	<i>n</i> -Tetrakozan	tr	tr	-	0,3	0,2	tr	0,3	0,1	tr
2494	2500	<i>n</i> -Pentakozan	1,6	0,2	0,4	1,4	1,2	0,8	2,5	0,7	1,4
2597	2600	<i>n</i> -Heksakozan	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta ulja	sph <sup>c</sup>	sib1	sib2	mon	ter	pol	ors	orp	aus
2693	2700	<i>n</i> -Heptakozan	1,0	0,1	0,2	0,5	0,6	0,4	1,2	0,6	1,6
2793	2800	<i>n</i> -Oktakozan	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-
2892	2900	<i>n</i> -Nonakozan	0,8	0,1	-	0,2	0,3	tr	0,5	0,2	0,9
		Monoterpenski ugljovodonici	7,8	1,3	3,7	30,0	6,5	16,3	12,9	0,8	1,8
		Oksidovani monoterpeni	0,3	-	tr	5,1	0,2	1,9	4,0	-	tr
		Seskviterpenski ugljovodonici	29,3	12,6	20,9	32,0	23,0	17,6	30,3	5,5	45,4
		Oksidovani seskviterpeni	18,9	2,3	1,8	1,7	4,5	33,4	12,6	0,3	10,5
		Fenilpropani	16,8	66,0	59,6	7,9	48,4	1,1	0,8	tr	-
		Poliacetileni	0,5	-	0,5	tr	0,3	0,6	0,4	-	0,5
		Alifatični estri	9,5	14,4	5,9	8,2	5,7	16,6	17,7	77,7	14,0
		Alifatični alkoholi	1,5	1,2	0,2	2,0	0,6	1,4	1,4	8,0	1,4
		Masne kiseline i njihovi derivati	1,2	-	-	3,1	0,9	0,9	2,2	-	5,1
		Ostali	8,0	1,1	1,1	8,4	5,4	6,0	11,8	4,7	8,2
		Ukupno	93,8	98,9	94,0	98,3	95,6	95,8	94,1	96,9	86,8
		Ukupno identifikovanih jedinjenja	95	76	45	113	91	91	100	59	64

<sup>a</sup> RI<sub>eks</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> *n*-alkane. <sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007).

<sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša, **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **orp** - *H. orphanidis*, **aus** - *H. austriacum* subsp. *siifolium*.

<sup>d</sup> Relativni udeo komponente u etarskom ulju. <sup>e</sup> tr-tragovi (<0,1%).



Etarska ulja listova, cvasti i/ili nadzemnih delova u cvetu nekih od ovih taksona su i prethodno analizirana. U listovima i cvastima biljaka roda *Heracleum*, etarska ulja su lokalizovana u sekretornim kanalima koji se nalaze uz sprovodne snopiće. Bicchi i sar. (1990) su ispitivali sastav etarskih ulja izolovanih direktno ekstrakcijom heksanom iz segmenata dobijenih isecanjem lisnih nerava drugog reda, kao i iz celih kruničnih listića cvetova *H. sphondylium* poreklom iz okoline Trenta u Italiji. Etarsko ulje iz sekretornih kanala listova dobijeno ovom tehnikom sastojalo se od šest seskviterpena, četiri monoterpena i palmitinske kiseline, dok su u ulju kruničnih listića identifikovana samo dva seskviterpena i jedan monoterpen. Dominantna komponenta ovih etarskih ulja bio je (*E*)-kariofilen (28,0 i 19,5%), a sledio ga je  $\alpha$ -bergamoten (14,3 i 4,4%) (Bicchi i sar., 1990). U okviru ove doktorske disertacije ispitivana su etarska ulja listova i cvasti *H. sphondylium* izolovana destilacijom vodenom parom, i u njima je identifikovano 82, odnosno 95 komponenti, uključujući i (*E*)-kariofilen i  $\alpha$ -*trans*-bergamoten, ali samo u tragovima, ili u značajno manjoj količini (2,8-4,7%). Ovi rezultati potvrđuju činjenicu da geografsko poreklo, tj. ekološki faktori, kao i metoda izolacije etarskog ulja značajno utiču na njegov sastav.

Prethodno su ispitivana i etarska ulja nadzemnih delova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (sakupljenih na planini Eta u Grčkoj, kao *H. sphondylium* subsp. *pyrenaicum*), *H. orphanidis* (sakupljenih na planini Baba u Makedoniji) i *H. sibiricum* (sakupljenih na planini Vidlič u Srbiji) (Evergetis i sar., 2009; Miladinović i sar., 2013; Mileski i sar., 2016). Glavna komponenta etarskog ulja nadzemnih delova u cvetu *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* bio je oktilacetat (17,4%) (Evergetis i sar., 2009). Oktilacetat je takođe bio značajno zastupljen u etarskom ulju cvasti ovog taksona, analiziranom u okviru ove doktorske disertacije (10,5%), dok je u ulju listova bio prisutan u maloj količini (0,5%). Dominantan u etarskom ulju nadzemnih delova u cvetu *H. orphanidis* bio je *n*-oktanol (39,6%), a sledili su ga oktilheksanoat (17,6%) i oktilacetat (14,1%) (Mileski i sar., 2016). U etarskim uljima listova i cvasti ove vrste, ispitivanim u okviru ove doktorske disertacije, dominantan je bio oktilacetat (83,5 i 51,0%), količina oktilheksanoata je bila značajna u ulju cvasti (23,6%), a mala u ulju lista (1,0%), a *n*-oktanol je detektovan u nešto manjim količinama u oba ulja (4,7% u ulju lista i 7,8% u ulju cvasti). Miladinović i sar. (2013) su analizirali hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova *H. sibiricum*, ali biljni organi koji su činili ispitivane

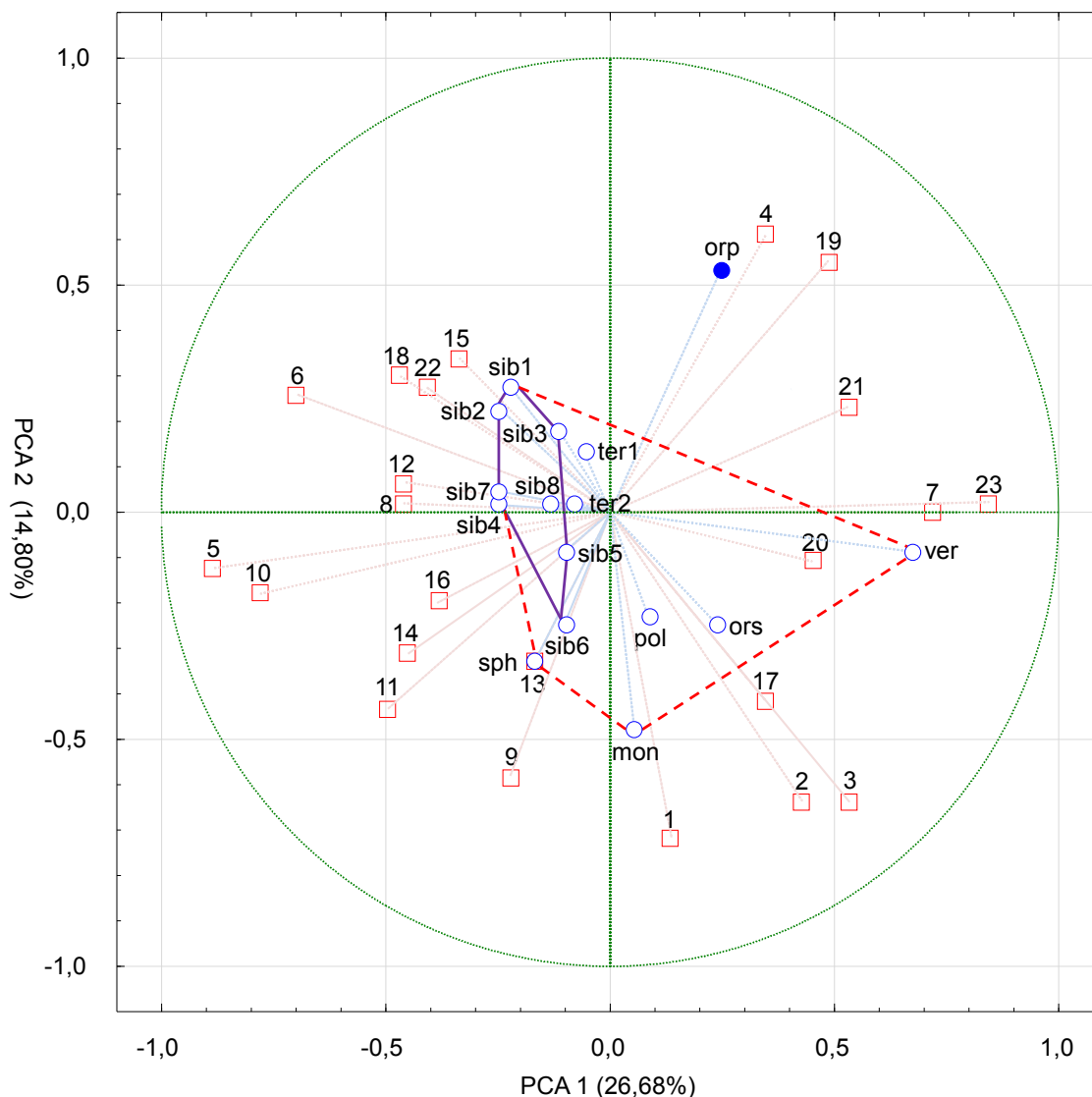
nadzemne delove nisu bili definisani. Ovo etarsko ulje je bilo slično ulju plodova *H. sibiricum* ispitivanom u okviru ove doktorske disertacije usled dominacije alifatičnih estara, ali sa značajnim razlikama u sadržaju pojedinih komponenti (dominantan je bio oktilbutanoat sa 36,8%).

Multivarijantna statistička analiza (PCA, 2D nMDS i UPGMA) sastava etarskih ulja listova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* (Slike 25-27), pokazala je odvajanje *H. orphanidis* od ispitivanih taksona grupe *H. sphondylium*, ali i izolovanu poziciju *H. verticillatum* u okviru ove grupe. Osam uzoraka *H. sibiricum* sakupljeno na šest međusobno udaljenih lokaliteta bilo je grupisano zajedno, kao što je to bio slučaj i kod podvrsti *H. pyrenaicum*. Uzorci *H. ternatum* bili su blizu morfološki jako srodnoj vrsti *H. sibiricum*, a u UPGMA analizi su čak delili isti klaster. Sličan odnos primećen je za takođe srodne vrste *H. sphondylium* i *H. montanum*. U slučaju PCA analize, prva glavna osa je objasnila najznačajniji procenat varijacije (26,68%). Razdvajanju duž ove ose najviše su doprineli  $\gamma$ -palmitolakton (0,84) i (*E*)-kariofilen (0,72) sa visokim pozitivnim opterećenjima faktora, i  $\beta$ -elemen (-0,89), germakren D (-0,78) i metileugenol (-0,70) sa visokim negativnim opterećenjima faktora. Sadržaj (*E*)-kariofilena,  $\beta$ -elemena i germakrena D je značajno varirao u ispitivanim etarskim uljima listova, ali se može primetiti da je količina (*E*)-kariofilena bila najveća u ulju *H. verticillatum*, a da  $\beta$ -elemen i germakren D zapravo nisu detektovani jedino u ovom ulju. Takođe, samo je etarsko ulje listova *H. verticillatum* sadržalo značajnu količinu  $\gamma$ -palmitolaktona. Prisustvo metileugenola u većem procentu bila je uglavnom zajednička karakteristika ulja listova *H. sibiricum* i *H. ternatum*.

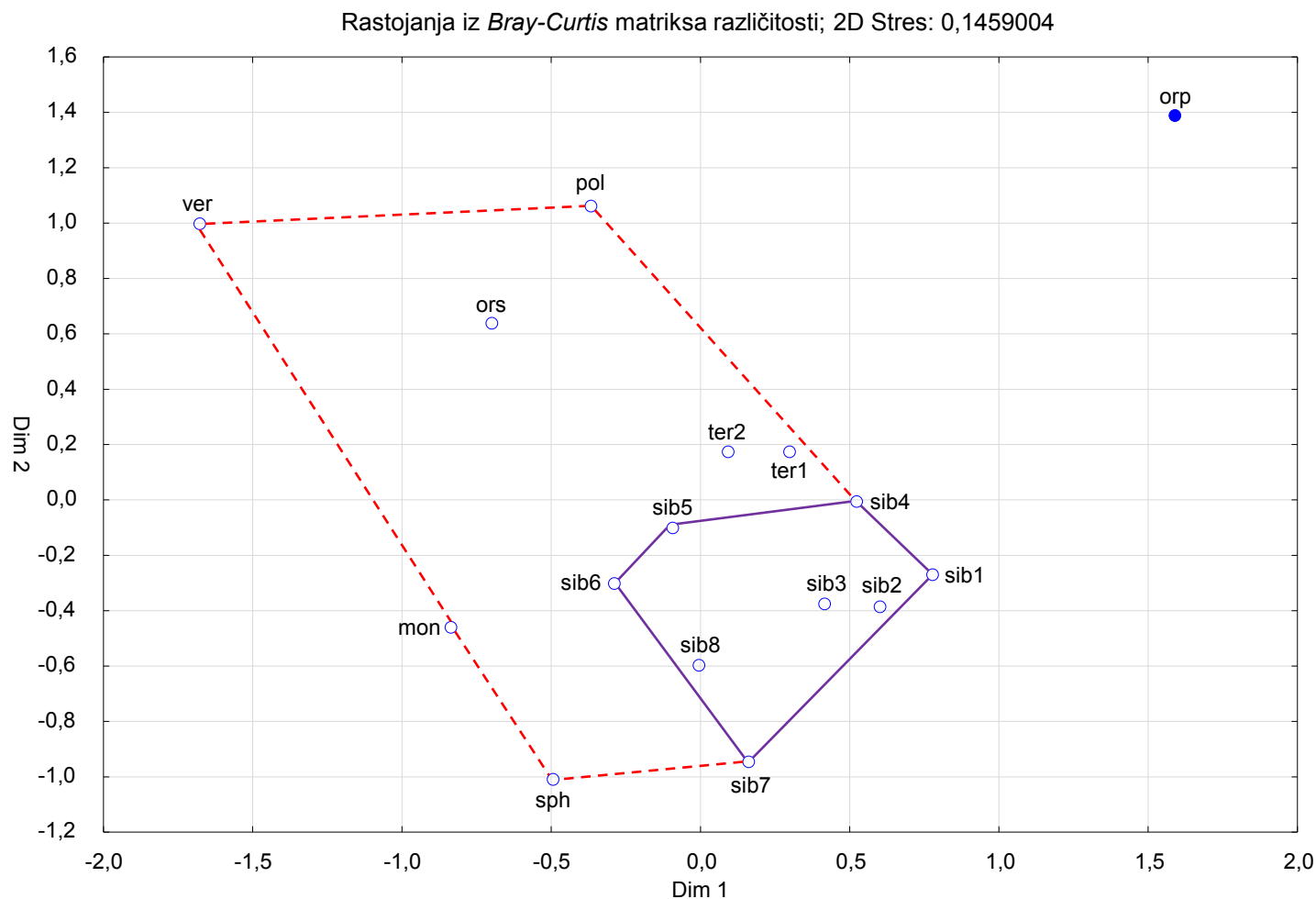
Rezultati PCA, 2D nMDS i UPGMA analiza sastava etarskih ulja cvasti sedam ispitivanih taksona roda *Heracleum* (Slike 28-30), bili su slični rezultatima multivarijantne statističke analize sastava ulja listova. Statistička analiza sastava ulja cvasti pokazala je grupisanje ispitivanih taksona grupe *H. sphondylium*, a u okviru njih grupisanje podvrsta *H. pyrenaicum*, grupisanje vrsta *H. sphondylium* i *H. montanum*, kao i grupisanje oba uzorka *H. sibiricum*. PCA analiza je pokazala da su razdvajanju po prvoj glavnoj osi (koja objašnjava 31,32% varijacije) najviše doprineli elemicin (0,91),  $\alpha$ -trans-bergamoten (0,87), (*Z*)-izoelemicin (0,80) i metileugenol (0,78) sa visokim pozitivnim opterećenjima, i oktilheksanoat (-0,90) i *n*-oktanol (-0,79) sa visokim negativnim opterećenjima faktora. Razdvajanju po drugoj glavnoj osi (koja objašnjava

25,53% varijacije) prvenstveno su doprineli (*E*)- $\beta$ -ocimen (0,87) i (*E*)- $\beta$ -farnezen (0,82) sa visokim pozitivnim opterećenjem, i oktilacetat (-0,69) sa visokim negativnim opterećenjem faktora. Najveće količine navedenih fenilpropana određene su u etarskim uljima cvasti *H. sibiricum* i *H. ternatum* (u uljima *H. sibiricum* i  $\alpha$ -*trans*-bergamotena), a navedenih alifatičnih estara i *n*-oktanola u ulju cvasti *H. orphanidis*, dok (*E*)- $\beta$ -ocimen i (*E*)- $\beta$ -farnezen nisu detektovani jedino u ovom ulju.

Uzimajući u obzir sličnost sastava etarskih ulja listova i cvasti istog taksona sa istog lokaliteta, takođe je izvršena i multivarijantna statistička analiza (PCA, 2D nMDS i UPGMA) etarskih ulja listova zajedno sa etarskim uljem nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium*, kao ulja cvasti zajedno sa etarskim uljem nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium* (rezultati nisu prikazani u okviru doktorske disertacije). *Heracleum austriacum* subsp. *siifolium* je bio jasno odvojen od ostalih taksona kada je uključen u PCA, 2D nMDS i UPGMA analize sastava etarskih ulja listova. Isti rezultati dobijeni su kada je uključen u PCA i 2D nMDS analize sastava etarskih ulja cvasti, dok je u UPGMA analizi delio isti klaster sa *H. sphondylium* i *H. montanum*.

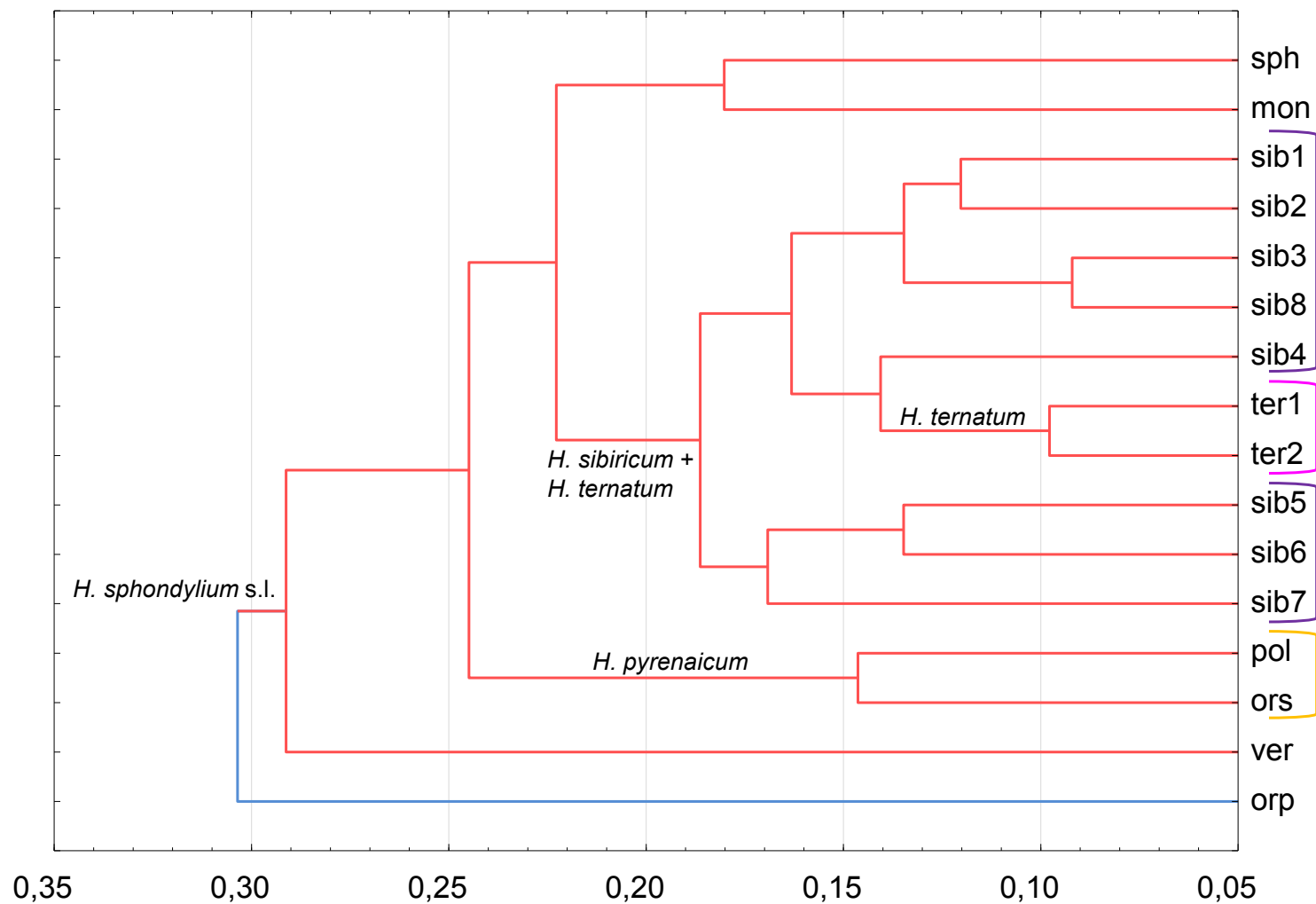


**Slika 25.** PCA analiza etarskih ulja listova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 13**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, a obojeni krug *H. orphanidis*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*, a punom linijom uzorci *H. sibiricum*. Komponente (prazni kvadrati): sabinen (1),  $\beta$ -pinen (2), limonen (3), oktilacetat (4),  $\beta$ -elemen (5), metileugenol (6), (*E*)-kariofilen (7),  $\alpha$ -transbergamoten (8), (*E*)- $\beta$ -farnezen (9), germakren D (10), (*E,E*)- $\alpha$ -farnezen (11),  $\beta$ -bisabolen (12), (*Z*)- $\gamma$ -bisabolen (13),  $\beta$ -seskvifelandren (14), elemicin (15), germakren B (16), (*E*)-nerolidol (17), (*Z*)-izoelemicin (18), oktilheksanoat (19), kariofilenoksid (20), (*Z*)-falkarinol (21), *n*-oktadekanol (22) i  $\gamma$ -palmitolakton (23).

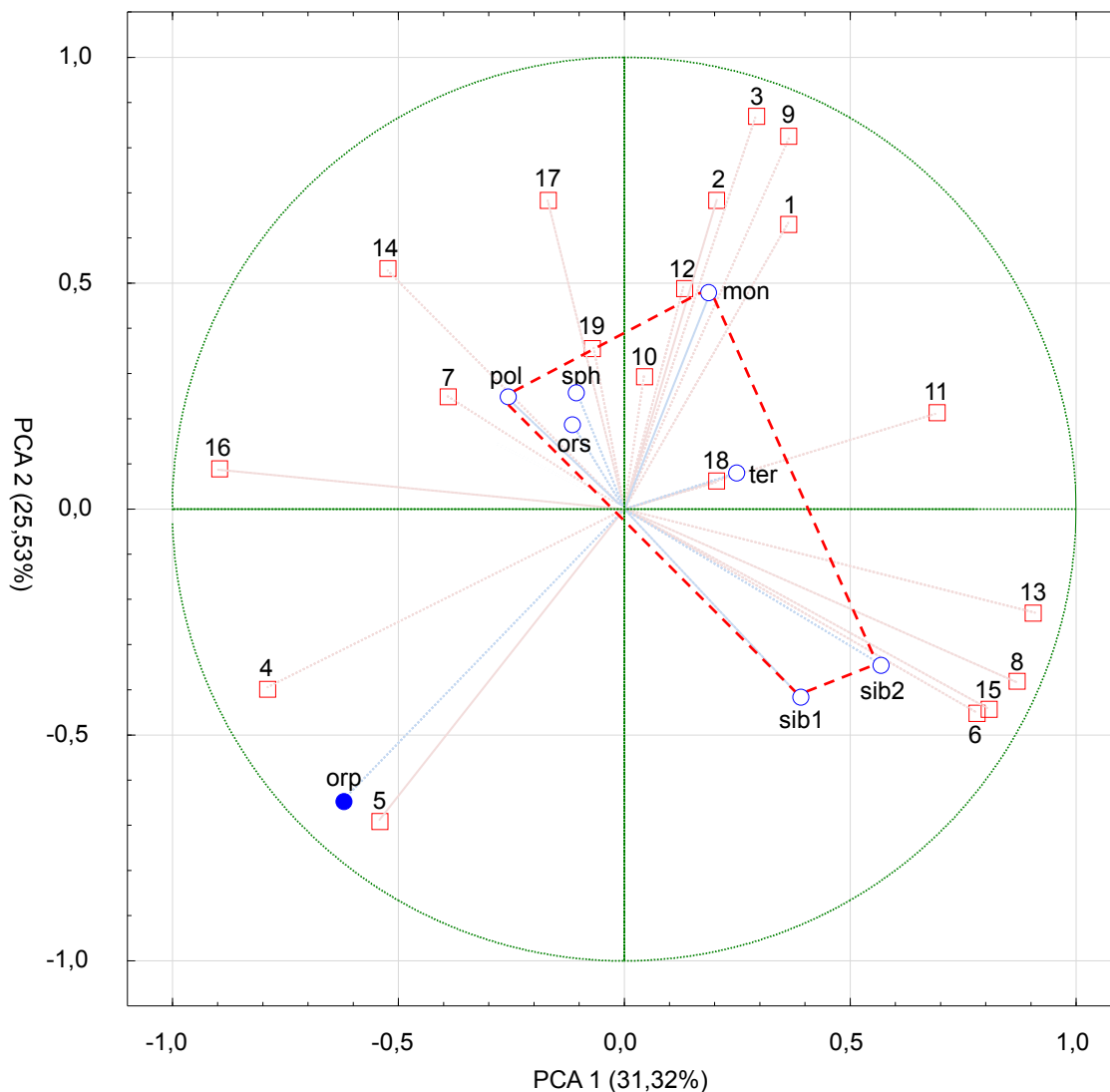


**Slika 26.** 2D nMDS analiza etarskih ulja listova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 13**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, a obojeni krug *H. orphanidis*. Isprekidanom linijom su obuhvaćeni taksoni grupe *H. sphondylium*, a punom linijom uzorci *H. sibiricum*.

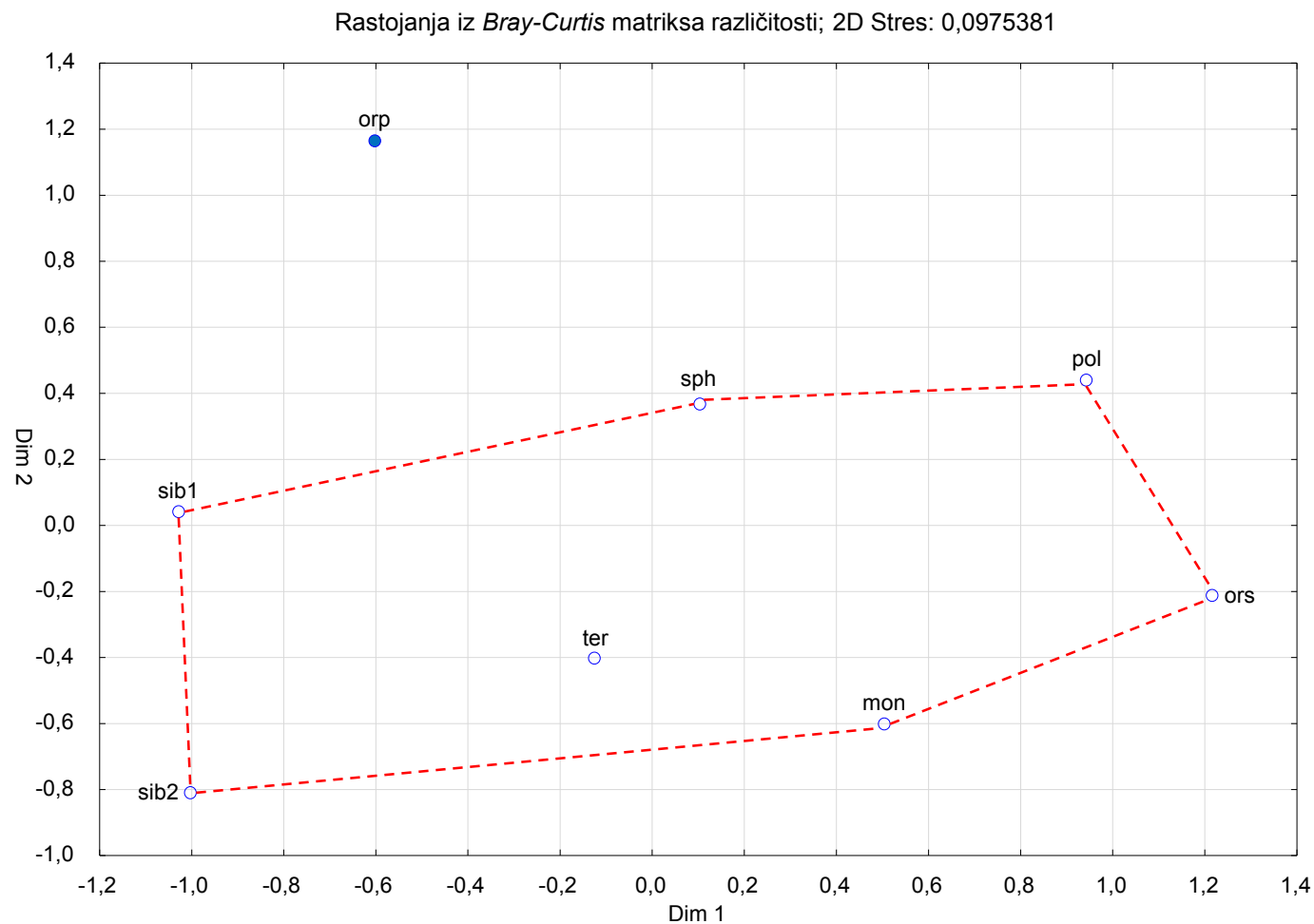
## Unweighted pair-group average; različitosti iz matriksa



Slika 27. UPGMA analiza etarskih ulja listova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u Tabeli 13.

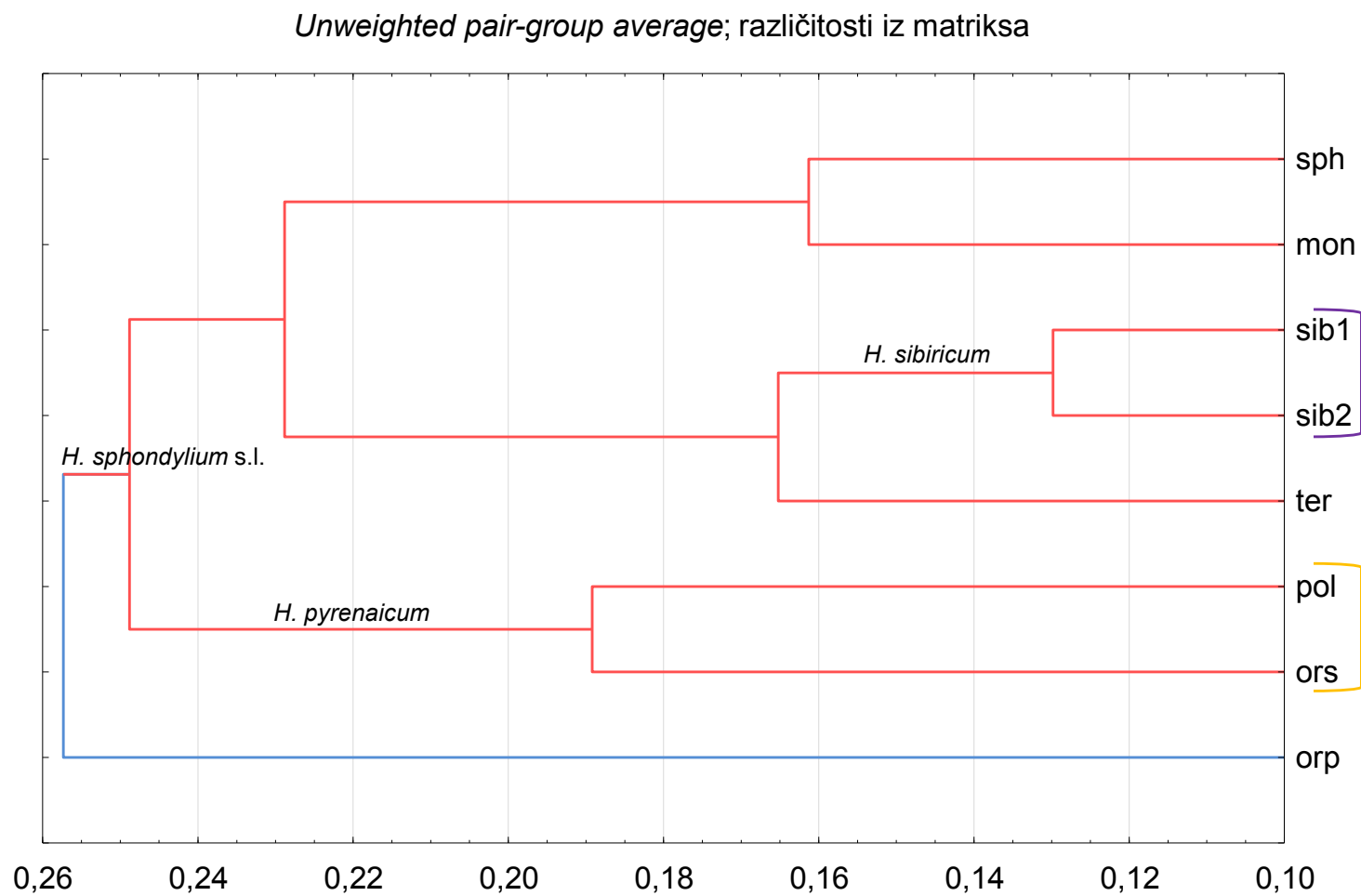


**Slika 28.** PCA analiza etarskih ulja cvasti ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 14**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, a obojeni krug *H. orphanidis*. Isprekidanom linijom obuhvaćeni su taksoni grupe *H. sphondylium*. Komponente (prazni kvadrati): sabinen (1), mircen (2), (*E*)- $\beta$ -ocimen (3), *n*-oktanol (4), oktilacetat (5), metileugenol (6), (*E*)-kariofilen (7),  $\alpha$ -*trans*-bergamoten (8), (*E*)- $\beta$ -farnezen (9), germakren D (10),  $\beta$ -bisabolen (11),  $\beta$ -seskvifelandren (12), elemicin (13), (*E*)-nerolidol (14), (*Z*)-izoelemicin (15), oktilheksanoat (16), kariofilenoksid (17),  $\alpha$ -akorenol (18) i apiol (19).



**Slika 29.** nMDS analiza etarskih ulja cvasti ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 14**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, a obojeni krug *H. orphanidis*. Isprekidanom linijom su obuhvaćeni taksoni grupe *H. sphondylium*.





**Slika 30.** UPGMA analiza etarskih ulja cvasti ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 14**.

### 1.6. Sadržaj furanokumarina u etarskim uljima

Usled postojanja rizika od pojave reakcija fototoksičnosti kao posledice unosa pojedinih furanokumarina, kao i njihove potencijalne kancerogenosti, Evropska agencija za lekove (eng. *European Medicines Agency*, EMA) je izdala odgovarajući dokument (Doc. Ref. EMEA/HMPC/317913/2006) u okviru koga je naveden maksimalni dozvoljeni dnevni unos furanokumarina putem biljnih lekovitih proizvoda. Prema ovom dokumentu EMA, smatra se da dnevni unos do 1,5 mg furanokumarina računatih kao ksantotoksin (8-metoksipsoralen, 8-MOP) ne doprinosi značajno ukupnom riziku, a dnevni unos do 15 µg ne predstavlja nikakav rizik (EMA/HMPC, 2007).

Zato su u etarskim uljima ispitivanih taksona roda *Heracleum* u kojima su detektovani, furanokumarini i kvantifikovani metodom eksternog standarda, a takođe je izražen i sadržaj ukupnih furanokumarina preko 8-MOP-a (**Tabela 15**). U cilju postizanja najvišeg mogućeg nivoa bezbednosti, furanokumarinima čiji je sadržaj bio ispod limita kvantifikacije (LOQ), dodeljene su najviše moguće vrednosti, tj. vrednosti LOQ za 8-MOP (0,10 mg/mL).

Četiri furanokumarina, izobergaptin, bergaptin, pimpinelin i izopimpinelin, su identifikovana u većini ispitivanih etarskih ulja podzemnih organa. Izuzetak je bilo etarsko ulje podzemnih organa *H. orphanidis*, u kome su detektovani samo pimpinelin i izopimpinelin, i ulje *H. sibiricum* iz Arbinja na Staroj planini, u kome nije detektovan izopimpinelin. U svim etarskim uljima podzemnih organa (sa izuzetkom ulja *H. sibiricum* iz Arbinja u kome su svi detektovani furanokumarini bili prisutni u količini ispod LOQ), dominantan je bio pimpinelin (0,12-0,40 mg/mL). U etarskim uljima u kojima je kvantifikovan, izobergaptin je bio drugi furanokumarin po zastupljenosti (0,08-0,24 mg/mL), osim u ulju podzemnih organa *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sa Galičice u kome je bergaptin bio zastupljeniji (0,18 mg/mL). Izopimpinelin je bio prisutan u količini ispod limita kvantifikacije (0,12 mg/mL) u svim etarskim uljima podzemnih organa u kojima je detektovan. Etarska ulja podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* sadržala su i najveću količinu ukupnih furanokumarina računatih kao 8-MOP, od 0,29 mg/mL (u ulju *H. sibiricum* iz Arbinja) do 0,77 mg/mL (u ulju *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2011. god). Na osnovu dobijenih rezultata, prema preporukama EMA, dnevni unos ovih ulja koji ne doprinosi značajno ukupnom riziku kreće se od 1,94 mL (u slučaju ulja *H. sibiricum* iz okoline Niša iz 2011. god) do

5,23 mL (u slučaju ulja *H. sibiricum* iz Arbinja), a dnevni unos koji ne predstavlja nikakav rizik kreće se od 0,02 do 0,05 mL.

Od 18 ispitivanih uzoraka plodova, furanokumarini su detektovani u 14, od toga je bergapten detektovan u 13, a u šest je bio i jedini detektovan furanokumarin. Međutim, skoro u svim etarskim uljima plodova furanokumarini su bili prisutni u količini ispod LOQ. Izuzetak je bilo etarsko ulje plodova *H. verticillatum* sa Vražje glave na Staroj planini, koje je sadržalo 0,16 mg/mL pimpinelina. U odnosu na etarska ulja podzemnih organa, ulja plodova su sadržala manje količine ukupnih furanokumarina računatih kao 8-MOP (0,10-0,29 mg/mL), i u skladu sa tim je i viši dnevni unos ovih etarskih ulja koji ne doprinosi značajno ukupnom riziku (5,23-15,68 mL), odnosno ne predstavlja nikakav rizik (0,05-0,16 mL), prema preporukama EMA.

U etarskim uljima cvasti i listova furanokumarini uglavnom nisu detektovani. Izuzeci su bili etarsko ulje cvasti *H. montanum* u kome je detektovan samo pimpinelin (< LOQ), ulje listova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* u kome je detektovan samo bergapten (0,07 mg/mL), i ulje listova *H. verticillatum* u kome je pored ova dva furanokumarina detektovan i izobergapten, i u kome je sadržaj ukupnih furanokumarina bio nešto viši (0,52 mg/mL računato kao 8-MOP). Prema preporukama EMA, dnevni unos etarskog ulja listova *H. verticillatum*, koji ne doprinosi značajno ukupnom riziku, odnosno ne predstavlja nikakav rizik iznosi 2,90 i 0,03 mL, a dnevni unos etarskih ulja listova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* i cvasti *H. montanum* koji ne doprinosi značajno ukupnom riziku, odnosno ne predstavlja nikakav rizik iznosi 15,68 i 0,16 mL.

**Tabela 15.** Apsolutne količine furanokumarina (FK) detektovanih u etarskim uljima ispitivanih taksona roda *Heracleum* (mg/mL); sadržaj ukupnih furanokumarina računatih kao ksantotoksin (8-metoksipsoralen, 8-MOP) (mg/mL); maksimalni dnevni unos etarskih ulja koji, prema preporukama EMA, ne doprinosi značajno ukupnom riziku (ekvivalentan unosu 1,5 mg furanokumarina), kao i koji ne predstavlja nikakav rizik (ekvivalentan unosu 15 µg furanokumarina)

Etarsko ulje (EU)	Izobergapten <sup>a</sup>	Bergapten	Pimpinelin <sup>b</sup>	Izopimpinelin	Ukupni FK kao 8-MOP	V <sub>EU</sub> (mL) ~ 1,5 mg FK	V <sub>EU</sub> (mL) ~ 15 µg FK
<b>Podzemni organi</b>							
<b>sph<sup>c</sup></b>	0,10	< LOQ <sup>d</sup>	0,12	< LOQ	0,42 <sup>e</sup>	3,54	0,04
<b>sib1</b>	0,24	0,11	0,31	< LOQ	0,77	1,94	0,02
<b>sib2</b>	0,15	0,09	0,17	< LOQ	0,53	2,85	0,03
<b>sib4</b>	0,08	< LOQ	0,12	< LOQ	0,41	3,62	0,04
<b>sib5</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	- <sup>f</sup>	0,29	5,23	0,05
<b>mon</b>	0,14	< LOQ	0,17	< LOQ	0,50	2,99	0,03
<b>ter1</b>	0,08	< LOQ	0,14	< LOQ	0,43	3,46	0,03
<b>pol1</b>	0,10	< LOQ	0,14	< LOQ	0,44	3,38	0,03
<b>pol2</b>	0,17	0,18	0,20	< LOQ	0,66	2,29	0,02
<b>pol3</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,38	3,92	0,04
<b>ors2</b>	0,09	< LOQ	0,16	< LOQ	0,45	3,31	0,03
<b>ver1</b>	0,16	0,10	0,38	< LOQ	0,76	1,99	0,02
<b>ver2</b>	0,08	< LOQ	0,15	< LOQ	0,44	3,38	0,03

<b>Etarsko ulje (EU)</b>	<b>Izobergapten<sup>a</sup></b>	<b>Bergaptin</b>	<b>Pimpinelin<sup>b</sup></b>	<b>Izopimpinelin</b>	<b>Ukupni FK kao 8-MOP</b>	<b>V<sub>EU</sub> (mL) ~ 1,5 mg FK</b>	<b>V<sub>EU</sub> (mL) ~ 15 µg FK</b>
<b>ver4</b>	0,10	< LOQ	0,19	< LOQ	0,49	3,07	0,03
<b>orp</b>	-	-	0,40	< LOQ	0,53	2,83	0,03
<b>Plodovi</b>							
<b>sph</b>	-	< LOQ	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>sib1</b>	-	< LOQ	< LOQ	-	0,19	7,84	0,08
<b>sib3</b>	-	< LOQ	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>sib4</b>	-	< LOQ	< LOQ	-	0,19	7,84	0,08
<b>sib5</b>	-	< LOQ	< LOQ	-	0,19	7,84	0,08
<b>mon</b>	-	< LOQ	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>ter1</b>	-	< LOQ	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>ter2</b>	-	< LOQ	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>pol2</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	0,29	5,23	0,05
<b>ors1</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	0,29	5,23	0,05
<b>ors2</b>	-	< LOQ	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>ver1</b>	< LOQ	-	0,16	-	0,26	5,76	0,06
<b>ver2</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	0,29	5,23	0,05
<b>ver3</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	0,29	5,23	0,05

Etarsko ulje (EU)	Izobergaptent <sup>a</sup>	Bergaptent	Pimpinelin <sup>b</sup>	Izopimpinelin	Ukupni FK kao 8-MOP	V <sub>EU</sub> (mL) ~ 1,5 mg FK	V <sub>EU</sub> (mL) ~ 15 µg FK
<b>Listovi</b>							
<b>pol2</b>	-	0,07	-	-	0,10	15,68	0,16
<b>ver4</b>	< LOQ	< LOQ	0,30	-	0,52	2,90	0,03
<b>Cvasti</b>							
<b>mon</b>	-	-	< LOQ	-	0,10	15,68	0,16

<sup>a</sup> Sadržaj izobergaptena računatog kao bergaptent. <sup>b</sup> Sadržaj pimpinelina računatog kao izopimpinelin.

<sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib1** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2011. god., **sib2** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2013. god., **sib3** - *H. sibiricum* sakupljen u okolini Niša 2014. god., **sib4** - *H. sibiricum* sakupljen na Žarkovoj čuki, Stara planina, **sib5** - *H. sibiricum* sakupljen u Arbinju, Stara planina, **mon** - *H. montanum*, **ter1** - *H. ternatum* sakupljen 2013. god., **ter2** - *H. ternatum* sakupljen 2014. god., **pol1** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Bistroj, **pol2** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Galičici, **pol3** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* sakupljen na Jablanici, **ors1** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sakupljen 2011. god., **ors2** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* sakupljen 2013. god., **ver1** - *H. verticillatum* sakupljen na Vražjoj glavi, Stara planina, **ver2** - *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2012. god., **ver3** - *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2013. god., **ver4** - *H. verticillatum* sakupljen u Arbinju 2014. god., **orp** - *H. orphanidis* sakupljen 2012. god.

<sup>d</sup> Limit kvantifikacije (LOQ) - bergaptent, izobergaptent < 0,07 mg/mL, izopimpinelin, pimpinelin < 0,12 mg/mL.

<sup>e</sup> Prilikom računanja sadržaja ukupnih furanokumarina (izraženih kao 8-MOP), furanokumarinima čiji sadržaj je bio ispod limita kvantifikacije dodeljene su najviše moguće vrednosti, tj. vrednosti LOQ za ksantotoksin (0,10 mg/mL).

<sup>f</sup> Furanokumarin nije detektovan.

## 2. Kvalitativna i kvantitativna analiza i hemosistematski značaj furanokumarina podzemnih organa i plodova

### 2.1. Kvalitativna analiza furanokumarina

U suvim dihlormetanskim ekstraktima podzemnih organa i kristalnim talozima dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* detektovano je ukupno 12 furanokumarina LC-MS metodom. Kada je kao mobilna faza A primenjena 0,1% mravlja kiselina, a kao mobilna faza B acetonitril nije došlo do zadovoljavajućeg razdvajanja furanokumarina **5**, **6** i **7**, kao i **8** i **9**. Promene u gradijentu i protoku mobilnih faza takođe nisu dale zadovoljavajuće rezultate. Prethodno, Frérot i Decorzant (2004) su objavili da se razdvajanje furanokumarina **5** i **6** može postići dodavanjem tetrahidrofurana u mobilnu fazu A. Međutim, pošto je ovaj rastvarač nekompatibilan sa MS detektorom, razdvajanje furanokumarina je pokušano dodatkom izopropanola. Pokazano je da dodatak 10% izopropanola mobilnoj fazi A dovodi do zadovoljavajućeg razdvajanja **5** i **6**, ali i ostalih ispitivanih furanokumarina (Slike **31** i **32**).

Na osnovu karakterističnih UV spektara (Tabela **16**; Slike **3-5** u Prilogu) ustanovljeno je da su jedinjenja **1**, **4**, **7** i **11** linearni furanokumarini supstituisani u položaju 8, jedinjenje **6** linearni furanokumarin supstituisan u položaju 5, jedinjenja **2**, **5**, **10** i **12** linearni furanokumarini supstituisani u položajima 5 i 8, a jedinjenja **3**, **8** i **9** angularni furanokumarini (Erdelmeier i sar., 1985; Frérot i Decorzant, 2004).

MS spektri furanokumarina **3**, **4**, **6** i **9**, snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentatora od 100 V, sadržali su dominantan signal protonovanog molekula  $[M+H]^+$  na  $m/z$  217. U MS spektrima ovih jedinjenja, snimljenim pri naponu od 250 V, najzastupljeniji je bio signal koji potiče od neutralnog gubitka  $CH_3$  grupe  $[M-CH_3+H]^+$  na  $m/z$  202, što je indikovalo da su ovi furanokumarini metoksi derivati psoralena ili angelicina (Tabela **16**; Slike **6-9** u Prilogu). Uzimajući u obzir njihove karakteristične UV spektre i redosled eluiranja, furanokumarin **3** je identifikovan kao sfondin, **4** kao ksantotoksin, **6** kao bergapten, a **9** kao izobergapten (Erdelmeier i sar., 1985; Frérot i Decorzant, 2004). Njihova dalja šema fragmentacije je bila u skladu sa literaturnim podacima (Yang i sar., 2010). Dodatno, identitet ksantotoksina (**4**) i bergaptena (**6**) je potvrđen pomoću komercijalnih standarda hromatografisanih pod istim eksperimentalnim uslovima. Izobergapten (**9**), koji je iskristalisao iz etarskih ulja

podzemnih organa *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i čija je struktura utvrđena na osnovu  $^1\text{H}$  NMR spektra (**Slike 1 i 2** u Prilogu), upotrebljen je za potvrdu prisustva ovog furanokumarina u ispitivanim ekstraktima.

MS spektri furanokumarina **5** i **8** (100 V) sadržali su dominantan signal protonovanog molekula  $[\text{M}+\text{H}]^+$  na  $m/z$  247, dok je na 250 V došlo do sukcesivnog gubitka dve  $\text{CH}_3$  grupe, što je ukazalo da su ova dva furanokumarina dimetoksi derivati psoralena ili angelicina (**Tabela 16; Slike 10 i 11** u Prilogu). Na osnovu karakterističnih UV spektara i redosleda eluiranja furanokumarin **5** je identifikovan kao izopimpinelin, a **8** kao pimpinelin (Erdelmeier i sar., 1985; Frérot i Decorzant, 2004). Njihova dalja šema fragmentacije bila je u skladu sa prethodno publikovanim rezultatima (Li i sar., 2014; Xie i sar., 2010; Yang i sar., 2010), a identitet izopimpinelina je potvrđen i pomoću standarda.

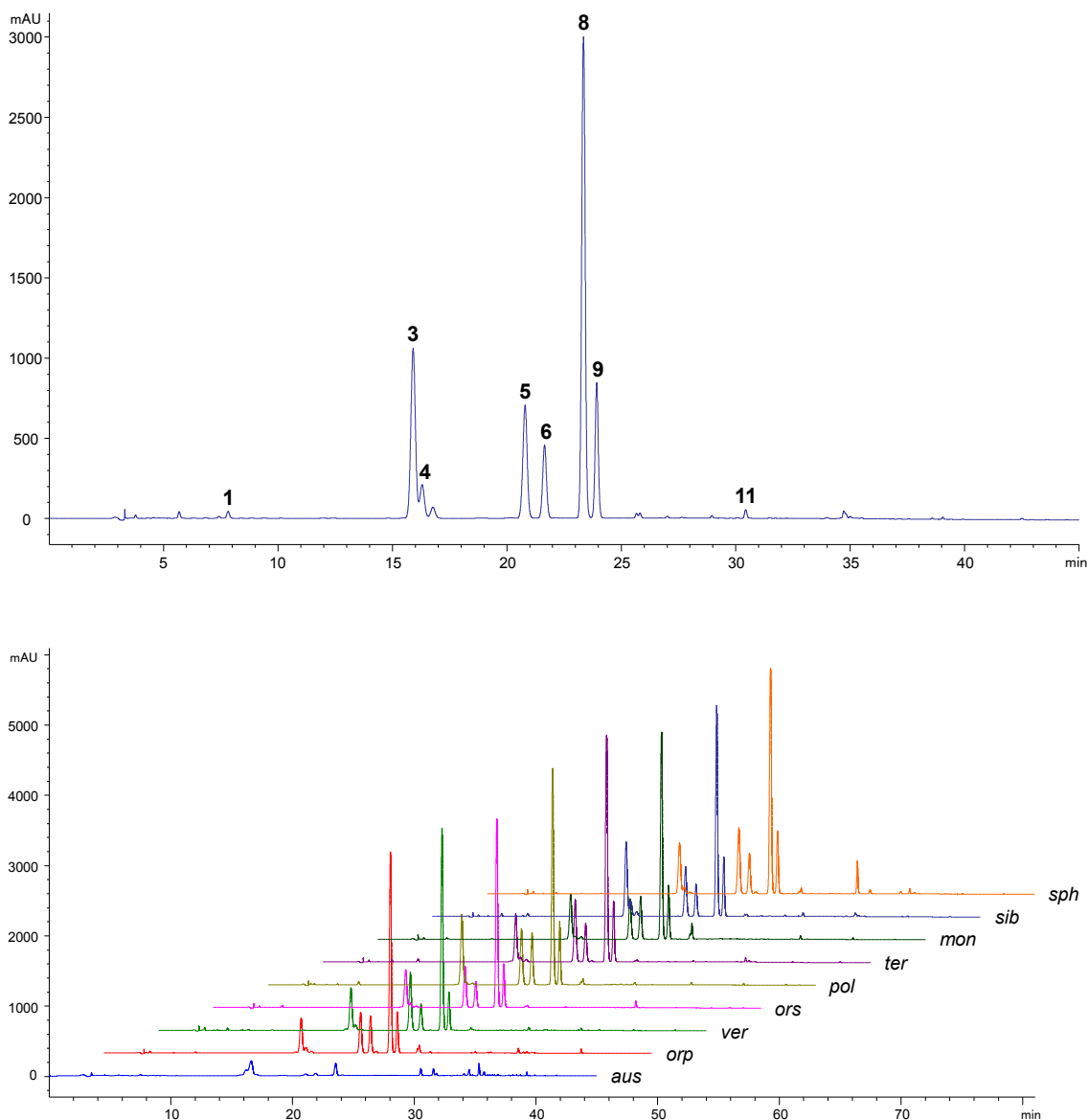
Struktura navedenih furanokumarina (osim ksantotoksina) potvrđena je i na osnovu  $^1\text{H}$  NMR spektra metanolne frakcije dihlormetanskog ekstrakta podzemnih organa *H. ternatum* (**Tabela 17; Slika 34**), u kome su dominirali svi karakteristični signali ovih pet furanokumarina, koji su bili u skladu sa literaturnim podacima (Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; O'Neill i sar., 2013).

Na osnovu UV i MS (100 V) spektara jedinjenja **1**, **2**, **7** i **10** zaključeno je da su u pitanju linearni furanokumarini, kao i da su furanokumarini **1** i **7** supstituisani oksidovanom preniloksi grupom u položaju 8, da su furanokumarini **2** i **10** supstituisani oksidovanom preniloksi grupom i metoksi grupom u položajima 5 i 8, i da furanokumarini **1** i **2** sadrže u okviru oksidovane preniloksi grupe jedan atom kiseonika više u odnosu na **7** i **10**. Njihovi MS spektri (100 i 250 V) su sadržali signale adukta molekula sa  $\text{Na}^+$  i  $\text{NH}_4^+$  ( $m/z$  327 i 322 za **1**; 357 i 352 za **2**; 309 i 304 za **7**; 339 i 334 za **10**), kao i protonovanog molekula  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  305 za **1**; 335 za **2**; 287 za **7**; 317 za **10**). Šema fragmentacija ovih furanokumarina bila je slična i podrazumevala je neutralni sukcesivni gubitak dva molekula  $\text{H}_2\text{O}$  iz prenil grupe u slučaju **1** i **2**, odnosno jednog molekula  $\text{H}_2\text{O}$  u slučaju **7** i **10**, a zatim i celog prenil ostatka, a u slučaju **2** i **10** sledio je neutralni gubitak  $\text{CH}_3$  grupe (iz metoksi grupe) (**Tabela 16; Slike 12-15** u Prilogu). Dalja fragmentacija je bila u saglasnosti sa prethodno publikovanim podacima. Na osnovu svega navedenog, kao i redosleda eluiranja furanokumarin **1** je identifikovan kao heraklenol, a **2** kao biakangelicin. Pretpostavljeno je da struktura furanokumarina **7** odgovara herakleninu, a **10** biakangelikolu (Heinke i sar., 2012; Seo i sar., 2013; Setzer i

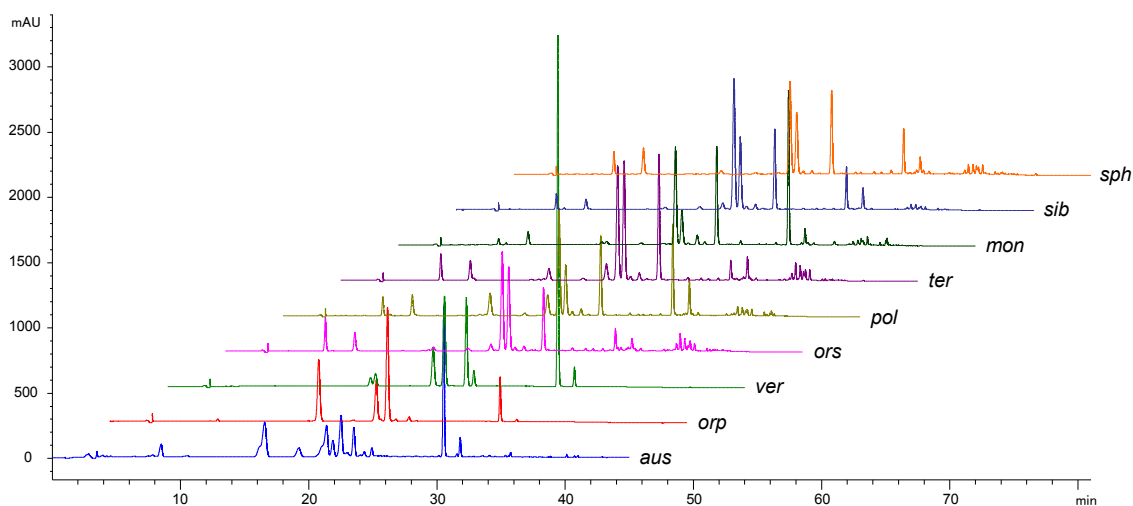
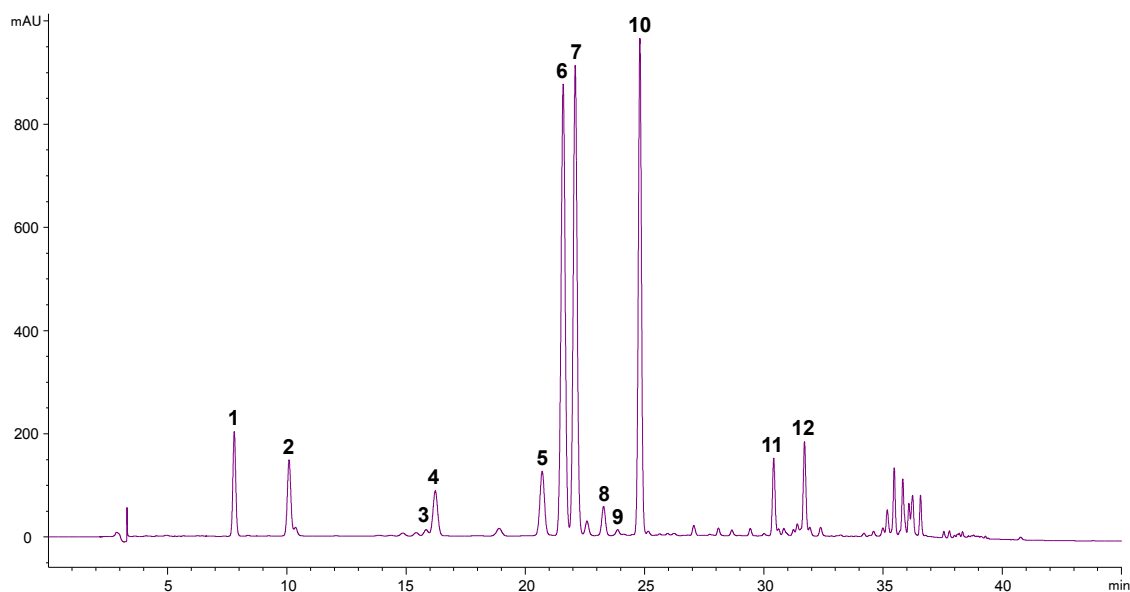


sar., 2003; Xie i sar., 2010; Yang i sar., 2010; Zhang i sar., 2009b). Naime, na osnovu UV i MS spektara, heraklenin (**7**) i biakangelikol (**10**), koji na prenil ostatku sadrže epoksi grupu, ne mogu da se razlikuju od furanokumarina koji umesto ove grupe sadrže hidroksilnu ili karbonilnu grupu. Zato je snimljen  $^1\text{H}$  NMR spektar metanolnih frakcija kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova *H. ternatum* (**Slika 35**) i *H. sphondylium* (**Slika 18** u Prilogu) (**Tabela 17**), u kojima su dominirala upravo ova dva jedinjenja (uz bergapten, **6**). Pojava dva tripleta u ovim spektrima na  $\delta_{\text{H}}$  3,33 i 3,31 (potiču od H-C(2'') atoma preniloksi grupa) potvrdilo je prisustvo epoksida na prenil ostatku oba jedinjenja. I položaj ostalih detektovanih signala je bio u saglasnosti sa literaturnim podacima. Na ovaj način je potvrđen identitet heraklenina (**7**) i biakangelikola (**10**) (Bogucka-Kocka, 1999; Kumar i sar., 1976; Razdan i sar., 1982). Pošto je biakangelikol (**10**) 5,8-disupstituisani furanokumarin, tj. pored preniloksi ima vezanu i metoksi grupu, da bi se dodatno potvrdio raspored ovih supstituenata, snimljeni su i ROESY spektri ovih frakcija (**Slika 36**; **Slika 19** u Prilogu). Njihovo tumačenje je olakšalo prisustvo bergaptena (5-metoksipsoralena) (**6**) u značajnoj količini u ovim frakcijama. I za biakangelikol (**10**) i za bergapten (**6**) je u ROESY spektru pokazana korelacija vodonika iz metoksi grupe na položaju 5, i vodonika H-C(4) na pironskom i H-C(3') na furanskom prstenu ispitivanih furanokumarina. Iz navedenog  $^1\text{H}$  NMR spektra potvrđen je i identitet biakangelicina (**2**) (pre svega na osnovu prisustva multiplleta na  $\delta_{\text{H}}$  3,83 koji potiče od H-C(2'') preniloksi grupe) (Adebajo i Reisch, 2000; Bogucka-Kocka, 1999).

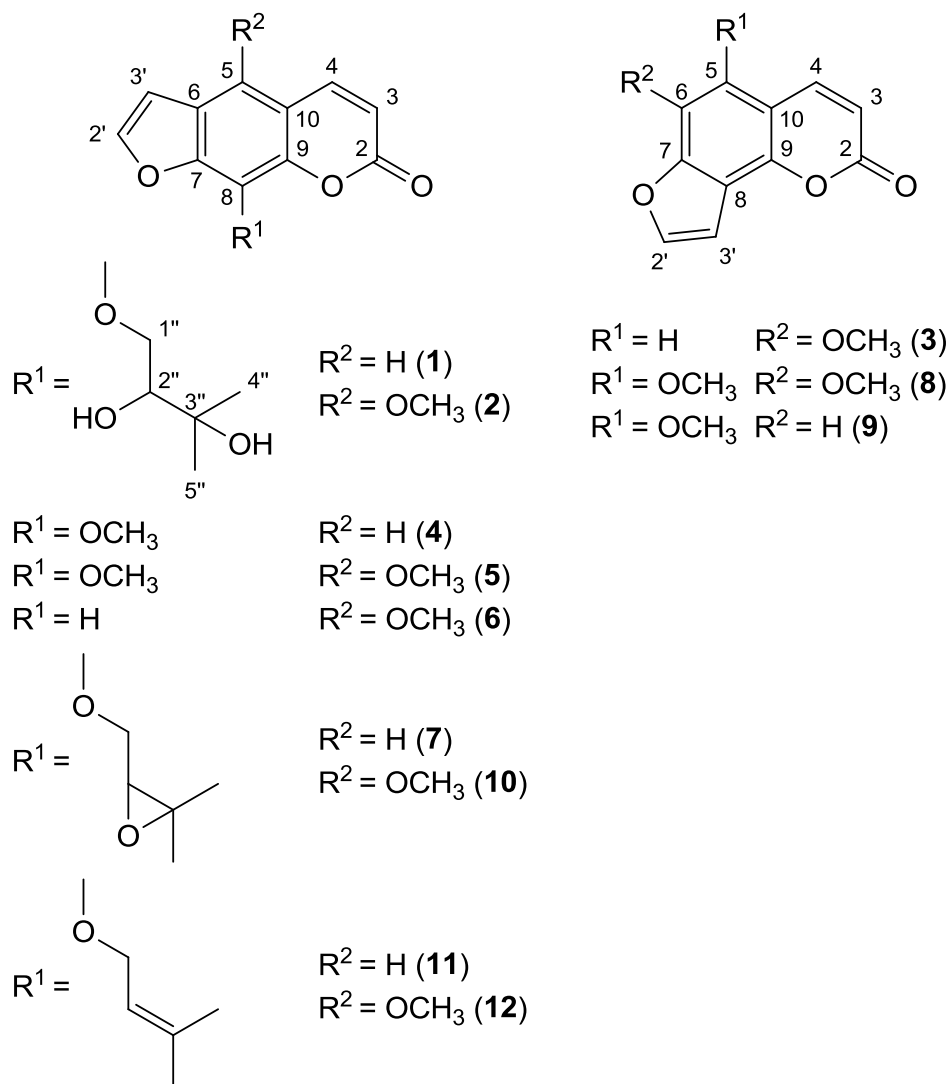
MS spektri (100 V) furanokumarina **11** i **12** su sadržali dominantne signale protonovanih molekula  $[\text{M}+\text{H}]^+$  na  $m/z$  271 i 301 i signale fragmenata nastalih gubitkom nesupstituisane prenil grupe na  $m/z$  203 (**11**) i 233 (**12**). U MS spektru (250 V) furanokumarina **12** dominirao je signal koji potiče od daljeg neutralnog gubitka  $\text{CH}_3$  grupe na  $m/z$  218 (**Tabela 16**; **Slike 16** i **17** u Prilogu). Dalja fragmentacija je takođe bila u skladu sa literaturnim podacima (Heinke i sar., 2012; Kang i sar., 2008; Xie i sar., 2010; Yang i sar., 2010) za imperatorin (**11**) i felopterin (**12**). Identitet imperatorina (**11**) je dodatno potvrđen pomoću komercijalnog standarda, a felopterina (**12**) na osnovu prisustva dva singleta na  $\delta_{\text{H}}$  1,70 i 1,74, dubleta na  $\delta_{\text{H}}$  4,85 i multiplleta na  $\delta_{\text{H}}$  5,61 (Bogucka-Kocka, 1999) u  $^1\text{H}$  NMR spektrima metanolnih frakcija kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova *H. ternatum* i *H. sphondylium* (**Tabela 17**; **Slika 35**; **Slika 18** u Prilogu).



**Slika 31.** Hromatogrami suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa *H. sibiricum* (gore) i svih devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* (dole), snimljeni na LC-MS-u na 250 nm. U slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium* prikazan je hromatogram snimljen nakon injektovanja četiri puta veće zapremine uzorka. Furanokumarini: heraklenol (**1**), sfondin (**3**), ksantotoksin (**4**), izopimpinelin (**5**), bergapten (**6**), pimpinelin (**8**), izobergapten (**9**) i imperatorin (**11**). Taksoni: *H. sphondylium* (**sph**), *H. sibiricum* (**sib**), *H. montanum* (**mon**), *H. ternatum* (**ter**), *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (**pol**), *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (**ors**), *H. verticillatum* (**ver**), *H. orphanidis* (**orp**), *H. austriacum* subsp. *siifolium* (**aus**).



**Slika 32.** Hromatogrami kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova *H. ternatum* (gore) i svih devet ispitivanih taksona roda *Heracleum* (dole), snimljeni na LC-MS-u na 250 nm. U slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium* prikazan je hromatogram snimljen nakon injektovanja četiri puta veće zapremine uzorka. Furanokumarini: heraklenol (**1**), biakangelicin (**2**), sfondin (**3**), ksantotoksin (**4**), izopimpinelin (**5**), bergapten (**6**), heraklenin (**7**), pimpinelin (**8**), izobergapten (**9**), biakangelikol (**10**), imperatorin (**11**) i felopterin (**12**). Taksoni: *H. sphondylium* (**sph**), *H. sibiricum* (**sib**), *H. montanum* (**mon**), *H. ternatum* (**ter**), *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (**pol**), *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (**ors**), *H. verticillatum* (**ver**), *H. orphanidis* (**orp**), *H. austriacum* subsp. *siifolium* (**aus**).



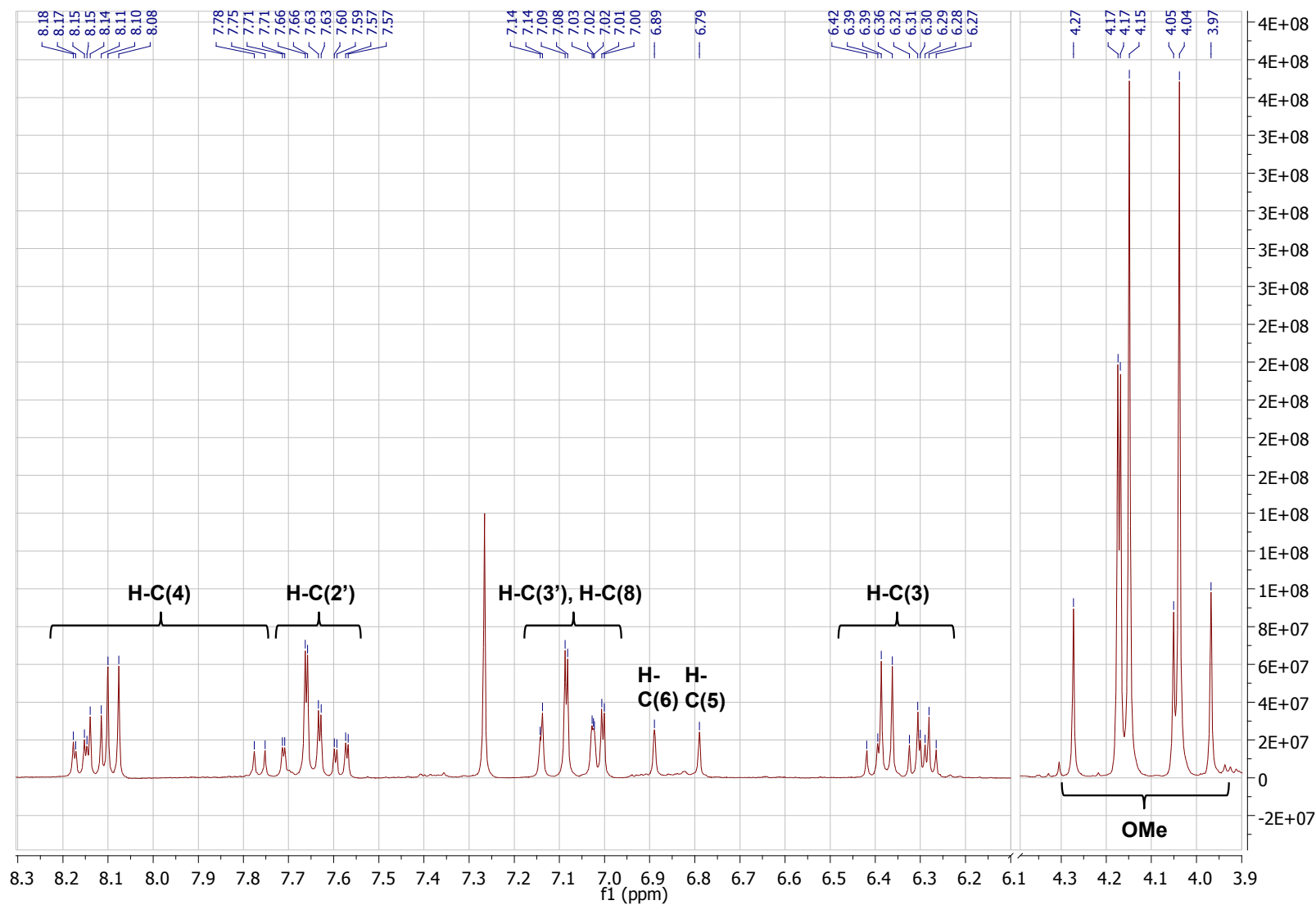
**Slika 33.** Strukture furanokumarina identifikovanih u dihlormetanskim ekstraktima podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*

**Tabela 16.** UV i MS podaci identifikovanih furanokumarina dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* snimljeni LC-MS metodom u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora od 100 i 250 V

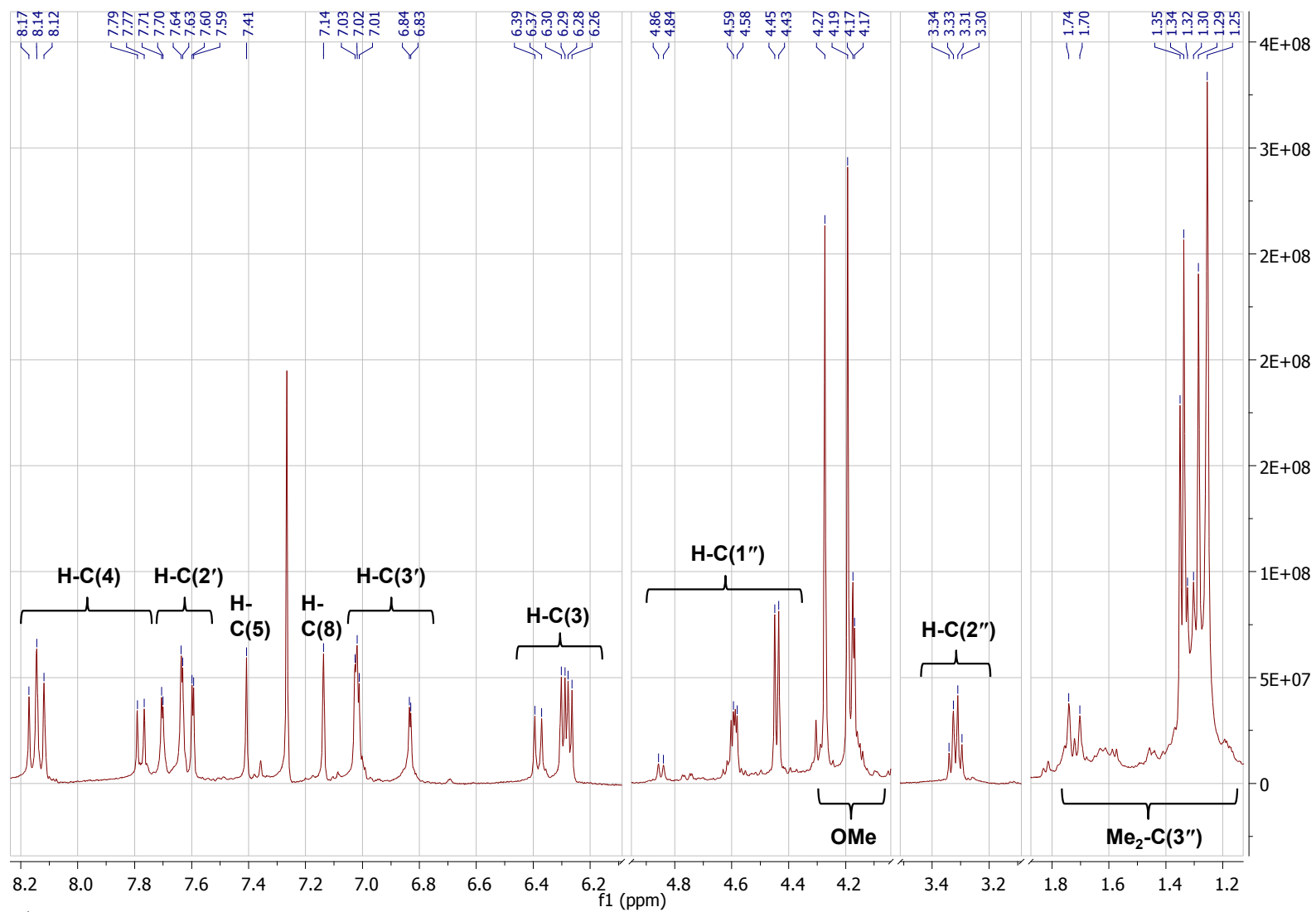
Rt(min)	Jedinjenje	$\lambda_{\max}$ (nm)	$m/z$ (100 V)	$m/z$ (250 V)	Literatura
7,81	Heraklenol (1)	218; 248; 302	327,00 (17,7) <sup>a</sup> ; 321,90 (87,3); 304,90 (12,4); 287,00 (100,0); 268,90 (33,8); 202,90 (7,1)	327,10 (100,0); 203,00 (66,1); 173,00 (24,8); 157,10 (9,9); 147,00 (37,3); 145,00 (18,1); 129,10 (14,4)	Setzer i sar., 2003
10,12	Biakangelicin (2)	224; 240; 272; 316	356,90 (10,0); 352,00 (49,9); 334,90 (13,3); 316,90 (100,0); 298,90 (27,5); 232,90 (4,0); 230,90 (8,4)	357,00 (100,0); 254,00 (5,4); 233,00 (24,9); 231,00 (50,4); 218,00 (34,5); 203,10 (50,7); 188,00 (22,0); 175,00 (22,8); 160,00 (22,8); 145,00 (5,6); 143,10 (6,7); 134,00 (2,3)	Heinke i sar., 2012; Xie i sar., 2010; Yang i sar., 2010
15,91	Sfondin (3)	218; 248; 302; 340	217,00 (100,0)	217,00 (59,3); 202,00 (88,3); 189,10 (8,3); 174,10 (100,0); 161,00 (94,4); 158,00 (5,1); 146,10 (36,8); 131,10 (16,8); 118,10 (48,5); 105,10 (9,1)	-
16,30	Ksantotoksin (4)	218; 248; 302	217,00 (100,0)	217,00 (13,5); 202,00 (72,1); 189,00 (3,6); 174,10 (100,0); 161,00 (15,6); 157,90 (2,3); 146,00 (13,5); 131,00 (12,4); 118,10 (14,8); 105,10 (4,5)	Yang i sar., 2010
20,79	Izopimpinelin (5)	222; 242; 270; 314	247,00 (100,0)	247,00 (3,7); 232,00 (5,2); 217,00 (100,0); 189,10 (14,9); 161,00 (12,6); 133,00 (3,7); 105,00 (2,1)	Li i sar., 2014; Yang i sar., 2010
21,67	Bergapten (6)	222; 250; 266; 312	217,00 (100,0)	217,00 (16,1); 202,00 (100,0); 174,00 (50,9); 161,10 (2,4); 146,00 (14,5); 131,00 (3,5); 118,10 (17,2)	Yang i sar., 2010

Rt(min)	Jedinjenje	$\lambda_{\max}$ (nm)	$m/z$ (100 V)	$m/z$ (250 V)	Literatura
22,15	Heraklenin (7)	220; 248; 300	304,00 (62,4); 287,00 (100,0); 269,00 (57,4); 202,90 (8,6)	309,00 (37,8); 269,10 (11,7); 203,00 (100,0); 185,10 (9,5); 173,00 (42,3); 157,00 (18,8); 147,00 (61,5); 145,00 (30,1); 131,00 (8,3); 129,00 (24,9)	-
23,37	Pimpinelin (8)	224; 254; 306	247,00 (100,0)	247,00 (12,4); 231,00 (66,0); 217,00 (100,0); 203,00 (22,4); 189,00 (29,4); 175,10 (5,4); 161,00 (30,2); 158,10 (7,9); 147,00 (11,0); 133,10 (7,3); 131,10 (5,4); 105,10 (6,8)	Xie i sar., 2010
23,95	Izobergaptin (9)	224; 250; 266; 312	217,00 (100,0)	217,00 (21,2); 202,10 (100,0); 174,10 (40,7); 161,10 (10,1); 156,00 (5,6); 146,00 (14,6); 131,00 (4,8); 129,10 (5,5); 118,10 (14,3)	-
24,84	Biakangelikol (10)	222; 240; 270; 312	333,90 (24,1); 316,90 (100,0); 299,00 (43,2); 232,90 (4,2); 230,90 (11,8)	339,00 (81,2); 317,00 (14,6); 299,10 (8,7); 254,00 (15,4); 233,00 (46,2); 231,00 (100,0); 218,00 (69,9); 203,00 (97,3); 188,00 (44,3); 175,00 (46,9); 160,00 (52,5); 145,10 (12,3); 143,00 (15,1); 134,00 (4,3); 132,00 (8,7)	Seo i sar., 2013; Yang i sar., 2010; Zhang i sar., 2009b
30,43	Imperatorin (11)	222; 248; 300	270,90 (100,0); 203,00 (37,0)	271,10 (1,1); 203,00 (72,9); 175,00 (20,0); 157,10 (9,5); 147,00 (100,0); 131,10 (8,4); 129,00 (27,8); 119,10 (4,0); 101,00 (2,4)	Xie i sar., 2010; Yang i sar., 2010
31,72	Felopterin (12)	224; 240; 270; 314	301,00 (100,0); 232,90 (24,0)	301,10 (0,3); 254,00 (2,4); 233,00 (25,2); 218,00 (100,0); 190,00 (7,4); 173,00 (6,6); 162,00 (5,7); 134,10 (7,8); 106,10 (2,2)	Heinke i sar., 2012; Kang i sar., 2008; Yang i sar., 2010

<sup>a</sup> U zagradama su prikazane relativne zastupljenosti jona (%).



Slika 34.  $^1\text{H}$  NMR spektar metanolne frakcije dihalometanskog ekstrakta podzemnih organa *H. ternatum*



Slika 35. <sup>1</sup>H NMR spektar metanolne frakcije kristalnog taloga dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. ternatum*



**Tabela 17.**  $^1\text{H}$  NMR podaci (400 MHz) furanokumarina dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*

Kumarin / signal	H- C(3)	H- C(4)	H- C(5)	H- C(6)	H- C(8)	H- C(2')	H- C(3')	H- C(1'')	H- C(2'')	Me <sub>2</sub> - C(3'')	MeO- C(5)	MeO- C(6)	MeO- C(8)	Literatura
Sfondin <sup>a</sup> (3)	6,41d <sup>d</sup> $J=9,6^c$	7,76d $J=9,6$	6,79s	-	-	7,71d $J=2,1$	7,14d $J=2,0$	-	-	-	-	4,05s	-	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; O'Neill i sar., 2013
Izopimpinelin <sup>a</sup> (5)	6,29d $J=9,8$	8,13d $J=9,8$	-	-	-	7,63d $J=2,3$	7,00d $J=2,3$	-	-	-	4,17s	-	4,17s	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; O'Neill i sar., 2013
Bergapten <sup>a</sup> (6)	6,28d $J=9,8$	8,16d $J=9,9$	-	-	7,14s	7,60d $J=2,4$	7,02d $J=1,0$	-	-	-	4,27s	-	-	Bogucka-Kocka, 1999; O'Neill i sar., 2013
Pimpinelin <sup>a</sup> (8)	6,37d $J=9,8$	8,09d $J=9,8$	-	-	-	7,66d $J=2,1$	7,08d $J=2,2$	-	-	-	4,04s	4,15s	-	Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; O'Neill i sar., 2013
Izobergapten <sup>a</sup> (9)	6,31d $J=9,8$	8,16d $J=9,8$	-	6,89s	-	7,57d $J=2,2$	7,03d $J=1,2$	-	-	-	3,97s	-	-	O'Neill i sar., 2013
Heraklenin <sup>b</sup> (7)	6,38d $J=9,6$	7,78d $J=9,6$	7,41s	-	-	7,70d $J=2,2$	6,83d $J=2,2$	4,59d $J=5,3$	3,33t $J=6,0$	1,29s, 1,35s	-	-	-	Bogucka-Kocka, 1999; Kumar i sar., 1976; Razdan i sar., 1982
Biakangelikol <sup>b</sup> (10)	6,29d $J=9,8$	8,13d $J=10,3$	-	-	-	7,63d $J=2,2$	7,02d $J=2,7$	4,44d $J=5,6$	3,31t $J=6,0$	1,25s, 1,34s	4,19s	-	-	Bogucka-Kocka, 1999
Biakangelicin <sup>b</sup> (2)	n.d. <sup>f</sup>	n.d.	-	-	-	n.d.	n.d.	n.d.	3,83m	1,30s, 1,32s	n.d.	-	-	Bogucka-Kocka, 1999; Adebajo i Reisch, 2000

Kumarin / signal	H- C(3)	H- C(4)	H- C(5)	H- C(6)	H- C(8)	H- C(2')	H- C(3')	H- C(1'')	H- C(2'')	Me <sub>2</sub> - C(3'')	MeO- C(5)	MeO- C(6)	MeO- C(8)	Literatura
Felopterin <sup>b,c</sup> (12)	n.d.	n.d.	-	-	-	n.d.	n.d.	4,85d	5,61m	1,70s,	4,18s	-	-	Bogucka-Kocka, 1999
								<i>J</i> =7,0		1,74s				

<sup>a</sup> <sup>1</sup>H NMR podaci dobijeni snimanjem metanolne frakcije dihlormetanskog ekstrakta podzemnih organa *H. ternatum*.

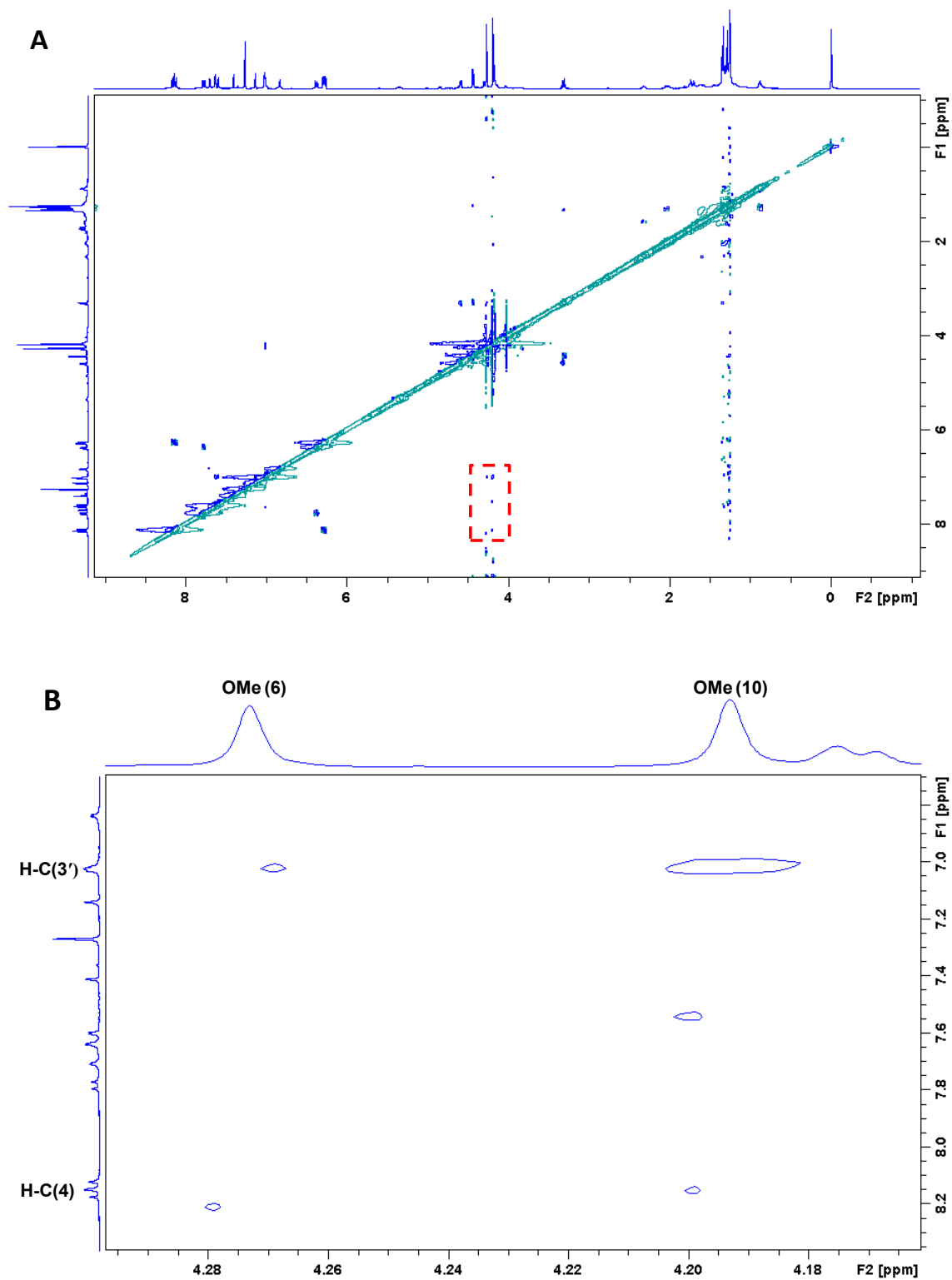
<sup>b</sup> <sup>1</sup>H NMR podaci dobijeni snimanjem metanolne frakcije kristalnog taloga dihlormetanskog ekstrakta ploda *H. ternatum*.

<sup>c</sup> <sup>1</sup>H NMR podaci dobijeni snimanjem metanolne frakcije kristalnog taloga dihlormetanskog ekstrakta ploda *H. sphondylium*.

<sup>d</sup> s - Singlet, d - dublet, t - triplet, m - multiplet.

<sup>e</sup> Vrednosti konstante kuplovanja (*J*) izražene u Hz.

<sup>f</sup> Podatak nije dostupan.



**Slika 36.** ROESY NMR spektar metanolne frakcije kristalnog taloga dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. ternatum* (**A**) i njegov uvećan deo u kome je vidljiva korelacija H-C(3') i H-C(4) bergaptena (**6**) i biakangelikola (**10**) sa vodoncima metoksi grupa ova dva jedinjenja (**B**)

## 2.2. Kvantitativna analiza furanokumarina i statistička obrada podataka

Suvi dihlormetanski ekstrakti podzemnih organa osam ispitivanih taksona iz sekcije *Heracleum* bili su kvalitativno i kvantitativno vrlo slični (**Tabela 18**). Dominantan furanokumarin u ovim ekstraktima bio je pimpinelin (206,60-273,95 mg/g suvog dihlormetanskog ekstrakta), a sledili su ga izopimpinelin (70,57-119,45 mg/g), sfondin (43,35-93,14 mg/g), bergapten (35,53-71,80 mg/g) i izobergapten (35,01-58,19 mg/g). Ksantotoksin je takođe bio prisutan u svim ekstraktima, ali u značajno manjoj količini (1,52-17,78 mg/g), dok je imperatorin bio prisutan u pet ekstrakata, u svim u maloj količini, osim u ekstraktu *H. sphondylium* (28,30 mg/g). Od ostalih furanokumarina, i to u malim količinama (od 0,30 do 4,16 mg/g), bili su zastupljeni: heraklenol u ekstraktima *H. sibiricum* i *H. ternatum*, heraklenin u ekstraktima *H. sphondylium* i *H. ternatum*, biakangelikol u ekstraktu *H. sphondylium* i felopterin ekstraktima *H. sphondylium*, *H. verticillatum* i *H. orphanidis*.

Ekstrakt podzemnih organa *H. austriacum* subsp. *siifolium*, jedinog ispitivanog predstavnika sekcije *Wendia*, značajno se razlikovao od ekstrakata podzemnih organa predstavnika sekcije *Heracleum*, pre svega po niskom sadržaju ukupnih furanokumarina (svega 15,38 mg/g), među kojima je dominantan bio ksantotoksin (6,36 mg/g) (**Tabela 18**).

Kristalni talozi dihlormetanskih ekstrakata plodova *H. sphondylium*, *H. sibiricum*, *H. montanum*, *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* bili su kvalitativno i kvantitativno veoma slični, a u odnosu na ekstrakte njihovih podzemnih organa značajno različiti (**Tabela 19**). U svakom od kristalnih taloga ovih taksona detektovano je svih 12 ispitivanih furanokumarina, a kao dominantni izdvojili su se biakangelikol (51,83-104,26 mg/g kristalnog taloga), bergapten (70,34-97,86 mg/g) i heraklenin (25,47-87,33 mg/g). Sa druge strane, u kristalnom talogu *H. verticillatum* detektovano je devet, a u slučaju *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium* po sedam furanokumarina (**Tabela 19**). Ovi ekstrakti su kvalitativno bili slični ekstraktima njihovih podzemnih organa uz značajne kvantitativne razlike. Dominantan kod *H. verticillatum* bio je imperatorin (169,56 mg/g), a kod *H. orphanidis* bergapten (84,93 mg/g). U kristalnom talogu dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. austriacum* subsp. *siifolium* takođe je bio dominantan imperatorin (19,68 mg/g), uz značajno manju količinu ukupnih furanokumarina (44,31 mg/g), kao što je to bilo i u slučaju dihlormetanskog ekstrakta njegovih podzemnih organa.

**Tabela 18.** Sadržaj furanokumarina suvih dihlorometanskih ekstrakata podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* (mg/g)

No	Jedinjenje <sup>a</sup>	sph <sup>b</sup>	sib	mon	ter	pol	ors	ver	orp	aus
1	Heraklenol <sup>c</sup>	- <sup>e</sup>	4,16±0,01	-	2,54±0,01	-	-	-	-	-
3	Sfondin <sup>c</sup>	62,69±0,02	93,14±0,17	54,89±0,54	60,04±0,28	87,60±0,20	46,40±0,20	51,34±1,34	43,35±0,26	2,05±0,02
4	Ksantotoksin	7,19±0,02	17,78±0,05	3,02±0,02	5,07±0,01	1,52±0,05	4,68±0,03	6,12±0,15	6,54±0,03	6,36±0,04
5	Izopimpinelin	119,45±0,22	88,87±0,14	73,04±0,74	112,63±0,51	100,41±0,27	74,58±0,33	102,51±2,66	70,57±0,42	0,93±0,01
6	Bergapten	55,77±0,07	44,19±0,07	58,69±0,48	53,78±0,34	71,80±0,21	35,53±0,14	35,56±0,85	48,78±0,33	0,92±0,01
7	Heraklenin <sup>c</sup>	2,11±0,01	-	-	1,45±0,14	-	-	-	-	-
8	Pimpinelin <sup>c</sup>	266,86±0,52	236,20±0,27	231,86±0,90	273,95±0,98	246,08±0,71	206,60±0,81	221,07±4,89	216,22±1,06	3,07±0,02
9	Izobergapten	58,19±0,08	55,18±0,07	49,21±0,30	56,63±0,42	58,16±0,15	40,22±0,19	35,01±0,91	36,97±0,16	-
10	Biakangelikol <sup>d</sup>	0,71±0,00	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Imperatorin	28,30±0,02	3,45±0,01	-	0,99±0,04	-	-	2,78±0,05	1,06±0,01	1,59±0,02
12	Felopterin <sup>d</sup>	0,30±0,01	-	-	-	-	-	0,89±0,02	1,01±0,00	0,46±0,01
	Ukupno	601,55	542,97	470,72	567,08	565,57	408,01	455,28	424,50	15,38

<sup>a</sup> Rezultati su izraženi kao srednje vrednosti tri analize ± standardna devijacija (SD).

<sup>b</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib** - *H. sibiricum*, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*, **orp** - *H. orphanidis*, **aus** - *H. austriacum* subsp. *siifolium*.

<sup>c</sup> Računato kao ksantotoksin.

<sup>d</sup> Računato kao izopimpinelin.

<sup>e</sup> Nije detektovano.

**Tabela 19.** Sadržaj furanokumarina kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* (mg/g)

No	Jedinjenje <sup>a</sup>	sph <sup>b</sup>	sib	mon	ter	pol	ors	ver	orp	aus
1	Heraklenol <sup>c</sup>	12,32±0,04	8,61±0,05	3,03±0,05	14,63±0,17	10,11±0,02	18,00±0,01	- <sup>e</sup>	-	-
2	Biakangelicin <sup>d</sup>	28,31±0,11	11,36±0,07	14,62±0,16	20,61±0,24	23,05±0,10	19,80±0,05	-	-	-
3	Sfondin <sup>c</sup>	0,14±0,01	0,48±0,00	1,76±0,03	0,70±0,01	0,46±0,00	0,35±0,00	5,46±0,01	-	1,87±0,13
4	Ksantotoksin	2,04±0,01	1,34±0,01	2,11±0,02	7,56±0,10	14,62±0,01	2,08±0,01	8,33±0,01	42,16±0,69	8,55±0,48
5	Izopimpinelin	1,55±0,01	6,43±0,03	1,63±0,02	16,18±0,22	20,91±0,03	6,55±0,06	38,35±0,06	41,53±0,80	3,04±0,18
6	Bergapten	70,34±0,21	97,86±0,40	73,81±0,97	86,71±1,15	80,84±0,06	74,10±0,01	68,02±0,08	84,93±1,40	3,67±0,22
7	Heraklenin <sup>c</sup>	44,73±0,09	53,38±0,24	25,47±0,31	87,33±1,13	36,89±0,14	61,40±0,03	0,50±0,03	-	-
8	Pimpinelin <sup>c</sup>	2,09±0,04	2,91±0,08	5,73±0,09	4,42±0,10	3,60±0,25	2,84±0,00	50,57±0,05	2,33±0,05	4,11±0,14
9	Izobergapten	0,97±0,00	0,76±0,07	2,01±0,02	0,90±0,03	0,61±0,24	0,54±0,02	7,52±0,00	0,19±0,06	-
10	Biakangelikol <sup>d</sup>	68,53±0,21	66,61±0,23	80,67±1,09	104,26±1,28	65,45±0,06	51,83±0,04	-	-	-
11	Imperatorin	23,33±0,01	21,27±0,36	74,36±1,05	10,16±0,16	44,95±0,95	11,23±0,04	169,56±0,14	21,11±0,36	19,68±1,20
12	Felopterin <sup>d</sup>	11,67±0,03	14,69±0,07	10,22±0,14	15,87±0,21	22,90±0,00	8,82±0,05	12,12±0,01	1,44±0,02	3,39±0,22
	Ukupno	266,02	285,71	295,41	369,32	324,40	257,55	360,42	193,69	44,31

<sup>a</sup> Rezultati su izraženi kao srednje vrednosti tri analize ± standardna devijacija (SD).

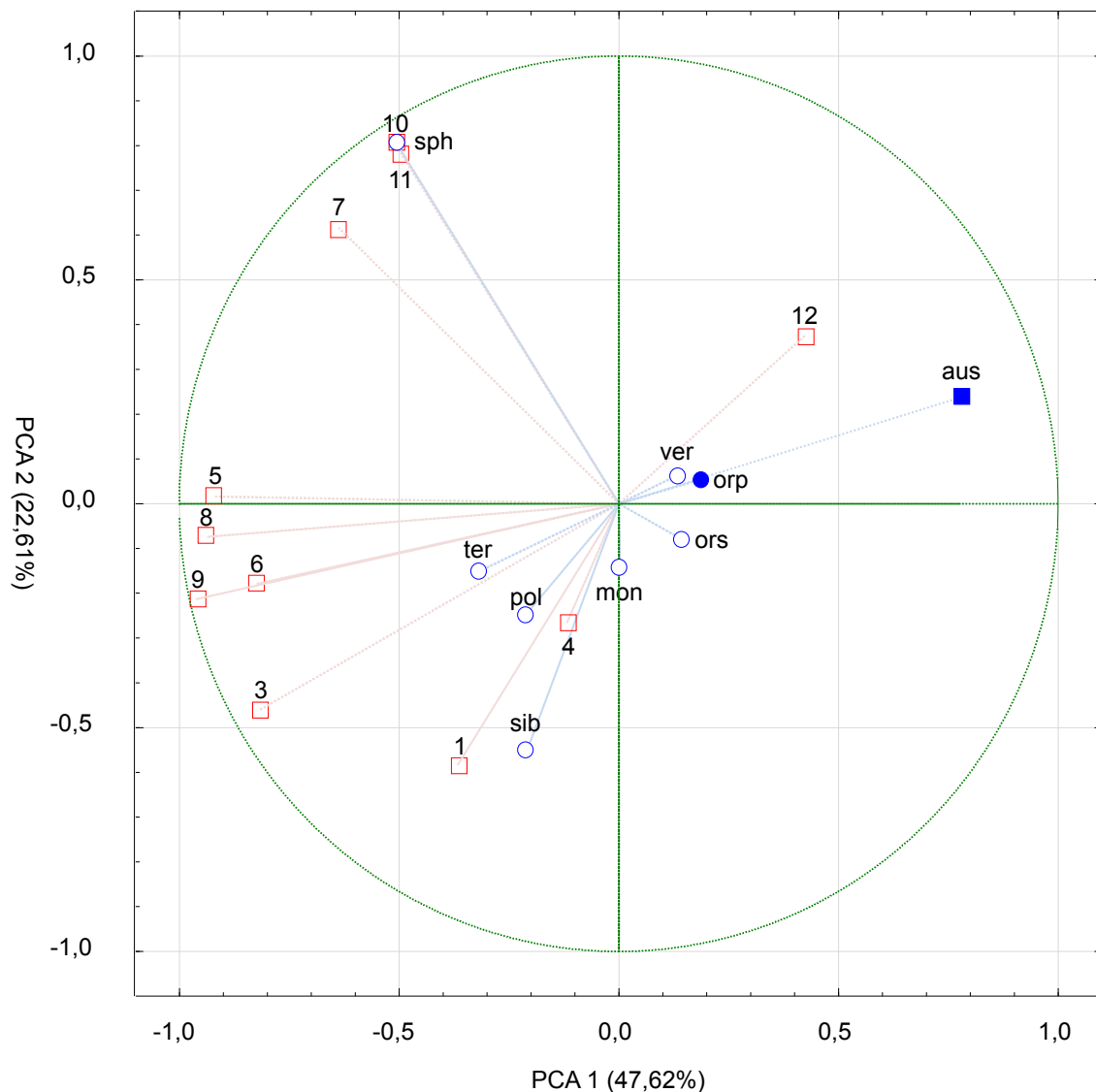
<sup>b</sup> skraćeno: **sph** - *H. sphondylium*, **sib** - *H. sibiricum*, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*, **orp** - *H. orphanidis*, **aus** - *H. austriacum* subsp. *siifolium*.

<sup>c</sup> Računato kao ksantotoksin.

<sup>d</sup> Računato kao izopimpinelin.

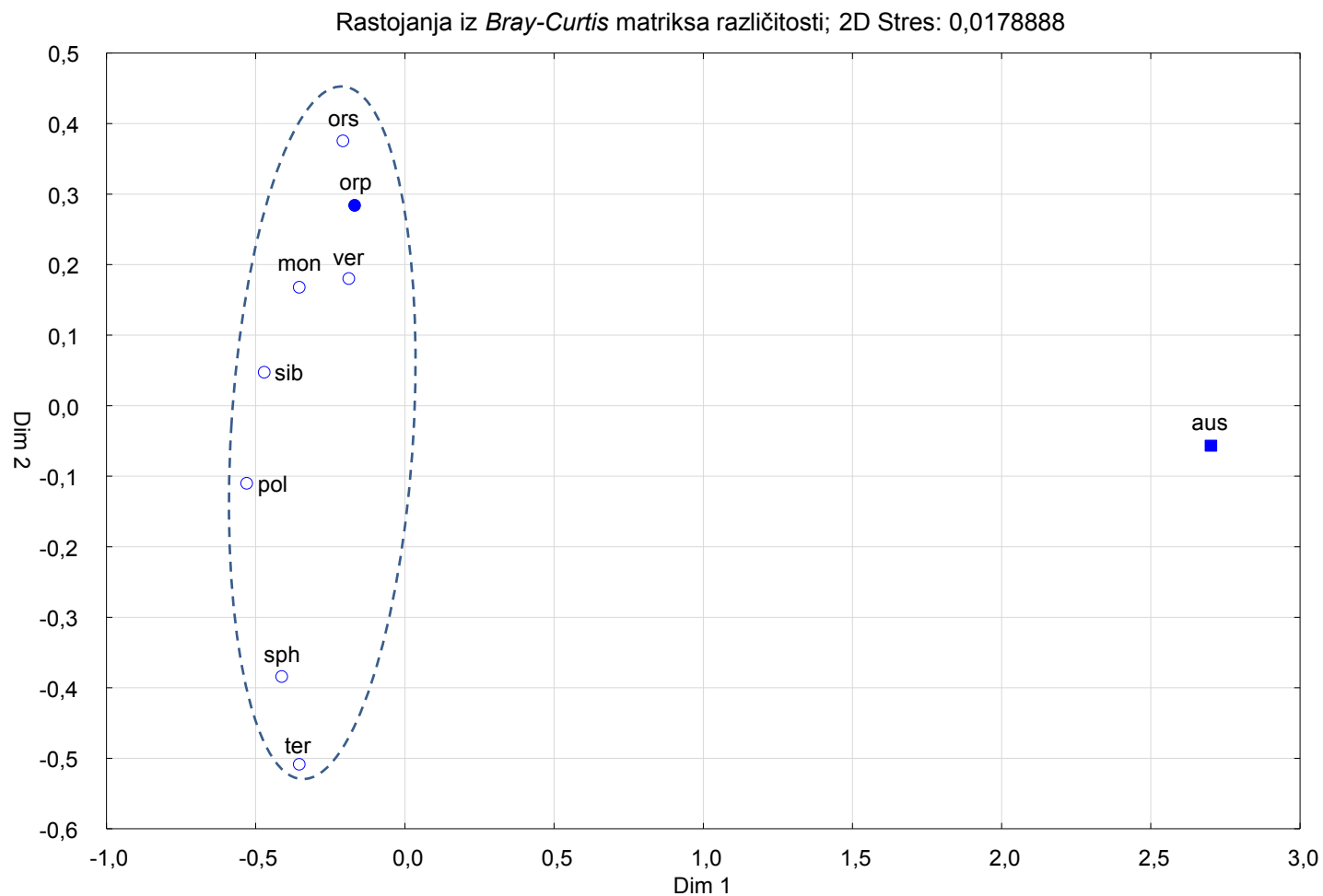
<sup>e</sup> Nije detektovano.

Navedene sličnosti i razlike potvrđene su PCA, 2D nMDS i UPGMA analizama (Slike 37-42) sastava furanokumarina suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa i kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova. U slučaju furanokumarina podzemnih organa, *H. austriacum* subsp. *siifolium* je bio jasno odvojen od ispitivanih predstavnika sekcije *Heracleum*. U slučaju furanokumarina plodova, pored odvajanja *H. austriacum*, došlo je i do odvajanja *H. orphanidis* od predstavnika grupe *H. sphondylium*, ali i izdvajanja *H. verticillatum* u okviru ove grupe. PCA analiza furanokumarina podzemnih organa pokazala je da su razdvajanju po prvoj glavnoj osi, koja objašnjava najveći procenat varijacije (47,62%), prevashodno doprineli dominantni furanokumarini ispitivanih predstavnika sekcije *Heracleum*, tj. izobergaptin (-0,96), pimpinelin (-0,93), izopimpinelin (-0,92), bergaptin (-0,83) i sfondin (-0,82), sa visokim negativnim opterećenjima faktora. PCA analiza furanokumarina plodova pokazala je da su razdvajanju taksona najviše doprineli furanokumarini koji nisu detektovani i/ili su bili prisutni u malim količinama u plodovima *H. verticillatum*, *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Naime, heraklenin (-0,98), biakangelicin (-0,96), heraklenol (-0,96) i biakangelikol (-0,94) sa visokim negativnim opterećenjima faktora, i sfondin (0,85) sa visokim pozitivnim opterećenjem faktora, su značajno doprineli razdvajanju po prvoj glavnoj osi (koja objašnjava 52,32% varijacije), a izobergaptin (0,90) sa visokim pozitivnim opterećenjem faktora, po drugoj glavnoj osi (koja objašnjava 24,25% varijacije).

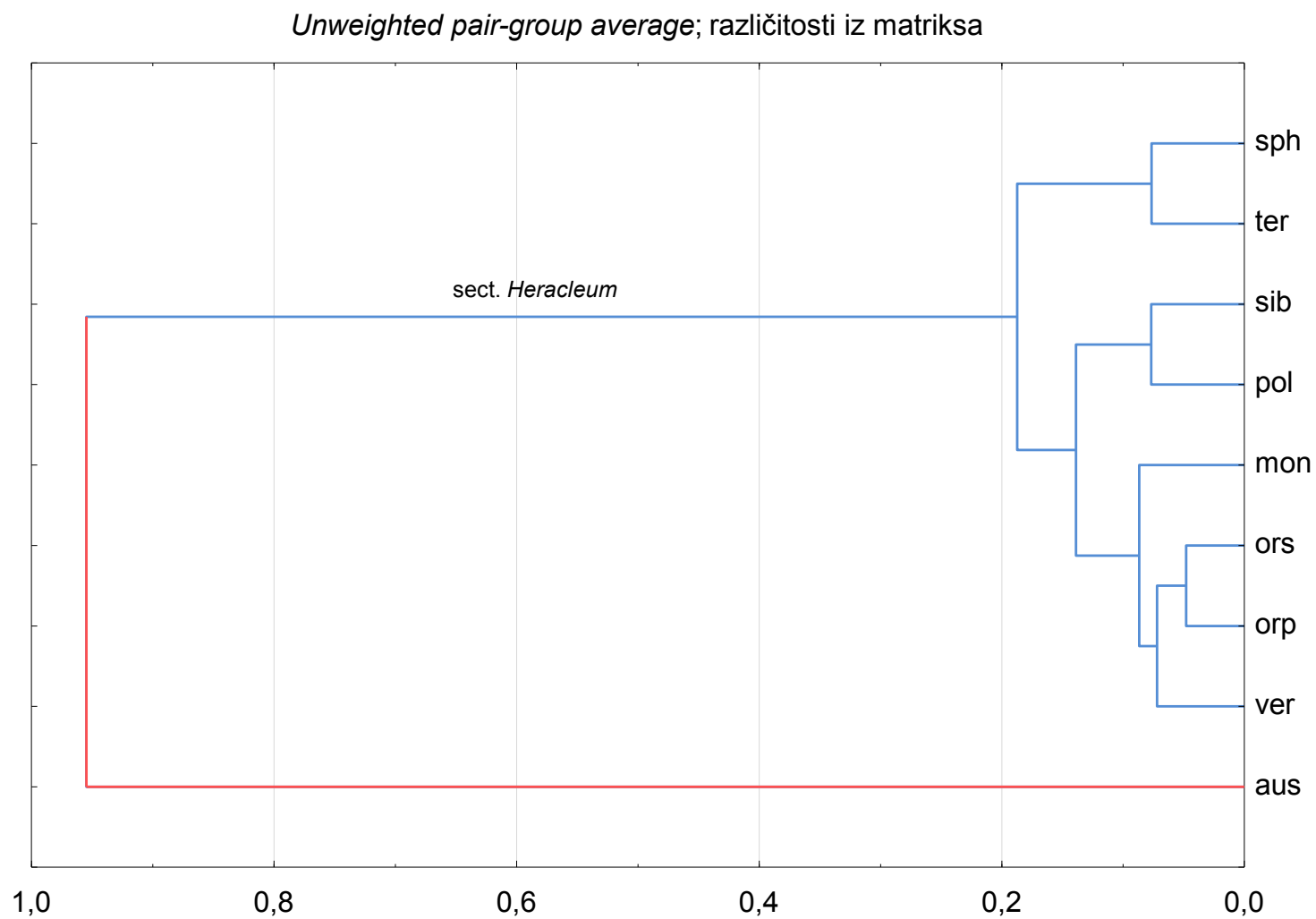


**Slika 37.** PCA analiza furanokumarina suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 18**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Numeracija furanokumarina (prazni kvadrati) je objašnjena u **Tabeli 16**.

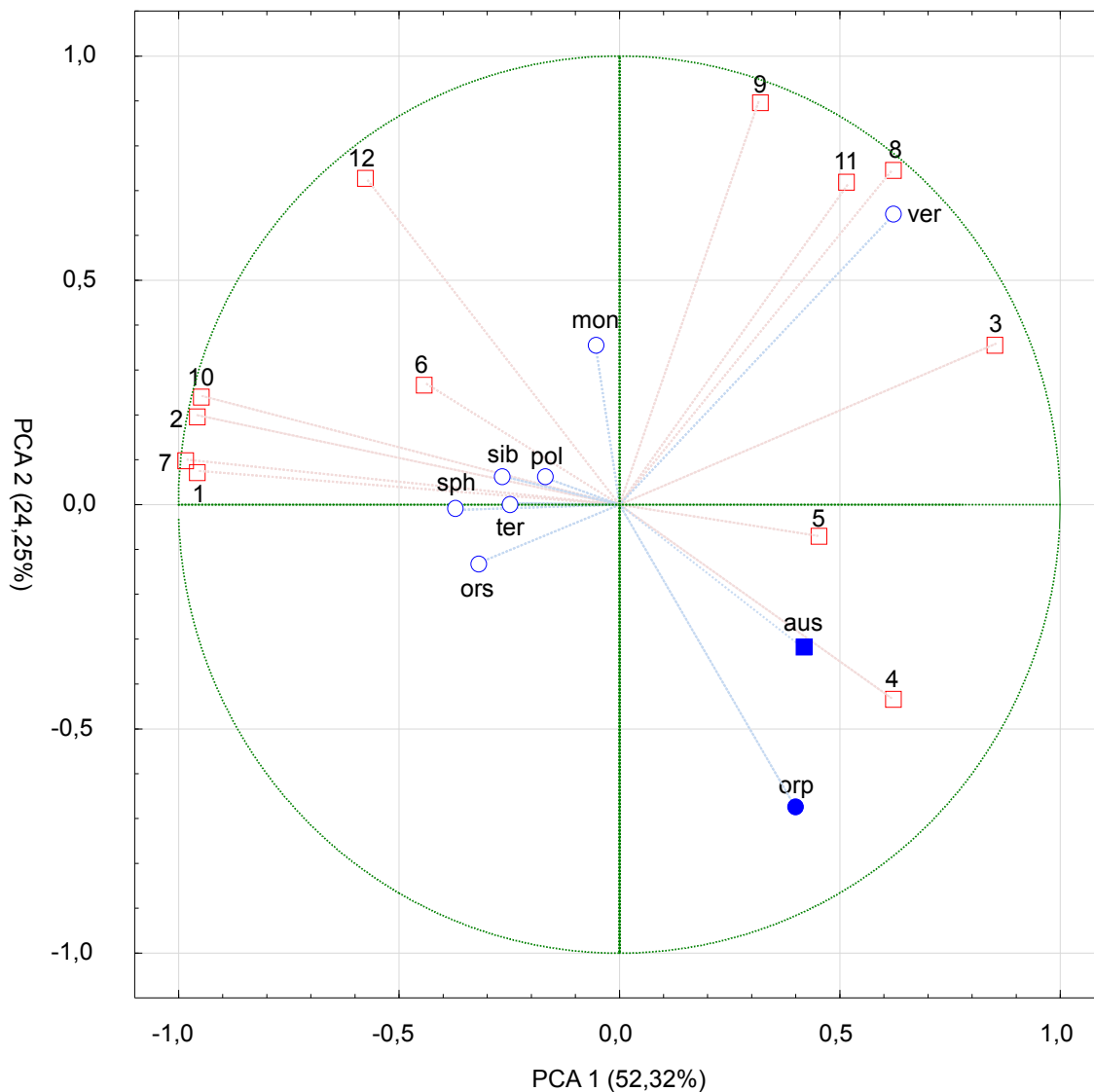




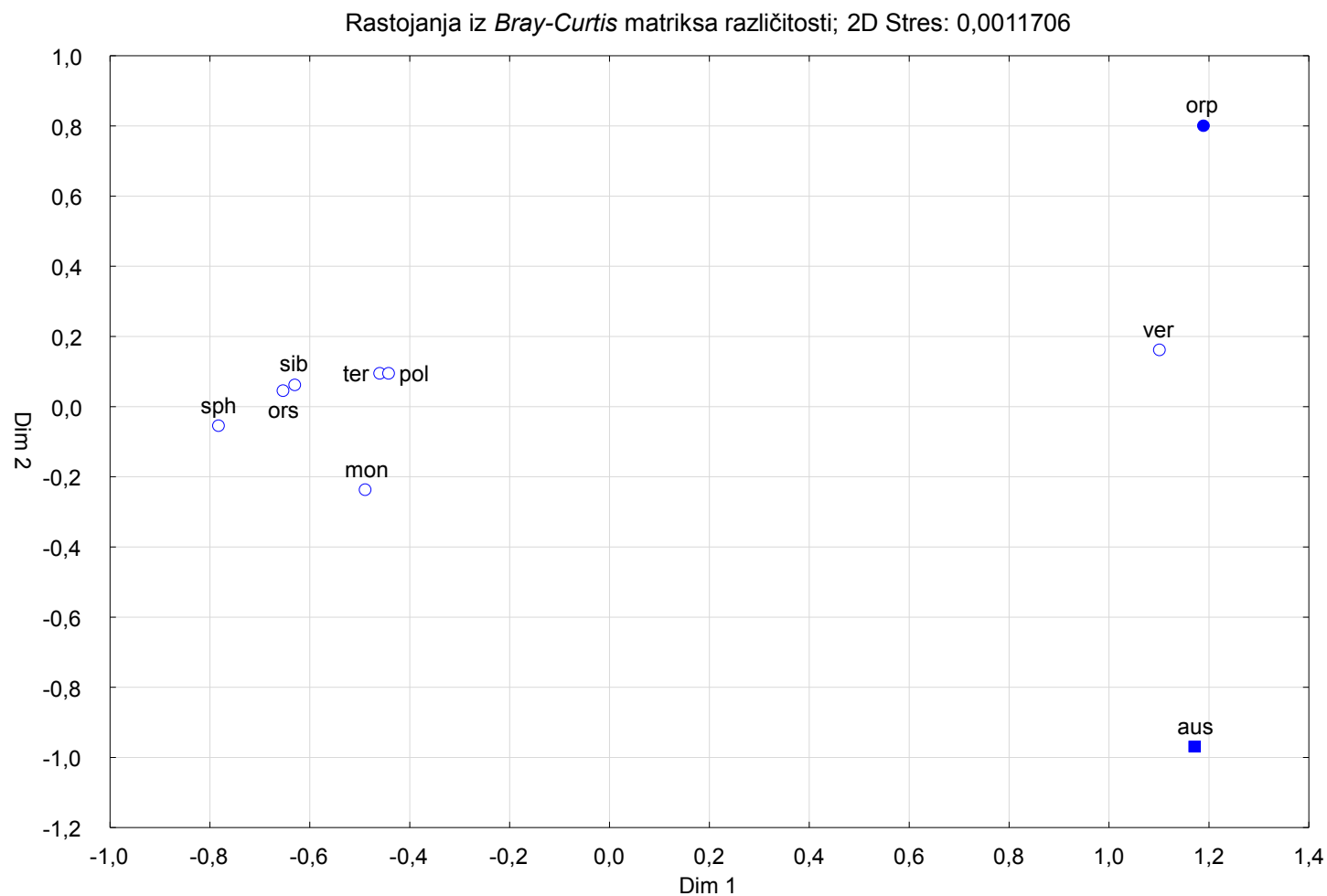
**Slika 38.** 2D nMDS analiza furanokumarina suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 18**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Isprekidanom linijom su obuhvaćeni taksoni sekcije *Heracleum*.



**Slika 39.** UPGMA analiza furanokumarina suvih dihlormetanskih ekstrakata podzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 18**.

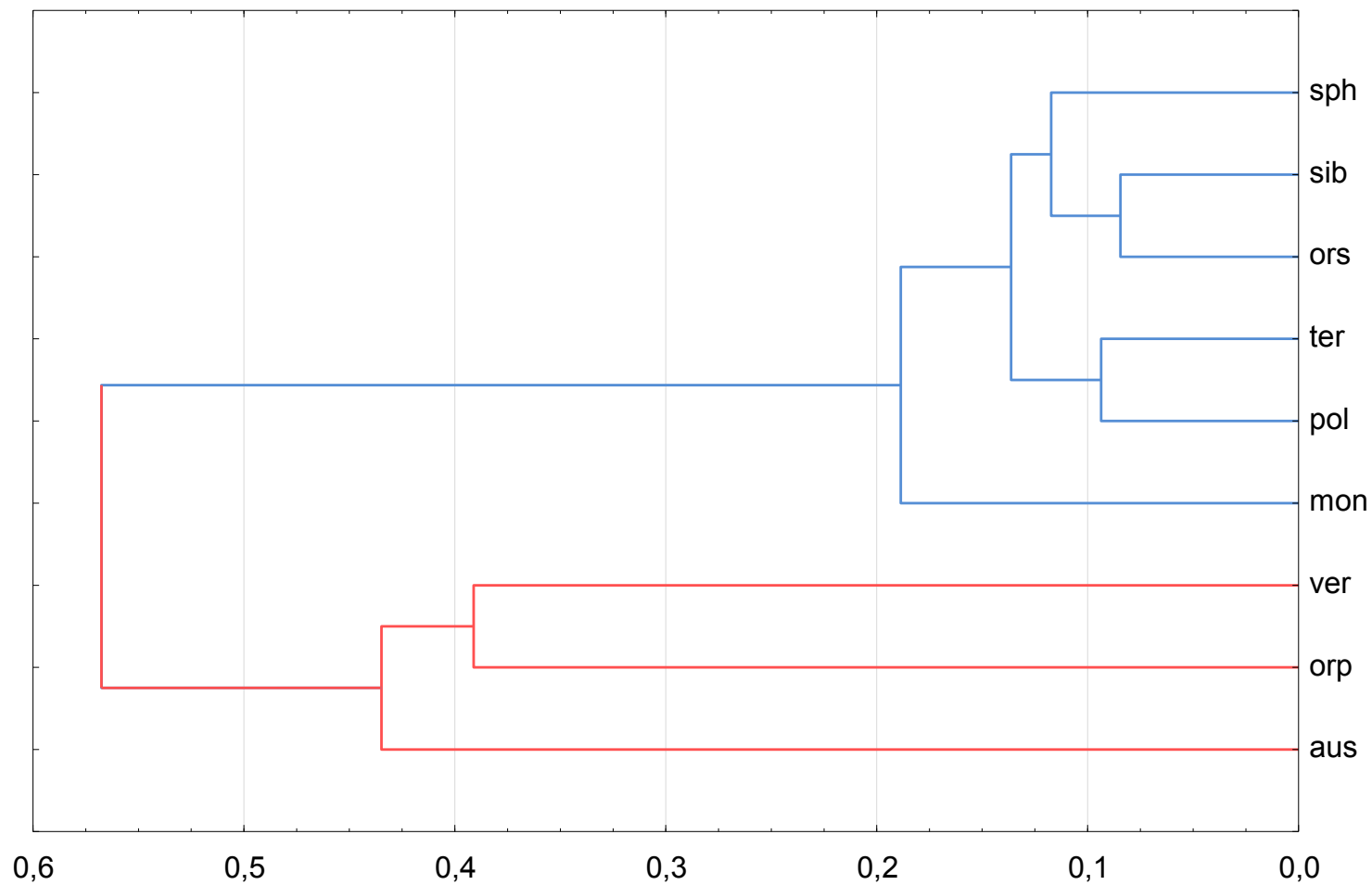


**Slika 40.** PCA analiza furanokumarina kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 19**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*. Numeracija furanokumarina (prazni kvadrati) je objašnjena u **Tabeli 16**.



**Slika 41.** 2D nMDS analiza furanokumarina kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 19**. Krug označava takson iz sekcije *Heracleum*, prazan krug takson iz grupe *H. sphondylium*, obojeni krug *H. orphanidis*, a obojeni kvadrat *H. austriacum* subsp. *siifolium*.

Unweighted pair-group average; različitosti iz matriksa



**Slika 42.** UPGMA analiza furanokumarina kristalnih taloga dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*. Skraćenice su objašnjene u **Tabeli 19**.

Svi furanokumarini identifikovani u okviru ove doktorske disertacije karakteristični su za biljke roda *Heracleum*. Rezultati dobijeni za furanokumarine korena i plodova *H. sphondylium* i *H. sibiricum* su u saglasnosti sa prethodno publikovanim literaturnim podacima (Bogucka-Kocka, 1999; Bogucka-Kocka i Krzaczek, 2003; Cieřla i sar., 2008; Erdelmeier i sar., 1985). Dodatno, u okviru ove doktorske disertacije, u podzemnim organima *H. sphondylium* identifikovani su heraklenin, biakangelikol, imperatorin i felopterin, u plodu *H. sphondylium* heraklenol, biakangelicin, sfondin, ksantotoksin, pimpinelin, izobergapten i imperatorin, u podzemnim organima *H. sibiricum* heraklenol, ksantotoksin, izobergapten i imperatorin, a u plodu *H. sibiricum* heraklenol, sfondin, pimpinelin i izobergapten. Dobijeni rezultati takođe potvrđuju prisustvo prethodno tentativno (LC-MS metodom) identifikovanih sfondina, ksantotoksina, izopimpinolina, bergaptena, pimpinelina, izobergaptena, imperatorina i felopterina u korenu *H. orphanidis* (Mileski i sar., 2016), kao i preliminarno (tankoslojnom hromatografijom) identifikovanih furanokumarina *H. verticillatum* (sfondina, izopimpinolina, bergaptena, pimpinelina i izobergaptena u korenu, i izopimpinolina, bergaptena i pimpinelina u plodovima) i *H. montanum* (bergaptena u korenu, i ksantotoksina i bergaptena u plodovima) (Ognyanov i sar., 1966; Weimarck i Nilsson, 1980). Dodatno, u okviru ove doktorske disertacije identifikovana su još tri furanokumarina u korenu i šest u plodovima *H. verticillatum*, kao i pet u korenu i 10 u plodovima *H. montanum*.

U ovoj doktorskoj disertaciji po prvi put je izvrřena kvalitativna analiza furanokumarina u podzemnim organima i plodovima *H. austriacum* subsp. *siifolium* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, podzemnim organima *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, i plodovima *H. orphanidis*. Takođe, svi identifikovani furanokumarini kvantifikovani su u analiziranim izolatima svih devet ispitivanih taksona.

Taksoni roda *Heracleum* su značajan izvor ksantotoksina (8-MOP-a), koji se koristi u PUVA terapiji teških oblika psorijaze, vitiliga i drugih kožnih bolesti. Glavni komercijalni izvor ovog furanokumarina je koren vrste *H. candicans*, koja se gaji u Indiji (EMA/HMPC, 2007; Wakelin, 2013). Međutim, iako je ksantotoksin bio detektovan u podzemnim organima i plodovima svih ispitivanih vrsta, ni u jednom ekstraktu nije bio prisutan u većoj količini. Sa druge strane, ustanovljeno je da podzemni organi i plodovi ispitivanih taksona sekcije *Heracleum* predstavljaju značajan

izvor bergaptena, koji se može koristiti kao zamena za ksantotoksin u PUVA terapiji (Ling i sar., 2016).

Dodatno, za pojedine furanokumarine identifikovane u ispitivanim taksonima, prvenstveno *in vitro*, ali i *in vivo*, demonstrirane su različite farmakološke aktivnosti, kao što su antibakterijska i antifungalna za ksantotoksin, bergapten, pimpinelin, imperatorin i felopterin (Walasek i sar., 2015), antivirusna za imperatorin (Venugopala i sar., 2013), antituberkulozna za sfondin, bergapten, izobergapten, pimpinelin i izopimpinelin (O'Neill i sar., 2013), antimalarična za izopimpinelin (Wangchuk i sar., 2014), citotoksična na ćelijske linije humanih tumora u odsustvu UVA zračenja za ksantotoksin, bergapten, izopimpinelin i imperatorin, i uz UVA zračenje za sfondin, ksantotoksin, bergapten, izobergapten, biakangelicin i felopterin (Sumiyoshi i sar., 2014; Yang i sar., 2003), antitumorska na miševima za ksantotoksin (bez UVA zračenja) i ksantotoksin, bergapten, biakangelicin i felopterin (uz UVA zračenje) (Iyer i Patil, 2014; Sumiyoshi i sar., 2014), larvicidna za ksantotoksin, bergapten, izopimpinelin i imperatorin (Wang i sar., 2012), antiinflamatorna *in vitro* na LPS stimulisanim makrofagima za sfondin, ksantotoksin, bergapten, izobergapten, pimpinelin, izopimpinelin, biakangelikol i imperatorin, i *in vivo* na uhu miša za imperatorin (Wang i sar., 2000; Yang i sar., 2015; Zhang i sar., 2017a), antikonvulzivna za ksantotoksin, bergapten, izobergapten, izopimpinelin, biakangelikol i imperatorin (Łuszczki i sar., 2010; Tosun i sar., 2008), spazmolitička na izolovanom jejunumu pacova za bergapten i izolovanoj torakalnoj aorti miša za imperatorin (Nie i sar., 2009; Skalicka-Woźniak i sar., 2016), antioksidantna za sfondin, ksantotoksin, bergapten, izobergapten, pimpinelin i izopimpinelin (Dehghan i sar., 2017), antiholinesterazna za sfondin, ksantotoksin, bergapten, pimpinelin, izopimpinelin i biakangelicin (Dincel i sar., 2013), MAO inhibitorna za ksantotoksin i bergapten (Huong i sar., 1999), anti- $\alpha$ -glukozidazna za sfondin, ksantotoksin, bergapten, izobergapten, pimpinelin i izopimpinelin (Dehghan i sar., 2017), hipolipidemička za ksantotoksin (Iyer i Patil, 2014), i hepatoprotektivna i osteoprotektivna za bergapten i imperatorin (Chlouchi i sar., 2007; Shin i sar., 2011; Tang i sar., 2008). Može se zaključiti da upravo prisustvom ovih furanokumarina bi mogla da se objasni tradicionalna primena mečje šape i srodnih taksona u lečenju mnogih oboljenja digestivnog i respiratornog trakta, kardiovaskularnog sistema, centralnog nervnog sistema i kože.

### 3. Kvalitativna i kvantitativna analiza masnih kiselina, sterola i triterpena dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*

#### 3.1. Masne kiseline

Masne kiseline identifikovane u uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata plodova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum*, uključujući i njihove količine određene metodom normalizacije površina, prikazane su u **Tabeli 20**. Dominantne su bile mononezasićene masne kiseline (57,8-70,3%), prvenstveno petroselinska (42,8-56,5%) i oleinska (12,3-13,7%), a sledila je polinezasićena linolna kiselina (20,3-33,3%). Količina petroselinske kiseline takođe je određena metodom eksternog standarda i iznosila je 348,1±0,5 mg/g uljastog supernatanta *H. sphondylium*, 298,8±0,7 mg/g uljastog supernatanta *H. sibiricum*, 340,1±1,7 mg/g uljastog supernatanta *H. montanum*, 374,2±10,0 mg/g uljastog supernatanta *H. ternatum*, 355,4±12,2 mg/g uljastog supernatanta *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, 375,8±7,1 mg/g uljastog supernatanta *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, 433,4±1,1 mg/g uljastog supernatanta *H. verticillatum* i 420,0±10,6 mg/g uljastog supernatanta *H. orphanidis*.

Glavni komercijalni izvor petroselinske kiseline su biljke familije Apiaceae. Ova masna kiselina je bila najzastupljenija u ukupnom ekstraktu lipida plodova kima, *Carum carvi* L. (29,5-31,1%) (Laribi i sar., 2013) i korijandra, *Coriandrum sativum* L. (76,6%) (Sriti i sar., 2010). Petroselinska kiselina se koristi kao sirovina u različitim granama industrije. U hemijskoj industriji, podvrgava se oksidativnoj razgradnji u cilju dobijanja mešavine adipinske i laurinske kiseline. Adipinska kiselina se koristi u sintezi jedne vrste najlona, dok je laurinska kiselina sirovina u proizvodnji omekšivača, emulgatora, deterdženata i sapuna (Laribi i sar., 2013). Fermentacijom petroselinske kiseline dobijeni su ekološki prihvatljivi surfaktanti soforolipidi (Delbeke i sar., 2016). Ova masna kiselina ulazi i u sastav kozmetičkih proizvoda pošto dovodi do hidratacije kože i ima „anti-age“ svojstva, a takođe umanjuje iritaciju kože u formulacijama koje sadrže  $\alpha$ -hidroksi kiseline (Alaluf i sar., 1999; Barrett i sar., 2002; Delbeke i sar., 2016; Weinkauff i sar., 2000). Petroselinska kiselina je takođe potencijalno značajna sirovina za farmaceutsku i prehrambenu industriju. Naime, prethodno je pokazano da ova masna kiselina deluje antiinflamatorno, pošto inhibira stvaranje metabolita arahidonske kiseline i/ili smanjuje formiranje intracelularnih adhezionih molekula (Alaluf i sar.,



2002). Dodatno, afinitet pankreasnih lipaza za trigliceride koji sadrže petroselinu je znatno manji u odnosu na trigliceride koji sadrže oleinsku kiselinu. Zato bi trigliceridi sa inkorporiranom petroselinskom kiselinom mogli da budu komponenta ishrane koja ima za posledicu nisku resorpciju masnih kiselina iz digestivnog trakta (Delbeke i sar., 2016; Heimermann i sar., 1973).

Od polinezasićenih masnih kiselina, u uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata osam ispitivanih taksona roda *Heracleum*, identifikovane su linolna i  $\alpha$ -linolenska kiselina. Oni su jedine poznate esencijalne masne kiseline, tj. ne mogu da se sintetišu u ljudskom organizmu. Usled efekata na koncentraciju lipoproteina, fluidnost ćelijske membrane, funkcije membranskih enzima i receptora, modulaciju sinteze eikozanoida, regulaciju krvnog pritiska i metabolizma minerala, esencijalne masne kiseline imaju antiaterogene i antitrombotičke osobine (Tvrzicka i sar., 2011).

Rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije su u skladu sa prethodno dobijenim nalazima (Kleiman i Spencer, 1982). Naime, petroselinska (47,4-56,3%), linolna (24,6-31,7%) i oleinska (12,2-14,4%) kiselina su takođe bile dominantne u masnim uljima plodova nekoliko taksona roda *Heracleum*, uključujući *H. sphondylium* (iz Turske), *H. sibiricum* (iz Mađarske), *H. montanum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (oba taksona sakupljena na teritoriji bivše Jugoslavije) (Kleiman i Spencer, 1982). Međutim, u uljastim supernatantima dihlormetanskih ekstrakata plodova ovih taksona u okviru ove doktorske disertacije identifikovano je dodatno još po 12 masnih kiselina.

**Tabela 20.** Masne kiseline uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* (%)

Rt <sup>a</sup>	Masna kiselina <sup>b</sup>		sph <sup>c</sup>	sib	mon	ter	pol	ors	ver	orp
10,66	Kaprilna kiselina	C8:0	tr <sup>d</sup>	0,1±0,0 <sup>e</sup>	tr	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	-	-
12,46	Kaprinska kiselina	C10:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	-
15,13	Laurinska kiselina	C12:0	tr	0,1±0,0	tr	tr	tr	0,1±0,0	tr	0,1±0,0
18,40	Miristinska kiselina	C14:0	tr	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	tr	0,1±0,0
20,10	Pentadekanska kiselina	C15:0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0
21,81	Palmitinska kiselina	C16:0	5,1±0,1	6,4±0,0	5,3±0,0	5,1±0,2	5,3±0,1	5,4±0,3	4,4±0,0	5,5±0,4
22,95	Palmitoleinska kiselina	C16:1n7c	0,2±0,1	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0
23,47	Heptadekanska kiselina	C17:0	0,1±0,1	0,1±0,0	0,1±0,0	tr	0,1±0,0	tr	0,1±0,0	0,1±0,0
25,08	Stearinska kiselina	C18:0	1,8±0,1	1,5±0,0	1,4±0,0	1,7±0,0	1,4±0,0	1,5±0,0	1,1±0,0	1,6±0,1
25,97	Petroselinska kiselina	C18:1n12c	43,5±1,1	44,6±0,0	42,8±0,3	48,6±2,2	51,3±0,7	49,5±2,9	52,4±0,5	56,5±3,7
26,04	Oleinska kiselina	C18:1n9c	13,3±0,4	12,7±0,1	13,6±0,1	13,4±0,6	12,6±0,3	12,3±0,7	13,7±0,1	12,6±0,8
26,15	<i>cis</i> -Vakcenska kiselina	C18:1n7c	1,0±0,0	1,3±0,0	0,9±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	0,9±0,0	1,0±0,0	0,8±0,0
27,38	Linolna kiselina	C18:2n6c	32,1±0,8	30,0±0,0	33,3±0,5	27,4±1,2	25,8±0,3	27,7±1,5	25,3±0,3	20,3±1,2
28,11	Arahidinska kiselina	C20:0	0,7±0,1	0,7±0,2	0,4±0,1	0,7±0,0	0,6±0,0	0,5±0,0	0,3±0,1	0,4±0,1
28,88	$\alpha$ -Linolenska kiselina	C18:3n3	1,1±0,0	1,0±0,0	1,2±0,1	1,0±0,0	0,8±0,0	0,9±0,0	0,9±0,0	1,0±0,0
29,00	<i>cis</i> -11-Eikozenoinska kiselina	C20:1n9c	0,5±0,0	0,6±0,0	0,3±0,0	0,4±0,0	0,3±0,0	0,3±0,1	0,3±0,0	0,4±0,1
30,98	Behenska kiselina	C22:0	0,2±0,0	0,3±0,1	0,2±0,0	0,2±0,0	0,3±0,1	0,2±0,0	0,3±0,0	0,3±0,1
33,85	Lignocerinska kiselina	C24:0	0,2±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,1	0,2±0,0

<b>Rt<sup>a</sup></b>	<b>Masna kiselina<sup>b</sup></b>	<b>sph<sup>c</sup></b>	<b>sib</b>	<b>mon</b>	<b>ter</b>	<b>pol</b>	<b>ors</b>	<b>ver</b>	<b>orp</b>
	Zasićene masne kiseline	8,3	9,6	7,8	8,1	8,1	8,2	6,4	8,3
	Mononezasićene masne kiseline	58,6	59,4	57,8	63,5	65,3	63,2	67,4	70,3
	Polinezasićene masne kiseline	33,2	31,1	34,5	28,4	26,6	28,6	26,2	21,4
	Ukupno identifikovano masnih kiselina	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

<sup>a</sup> Rt - Retenciona vremena na HP-88 koloni (min).

<sup>b</sup> Masne kiseline analizirane kao metilestri (FAME).

<sup>c</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib** - *H. sibiricum*, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*, **orp** - *H. orphanidis*.

<sup>d</sup> tr - tragovi (<0,1%).

<sup>e</sup> Relativni udeo komponente u uljastom supernatantu. Rezultati su izraženi kao srednje vrednosti tri određivanja ± standardna devijacija (SD).

### 3.2. Steroli i triterpeni

Udeo detektovanih sterola i triterpena u nesaponifikovanim frakcijama uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova osam ispitivanih taksona roda *Heracleum* bio je  $73,3\pm 1,0\%$  (*H. sphondylium*),  $71,9\pm 0,5\%$  (*H. sibiricum*),  $65,3\pm 1,8\%$  (*H. montanum*),  $57,4\pm 0,8\%$  (*H. ternatum*),  $62,5\pm 0,9\%$  (*H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*),  $62,0\pm 1,0\%$  (*H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*),  $66,6\pm 1,1\%$  (*H. verticillatum*) i  $66,4\pm 0,7\%$  (*H. orphanidis*). Među njima, dominantni su bili fitosteroli ( $87,2-92,5\%$ ), prvenstveno  $\beta$ -sitosterol ( $44,9-56,9\%$ ), a po količini su ga sledili stigmasterol ( $15,7-25,0\%$ ),  $\Delta^7$ -stigmastenol ( $6,6-12,5\%$ ) i kampesterol ( $5,2-8,1\%$ ) (**Tabela 21**).

Povoljni efekti fitosterola na zdravlje ljudi su dobro poznati. Oni mogu da snize ukupni i LDL holesterol, smanje rizik od pojave nekih vrsta tumora, i doprinose lečenju bolesti prostate. Neki fitosteroli su takođe značajne sirovine u polusintezi različitih lekova sa steroidnim jezgrom (Rabrenović i sar., 2014; Sriti i sar., 2010). Prethodno,  $\beta$ -sitosterol je izolovan iz petroletarskog ekstrakta plodova *H. sphondylium* (Lawrie i sar., 1968), i iz etanolnog ekstrakta nadzemnih delova *H. pyrenaicum* (Gonzalez i sar., 1978), kao i iz različitih ekstrakata različitih delova i organa nekih drugih vrsta roda *Heracleum*, kao što je etanolni ekstrakt korena *H. canescens* (Razdan i sar., 1982). Sa druge strane, stigmasterol koji do sada nije detektovan u taksonima ispitivanim u okviru ove doktorske disertacije, izolovan je iz nekoliko drugih vrsta roda *Heracleum*, npr. iz petroletarskog ekstrakta nadzemnih delova *H. platytaenium* (Dincel i sar., 2013). Identifikacija ostalih sterola, kao i triterpena  $\alpha$ -amirina ( $0,8-6,0\%$ ) izvršena je u taksonima roda *Heracleum* u okviru ove doktorske disertacije po prvi put. Triterpenski alkoholi su uobičajne komponente nesaponifikovanih frakcija masnih ulja biljnog porekla, a  $\alpha$ -amirin je prethodno detektovan, npr. u maslinovom ulju, *Oleae oleum*, i ulju kukuruznih klica, *Maydis oleum* (Gelmini i sar., 2016; Lercker i Rodriguez-Estrada, 2000).

**Tabela 21.** Steroli i triterpeni nesaponifikovanih frakcija uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* (%)

Rt <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	Sterol/triterpen <sup>c</sup>	sph <sup>d</sup>	sib	mon	ter	pol	ors	ver	orp
78,34	3204	$\Delta^{5,7,9(11),22}$ -Ergostatetraenol	0,5±0,0 <sup>e</sup>	0,8±0,0	0,7±0,0	tr <sup>f</sup>	tr	0,4±0,0	0,1±0,0	tr
78,53	3214	Ergosterol	0,3±0,0	tr	0,6±0,0	tr	tr	tr	0,1±0,0	tr
79,63	3269	Kampesterol	7,0±0,2	6,5±0,1	8,1±0,1	5,7±0,1	5,2±0,1	5,6±0,0	6,9±0,1	5,8±0,1
80,30	3303	Stigmasterol	21,3±0,1	20,4±0,1	19,8±0,2	20,1±0,0	18,7±0,1	15,7±0,1	25,0±0,2	19,1±0,1
80,70	3321	$\Delta^{7,22}$ -Ergostadienol	0,5±0,1	1,2±0,1	0,8±0,1	0,1±0,0	0,2±0,0	0,4±0,1	0,4±0,1	0,2±0,1
80,80	3328	$\Delta^7$ -Kampesterol	0,1±0,0	0,1±0,1	0,1±0,0	tr	tr	tr	0,4±0,0	0,1±0,0
81,59	3366	$\beta$ -Sitosterol	48,9±0,1	54,2±0,4	56,0±3,4	55,2±0,2	56,9±0,3	54,5±0,2	44,9±0,1	53,6±0,1
82,32	3403	$\alpha$ -Amirin	1,2±0,1	0,8±0,1	1,9±0,1	2,6±0,0	2,1±0,1	6,0±0,1	1,0±0,1	3,1±0,0
82,65	3419	$\Delta^7$ -Stigmastenol	9,3±0,2	8,1±0,2	7,7±0,3	6,6±0,1	8,2±0,1	11,2±0,2	12,5±0,1	11,9±0,2
82,95	3432	$\Delta^7$ -Avenasterol	0,7±0,1	0,8±0,1	0,9±0,1	0,6±0,0	0,9±0,1	0,9±0,1	2,0±0,1	0,7±0,0
Ukupno identifikovanih sterola i triterpena			89,9	93,0	96,5	90,8	92,3	94,8	93,3	94,5

<sup>a</sup> Rt - Retenciona vremena na HP-5MS koloni (min). <sup>b</sup> RI - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub> n-alkane.

<sup>c</sup> Steroli/triterpeni analizirani kao trimetilsilil (TMS) derivati. <sup>d</sup> skraćenice: **sph** - *H. sphondylium*, **sib** - *H. sibiricum*, **mon** - *H. montanum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*, **orp** - *H. orphanidis*.

<sup>e</sup> Relativni udeo komponente u nesaponifikovanoj frakciji. Rezultati su izraženi kao srednje vrednosti tri određivanja ± standardna devijacija (SD). <sup>f</sup> tr - tragovi (<0,1%).

#### 4. Farmakološka aktivnost etarskih ulja ispitivanih taksona roda *Heracleum*

##### 4.1. Antimikrobna aktivnost

Antimikrobna aktivnost odabranih 30 etarskih ulja izolovanih iz podzemnih i nadzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* testirana je mikrodilucionom metodom na po osam sojeva patogenih bakterija i mikromiceta (plesni), uključujući i kliničke izolate *Bacillus cereus*, *Enterobacter cloacae* i *Aspergillus fumigatus*, kao i izolat iz hrane *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*.

Ispitivane bakterije *Staphylococcus aureus*, *B. cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* i *Escherichia coli* poznati su kontaminanti hrane. *Staphylococcus aureus* i *B. cereus* izazivaju trovanje hranom kao posledicu unosa bakterijskih toksina, a *L. monocytogenes* i *S. typhimurium* infekciju hranom. Neki sojevi *E. coli* uzrokuju toksikoinfekcije, tj. i trovanje i infekcije hranom. Dodatno, *E. coli* je izazivač urinarnih infekcija, a *S. aureus* respiratornih, urinarnih, kao i infekcija kože i očiju. Ove dve bakterije su uz *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter cloacae* uzročnici bolničkih infekcija. *Pseudomonas aeruginosa* izaziva urinarne infekcije kod pacijenata kojima je ugrađen urinarni kateter, pneumoniju kod pacijenata na aspiratorima, kao i infekcije pacijenata sa opekotinama i drugim ranama, dok je *E. cloacae* bio uzrok infekcije pacijenata na hemodijalizi (Pommerville, 2011).

Ispitivane plesni rodova *Aspergillus* i *Penicillium* takođe su poznati kontaminanti hrane i mogu da luče potencijalno kancerogene mikotoksine. Na primer, *A. ochraceus*, *A. niger* i *P. verrucosum* produkuju ohratoksin A, koji deluje nefrotoksično, hepatotoksično, teratogeno i imunosupresivno (Basílico i Basílico, 1999; Bayman i sar., 2002). Dodatno, *A. versicolor*, često prisutan u starim kućama i stanovima sa velikom vlagom, sintetiše nefrotoksičan, hepatotoksičan i kancerogen mikotoksin sterigmatocistin (Engelhart i sar., 2002). Pored toga, *A. fumigatus* može da izazove često fatalnu invazivnu aspergilozu kod pacijenata sa oslabljenim imunskim sistemom (Pommerville, 2011). Pojedine vrste roda *Trichoderma* produkuju mikotoksine iz grupe trikotecena koji mogu da uzrokuju mučninu, povraćanje krvi i dijareju (Wickel i sar., 2013), a neke od njih mogu i da izazovu respiratorne infekcije, kao i peritonitis kod imunokompromitovanih pacijenata na peritonealnoj dijalizi (De Miguel i sar., 2005).

Antimikrobna aktivnost prema navedenim bakterijama i mikromicetama ustanovljena je za sva ispitivana etarska ulja taksona roda *Heracleum*, u pojedinim slučajevima u koncentracijama ulja nižim ili približnim 0,10 mg/mL, što se smatra interesantnom aktivnošću za dalje istraživanje (Ríos i Recio, 2005) (**Tabela 22 i 23**).

Najbolja antibakterijska aktivnost demonstrirana je za etarsko ulje podzemnih organa *H. orphanidis*, a slede ga sva ispitivana etarska ulja *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*. Navedena etarska ulja pokazala su snažnu aktivnost na širokom spektru ispitivanih bakterija. Etarsko ulje podzemnih organa *H. orphanidis* ispoljilo je bolju antibakterijsku aktivnost (MIK=0,02-0,15 mg/mL; MBK=0,04-0,30 mg/mL) u odnosu na testirane antibiotike streptomycin i ampicilin, osim u slučaju *L. monocytogenes*. Što se tiče etarskih ulja *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, značajna je pre svega bila njihova aktivnost na testirane Gram-pozitivne bakterije (osim na *L. monocytogenes*) (MIK=0,02-0,15 mg/mL; MBK=0,04-0,30 mg/mL), koja je bila uporediva ili čak bolja od pozitivnih kontrola. Dodatno, za etarska ulja podzemnih organa i plodova ovog taksona, efekat uporediv sa antibioticima, demonstriran je i na Gram-negativne bakterije (osim na *S. typhimurium*), a za ulja listova i cvasti prema *E. cloacae* (MIK=0,15-0,45 mg/mL; MBK=0,30-0,60 mg/mL).

Značajnu antibakterijsku aktivnost, uporedivu sa testiranim antibioticima, ispoljilo je i etarsko ulje cvasti *H. montanum* prema svim ispitivanim bakterijama (osim *L. monocytogenes* i *P. aeruginosa*) (MIK=0,10-0,40 mg/mL; MBK=0,13-1,00 mg/mL), i ulje cvasti *H. sphondylium* na ispitivane Gram-negativne bakterije (MIK=0,12-0,40 mg/mL; MBK=0,15-1,00 mg/mL). Što se tiče ostalih etarskih ulja, ovakav efekat je zabeležen samo u pojedinim slučajevima i to za ulja izolovana iz podzemnih organa ispitivanih taksona, *H. sphondylium* na *E. cloacae* (MIK=0,06 mg/mL; MBK=0,12 mg/mL), *H. sibiricum* na *B. cereus* i *S. aureus* (MIK=0,15-0,20 mg/mL; MBK=0,30 mg/mL), *H. montanum* na *E. cloacae*, *M. flavus* i *P. aeruginosa* (MIK=0,09-0,30 mg/mL; MBK=0,25-0,50 mg/mL), *H. ternatum* na *P. aeruginosa* (MIK=0,12 mg/mL; MBK=0,52 mg/mL), *H. verticillatum* na *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *S. typhimurium* (MIK=0,14-0,28 mg/mL; MBK=0,28-0,55 mg/mL), i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* na *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli* i *P. aeruginosa* (MIK=0,23 mg/mL; MBK=0,47 mg/mL).

Etarska ulja plodova *H. ternatum* sakupljenih na Sibilinskim planinama u Italiji, i u okolini Denizlija u Turskoj prethodno su takođe ispitivana na antibakterijsku aktivnost (İşcan i sar., 2003; Maggi i sar., 2014). Etarsko ulje plodova iz Denizlija, u kojem je dominirao *n*-oktanol (50,3%), inhibiralo je rast *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli* i *P. aeruginosa* (MIK=0,125-1,00 mg/mL). Ustanovljena aktivnost je objašnjena prisustvom *n*-oktanola za koji su utvrđene iste MIK vrednosti kao i za etarsko ulje za navedene mikroorganizme (İşcan i sar., 2003). Sa druge strane, etarsko ulje plodova *H. ternatum* iz Italije, u kome je oktilacetat bio najzastupljeniji, nije bilo aktivno na *S. aureus*, *E. coli* i *P. aeruginosa* u koncentraciji 20,00 mg/mL, što su autori objasnili nižim sadržajem *n*-oktanola (4,0%) (İşcan i sar., 2004; Maggi i sar., 2014). Rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije su u skladu sa prethodnim nalazima. Ispitivano etarsko ulje plodova *H. ternatum*, koje je sadržalo 9,6% *n*-oktanola, ispoljilo je antibakterijsku aktivnost (MIK=1,88-3,75 mg/mL), koja je bila slabija u odnosu na ulje iz Turske i bolja u odnosu na ulje iz Italije. Slično, značajna antibakterijska aktivnost pokazana je za etarsko ulje nadzemnih delova u cvetu *H. orphanidis*, u kome je takođe dominirao *n*-oktanol (39,6%), prema *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *M. flavus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. cloacae* i *E. coli* (MIK=0,13-0,26 mg/mL) (Mileski i sar., 2016). Takođe, nešto slabija antibakterijska aktivnost prema *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* i *P. aeruginosa* (MIK=2,43-9,72 mg/mL) pokazana je za etarsko ulje nadzemnih delova *H. sibiricum* (biljni organi nisu definisani), u kome su najzastupljeniji bili različiti alifatični estri i koje je sadržalo manje *n*-oktanola (13,6%) (Miladinović i sar., 2013).



**Tabela 22.** Antibakterijska aktivnost odabranih etarskih ulja izolovanih iz podzemnih organa (korena) i nadzemnih organa (listova, cvasti i plodova) ispitivanih taksona roda *Heracleum*, i antibiotika (mg/mL)

Etarska ulja/Bakterije		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK
<i>H. sphondylium</i>	Koren	0,50±0,01	0,50±0,00	0,80±0,01	1,30±0,10	1,00±0,01	0,80±0,01	3,30±0,20	0,06±0,00
		1,00±0,02	1,00±0,03	2,00±0,10	4,00±0,30	4,00±0,00	1,30±0,02	4,00±0,60	0,12±0,02
	List	0,40±0,05	0,40±0,04	3,30±0,03	4,00±0,20	3,30±0,20	2,00±0,30	3,30±0,20	2,00±0,20
		0,50±0,06	0,50±0,00	4,00±0,10	6,50±0,30	4,00±0,10	4,00±0,50	4,00±0,50	4,00±0,30
	Cvast	1,00±0,02	0,50±0,02	0,80±0,03	3,30±0,06	0,40±0,00	0,12±0,05	0,15±0,00	0,15±0,08
		2,00±0,10	1,00±0,06	1,00±0,02	4,00±0,08	1,00±0,08	0,15±0,06	0,30±0,04	0,30±0,06
	Plod	6,00±0,60	0,50±0,03	0,35±0,00	8,00±1,20	6,00±0,80	6,00±0,90	2,00±0,50	3,00±0,80
		8,00±0,30	1,00±0,04	0,50±0,05	16,00±1,50	12,00±1,00	8,00±1,00	4,00±0,60	4,00±0,90
<i>H. sibiricum</i>	Koren	0,20±0,01	0,15±0,04	0,80±0,00	2,00±0,10	4,00±0,40	1,75±0,90	0,50±0,05	3,50±0,80
		0,30±0,00	0,30±0,02	1,00±0,03	4,00±0,30	7,00±0,60	2,00±0,80	1,00±0,06	4,00±0,90
	List	2,35±0,60	4,70±0,60	9,40±1,20	4,70±0,80	9,40±1,20	1,20±0,30	7,00±0,80	1,90±0,08
		4,70±0,80	9,40±1,00	14,00±2,10	14,00±1,00	14,00±2,30	4,70±0,20	14,00±1,20	4,70±0,30
	Cvast	1,90±0,05	1,90±0,08	7,35±0,20	4,90±0,20	4,90±0,50	1,90±0,20	4,90±0,80	4,90±0,60
		7,35±1,00	3,70±0,06	9,80±0,50	9,80±0,60	9,80±0,90	3,70±0,60	7,35±0,50	9,80±1,00

Etarska ulja/Bakterije		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK
<i>H. montanum</i>	Plod	2,00±0,30	0,80±0,00	1,00±0,06	3,00±0,30	2,00±0,20	4,00±0,40	0,80±0,05	2,00±0,06
		4,00±0,80	1,00±0,08	2,00±0,08	4,00±0,60	4,00±0,30	6,20±0,80	1,00±0,06	4,00±0,20
	Koren	0,50±0,01	0,50±0,04	0,12±0,08	1,00±0,08	0,30±0,00	1,50±0,10	1,00±0,10	0,09±0,00
		1,00±0,02	1,00±0,08	0,25±0,06	4,50±1,00	0,50±0,08	2,25±0,30	2,25±0,30	0,30±0,01
	List	0,25±0,00	0,35±0,03	6,00±0,80	6,00±0,60	4,00±0,60	6,00±0,50	6,00±0,90	1,50±0,90
		0,50±0,03	0,50±0,06	8,00±0,90	8,00±0,50	8,00±0,30	8,00±0,80	8,00±1,00	2,00±0,80
	Cvast	0,10±0,06	0,25±0,06	0,20±0,03	1,00±0,30	1,30±0,08	0,30±0,08	0,40±0,06	0,25±0,05
		0,13±0,00	0,50±0,04	0,30±0,05	2,00±0,06	2,00±0,06	0,50±0,00	0,50±0,04	1,00±0,05
<i>H. ternatum</i>	Plod	3,00±0,60	0,35±0,00	1,50±0,80	8,00±1,00	8,00±1,00	4,00±0,90	3,00±0,30	6,00±0,80
		4,00±0,50	0,50±0,06	2,00±0,90	16,00±1,20	12,00±1,30	8,00±0,60	4,00±0,20	8,00±0,30
	Koren	0,52±0,00	1,04±0,06	1,49±0,06	2,09±0,03	0,12±0,00	2,09±0,03	0,75±0,00	2,09±0,06
		1,04±0,03	2,09±0,06	2,09±0,03	4,15±0,06	0,52±0,01	4,15±0,06	1,04±0,03	4,15±0,06
	List	2,40±0,00	2,40±0,06	0,60±0,03	4,80±0,06	2,40±0,06	2,40±0,03	4,80±0,06	2,40±0,03
		4,80±0,10	4,80±0,06	1,20±0,03	9,60±0,10	4,80±0,00	4,80±0,06	9,60±0,00	4,80±0,01
	Cvast	1,15±0,06	1,15±0,03	4,60±0,20	2,30±0,10	1,15±0,08	1,40±0,06	3,45±0,09	4,60±0,50
		2,30±0,08	2,30±0,08	6,90±0,30	4,60±0,50	2,30±0,00	2,30±0,08	4,60±0,30	6,90±0,60

Etarska ulja/Bakterije		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK
	Plod	1,88±0,06	1,88±0,03	2,53±0,00	3,75±0,06	1,88±0,01	1,88±0,06	2,53±0,06	1,88±0,03
		3,75±0,06	3,75±0,01	3,75±0,06	7,50±0,03	3,75±0,01	3,75±0,06	3,75±0,00	3,75±0,00
<i>H. p. subsp. orsinii</i>	Koren	0,23±0,03	0,94±0,00	0,94±0,03	1,88±0,00	0,23±0,03	0,23±0,03	0,23±0,06	1,88±0,03
		0,47±0,06	1,88±0,06	1,88±0,01	3,75±0,06	0,47±0,03	0,47±0,01	0,47±0,03	3,75±0,03
	List	1,08±0,02	0,21±0,01	2,15±0,03	2,15±0,06	1,08±0,01	2,15±0,03	2,15±0,06	2,15±0,02
		2,15±0,01	0,53±0,00	4,13±0,06	4,13±0,02	4,13±0,00	4,13±0,06	4,13±0,03	4,13±0,01
	Plod	2,59±0,01	2,59±0,03	2,59±0,03	2,09±0,06	2,09±0,03	2,09±0,03	2,59±0,03	4,15±0,02
		4,15±0,03	4,15±0,00	4,15±0,03	4,15±0,00	4,15±0,06	4,15±0,06	4,15±0,01	8,30±0,06
<i>H. p. subsp. pollinianum</i>	Koren	0,02±0,00	0,02±0,00	0,02±0,05	0,08±0,00	0,15±0,01	0,60±0,03	0,30±0,00	0,15±0,01
		0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	2,50±0,07	0,30±0,03	1,25±0,02	0,60±0,02	0,30±0,03
	List	0,15±0,00	0,15±0,02	0,04±0,00	1,25±0,01	0,60±0,03	0,60±0,02	1,00±0,07	0,20±0,02
		0,30±0,02	0,30±0,00	0,08±0,00	2,50±0,00	1,25±0,08	2,50±0,10	1,25±0,08	0,30±0,02
	Cvast	0,10±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	1,25±0,00	1,25±0,02	1,25±0,02	0,60±0,03	0,30±0,02
		0,15±0,01	0,08±0,00	0,08±0,00	2,50±0,10	2,50±0,00	2,50±0,10	2,50±0,10	0,60±0,02
	Plod	0,04±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	0,30±0,02	0,30±0,02	0,60±0,00	0,30±0,02	0,45±0,02
		0,08±0,00	0,08±0,00	0,08±0,00	2,50±0,20	0,60±0,02	1,25±0,00	0,60±0,03	0,60±0,00

Etarska ulja/Bakterije		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK
<i>H. verticillatum</i>	Koren	0,14±0,03	0,55±0,01	0,55±0,06	1,10±0,06	0,28±0,00	0,14±0,02	0,41±0,01	1,10±0,01
		0,28±0,00	1,10±0,03	2,20±0,00	2,20±0,06	0,55±0,01	0,28±0,03	1,10±0,01	2,20±0,00
	List	1,10±0,00	0,55±0,03	3,30±0,01	2,20±0,02	4,40±0,03	3,30±0,06	0,55±0,06	2,20±0,03
		3,30±0,01	1,10±0,06	4,40±0,03	4,40±0,00	6,60±0,00	4,40±0,06	1,10±0,00	4,40±0,06
	Plod	4,30±0,01	4,30±0,03	6,30±0,10	4,30±0,06	6,30±0,03	8,60±0,00	8,60±0,10	12,90±1,20
		8,60±0,03	8,60±0,10	8,60±0,10	8,60±0,06	8,60±0,06	17,20±1,20	17,20±1,20	17,20±1,20
<i>H. orphanidis</i>	Koren	0,02±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	1,25±0,00	0,15±0,20	0,08±0,00	0,08±0,20	0,04±0,00
		0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	2,50±0,08	0,30±0,00	0,15±0,00	0,15±0,01	0,08±0,00
	List	1,25±0,02	1,25±0,01	2,50±0,07	2,50±0,01	2,50±0,01	1,25±0,00	2,50±0,07	2,50±0,03
		2,50±0,00	2,50±0,07	5,00±0,07	5,00±0,07	5,00±0,00	2,50±0,10	5,00±0,00	5,00±0,07
	Cvast	4,30±0,20	1,60±0,08	2,15±0,08	4,30±0,10	2,15±0,08	2,15±0,20	3,25±0,40	1,60±0,09
		6,50±0,60	2,15±0,09	4,30±0,20	6,50±0,30	6,50±0,20	6,50±0,40	4,30±0,50	2,15±0,08
	Plod	2,50±0,07	2,50±0,07	2,50±0,10	1,25±0,08	1,25±0,07	1,25±0,02	2,50±0,10	1,25±0,01
		5,00±0,02	5,00±0,07	5,00±0,03	7,50±0,07	5,00±0,10	5,00±0,10	5,00±0,10	5,00±0,00
Streptomycin		0,04±0,00	0,09±0,00	0,17±0,04	0,17±0,06	0,17±0,08	0,17±0,08	0,17±0,03	0,26±0,08
		0,09±0,00	0,17±0,00	0,34±0,06	0,34±0,08	0,34±0,06	0,34±0,00	0,34±0,04	0,52±0,00

Etarska ulja/Bakterije	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK	MBK
Ampicilin	0,25±0,01	0,25±0,06	0,25±0,06	0,37±0,00	0,74±0,04	0,37±0,00	0,25±0,06	0,37±0,03
	0,37±0,00	0,37±0,05	0,37±0,06	0,49±0,03	1,24±0,06	0,49±0,06	0,49±0,05	0,74±0,04

Prikazani rezultati predstavljaju srednje vrednosti tri nezavisna određivanja ± SD.

Najbolju aktivnost prema svim ispitivanim mikromicetama pokazala su etarska ulja cvasti *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (MIK=0,03-0,08 mg/mL; MFK=0,08-0,20 mg/mL), podzemnih organa *H. verticillatum* (MIK=0,05-0,44 mg/mL; MFK=0,11-0,88 mg/mL), i plodova *H. sibiricum* (MIK=0,15-0,40 mg/mL; MFK=0,25-0,50 mg/mL). Njihova aktivnost je bila uporediva, ili čak i bolja u odnosu na pozitivne kontrole, bifonazol i ketokonazol. Slična antifungalna aktivnost (osim na *A. fumigatus*) demonstrirana je za etarsko ulje listova *H. orphanidis* (MIK=0,15-0,30 mg/mL; MFK=0,30-0,60 mg/mL), dok je aktivnost ulja plodova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (osim na *T. viride* i *P. verrucosum* var. *cyclopium*) bila nešto slabija u poređenju sa ispitivanim antimikoticima (MIK=0,30 mg/mL; MFK=0,60 mg/mL).

Značajnu antifungalnu aktivnost, uporedivu ili nešto slabiju u odnosu na pozitivne kontrole, ali na manjem broju ispitivanih plesni, pokazala su npr. etarska ulja cvasti *H. sibiricum* na *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *P. funiculosum* i *P. ochrochloron* (MIK=0,30 mg/mL; MFK=0,60 mg/mL), i *H. montanum* na *A. versicolor*, *A. ochraceus* i *T. viride* (MIK=0,25 mg/mL; MFK=0,50-1,00 mg/mL), ulja podzemnih organa *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* na *A. versicolor* i *A. fumigatus* (MIK=0,15-0,30 mg/mL; MFK=0,30-0,60 mg/mL), i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* na *A. fumigatus* i *T. viride* (MIK=0,23 mg/mL; MFK=0,46 mg/mL), i ulje plodova *H. orphanidis* na *P. funiculosum* and *P. ochrochloron* (MIK=0,20 mg/mL; MFK=0,40 mg/mL).

**Tabela 23.** Antifungalna aktivnost odabranih etarskih ulja izolovanih iz podzemnih organa (korena) i nadzemnih organa (listova, cvasti i plodova) ispitivanih taksona roda *Heracleum*, i antimikotika (mg/mL)

Etarska ulja/Plesni		<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK
<i>H. sphondylium</i>	Koren	1,00±0,03	0,50±0,03	1,00±0,08	3,30±0,90	0,50±0,08	1,50±0,06	0,50±0,04	2,00±0,06
		2,00±0,06	1,00±0,08	2,00±0,06	4,00±0,80	1,00±0,06	2,00±0,06	1,00±0,06	4,00±0,20
	List	2,00±0,06	1,00±0,08	3,30±0,30	4,00±0,90	1,50±0,06	3,30±0,08	2,00±0,08	2,00±0,08
		4,00±0,90	4,00±0,06	4,00±0,50	8,00±1,00	2,00±0,08	4,00±0,06	4,00±0,04	4,00±0,05
	Cvast	0,50±0,05	0,50±0,08	0,50±0,03	4,00±0,05	0,80±0,04	2,00±0,10	4,00±0,30	4,00±0,10
		1,00±0,03	2,00±0,04	1,00±0,02	8,00±0,08	2,00±0,20	4,00±0,20	8,00±0,20	8,00±0,20
	Plod	1,50±0,20	1,00±0,02	1,50±0,06	1,50±0,08	0,50±0,08	1,50±0,10	1,00±0,08	1,50±0,05
		4,00±0,50	2,00±0,05	2,00±0,06	4,00±0,20	2,00±0,20	2,00±0,20	2,00±0,10	2,00±0,06
<i>H. sibiricum</i>	Koren	0,30±0,05	1,15±0,10	0,60±0,03	0,60±0,05	0,60±0,08	1,15±0,10	0,60±0,08	1,15±0,30
		0,60±0,08	2,30±0,20	1,15±0,10	1,15±0,20	1,15±0,20	2,30±0,20	2,30±0,30	2,30±0,40
	List	0,60±0,08	2,35±0,10	4,70±0,30	4,70±0,40	3,50±0,10	2,35±0,20	1,20±0,09	1,80±0,08
		2,35±0,09	4,70±0,20	7,00±0,40	7,00±0,40	4,70±0,30	4,70±0,30	4,70±0,10	4,70±0,10
	Cvast	0,30±0,08	0,30±0,06	0,30±0,05	0,60±0,08	0,50±0,04	0,30±0,04	0,30±0,05	0,30±0,08
		0,60±0,09	0,60±0,08	1,20±0,08	1,20±0,09	0,60±0,08	0,60±0,08	0,60±0,06	1,20±0,09

Etarska ulja/Plesni		<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK
	Plod	0,15±0,02	0,25±0,03	0,15±0,03	0,40±0,04	0,20±0,05	0,15±0,06	0,15±0,03	0,25±0,06
		0,25±0,03	0,50±0,04	0,25±0,05	0,50±0,06	0,25±0,08	0,25±0,08	0,25±0,04	0,50±0,08
<i>H. montanum</i>	Koren	0,50±0,00	0,80±0,08	0,40±0,05	1,50±0,20	0,80±0,08	1,00±0,10	0,60±0,06	1,00±0,08
		1,00±0,10	2,25±0,20	1,00±0,04	2,25±0,10	2,25±0,10	2,25±0,20	2,25±0,20	2,25±0,20
	List	2,00±0,20	1,00±0,08	1,00±0,08	4,00±0,20	1,00±0,10	2,00±0,20	0,50±0,08	1,50±0,08
		4,00±0,40	4,00±0,20	4,00±0,10	8,00±0,30	2,00±0,30	4,00±0,30	1,00±0,09	4,00±0,20
	Cvast	0,50±0,05	0,25±0,05	0,25±0,03	1,60±0,20	0,25±0,08	1,00±0,06	0,50±0,08	0,50±0,04
		1,00±0,08	0,50±0,04	1,00±0,06	2,00±0,30	1,00±0,08	2,00±0,20	1,00±0,09	2,00±0,20
	Plod	3,00±0,08	2,00±0,20	1,00±0,02	3,00±0,20	0,50±0,06	2,00±0,10	0,50±0,06	3,00±0,20
		4,00±0,20	4,00±0,30	2,00±0,06	4,00±0,40	2,00±0,10	4,00±0,20	1,20±0,08	4,00±0,40
<i>H. ternatum</i>	Koren	4,15±0,03	2,09±0,03	4,15±0,02	4,15±0,00	2,09±0,03	2,09±0,03	1,20±0,03	0,48±0,06
		8,30±0,03	4,15±0,03	8,30±0,01	8,30±0,03	4,15±0,06	4,15±0,03	2,40±0,06	0,95±0,06
	List	0,60±0,01	0,30±0,01	4,80±0,03	4,80±0,03	0,60±0,00	4,15±0,02	2,40±0,03	0,95±0,06
		1,20±0,00	0,60±0,03	9,60±0,06	9,60±0,01	1,20±0,03	8,30±0,01	4,80±0,00	1,88±0,00
	Cvast	1,15±0,06	1,15±0,03	2,30±0,20	4,60±0,50	2,30±0,20	2,30±0,20	1,15±0,09	1,15±0,08
		4,60±0,20	2,30±0,06	6,90±0,30	6,90±0,30	4,60±0,30	4,60±0,40	2,30±0,20	4,60±0,20



Etarska ulja/Plesni		<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK
	Plod	1,88±0,03	0,48±0,03	0,95±0,00	0,95±0,04	0,48±0,06	4,15±0,06	1,20±0,02	0,95±0,03
		3,75±0,02	0,95±0,06	1,88±0,06	1,88±0,02	0,95±0,00	8,30±0,06	2,40±0,00	1,88±0,00
<i>H. p. subsp. orsinii</i>	Koren	0,23±0,00	0,46±0,03	0,46±0,03	0,94±0,06	0,23±0,00	0,46±0,03	0,94±0,03	0,94±0,01
		0,46±0,02	1,88±0,03	1,88±0,01	1,89±0,06	0,46±0,01	1,88±0,00	1,88±0,03	1,88±0,01
	List	1,08±0,03	1,08±0,01	4,15±0,01	1,08±0,00	0,12±0,03	1,08±0,06	1,08±0,03	1,08±0,03
		2,15±0,03	2,15±0,01	8,26±0,00	2,15±0,06	0,25±0,06	2,15±0,01	2,15±0,06	2,15±0,06
	Plod	2,09±0,01	0,52±0,03	1,04±0,01	2,09±0,02	1,04±0,03	1,04±0,06	1,04±0,00	1,04±0,06
		4,15±0,03	1,04±0,03	2,09±0,00	4,15±0,02	2,09±0,06	1,52±0,03	2,09±0,06	2,09±0,06
<i>H. p. subsp. pollinianum</i>	Koren	0,30±0,02	0,15±0,01	0,60±0,00	1,25±0,02	0,60±0,01	0,60±0,00	1,25±0,00	0,60±0,00
		0,60±0,02	0,30±0,02	1,25±0,00	2,50±0,10	1,25±0,01	1,25±0,02	2,50±0,20	1,25±0,00
	List	1,25±0,00	1,25±0,08	1,25±0,08	2,50±0,07	0,60±0,03	1,25±0,02	1,25±0,05	1,25±0,02
		2,50±0,01	2,50±0,00	2,50±0,03	3,50±0,00	2,50±0,10	2,50±0,03	2,50±0,10	2,50±0,10
	Cvast	0,04±0,01	0,04±0,02	0,04±0,00	0,08±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00
		0,08±0,00	0,08±0,00	0,08±0,00	0,15±0,00	0,08±0,00	0,15±0,00	0,15±0,01	0,20±0,01
	Plod	0,30±0,03	0,30±0,03	0,30±0,02	0,30±0,03	0,60±0,02	0,30±0,00	0,30±0,07	0,60±0,02
		0,60±0,03	0,60±0,03	0,60±0,00	0,60±0,02	1,25±0,00	0,60±0,03	0,60±0,00	1,25±0,02

Etarska ulja/Plesni		<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
		MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
		MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK
<i>H. verticillatum</i>	Koren	0,11±0,00	0,11±0,03	0,22±0,06	0,33±0,03	0,05±0,03	0,22±0,01	0,44±0,06	0,22±0,00
		0,22±0,01	0,22±0,02	0,44±0,06	0,44±0,00	0,11±0,06	0,88±0,03	0,88±0,06	0,44±0,01
	List	0,80±0,00	1,10±0,01	1,60±0,06	3,30±0,03	2,20±0,00	1,10±0,01	1,10±0,06	2,20±0,03
		1,10±0,00	4,40±0,03	4,40±0,06	4,40±0,01	4,40±0,03	4,40±0,02	2,20±0,06	4,40±0,06
	Plod	2,15±0,00	1,08±0,01	1,08±0,03	2,15±0,06	1,08±0,03	1,61±0,02	1,08±0,03	1,08±0,06
		4,30±0,03	2,15±0,06	2,15±0,03	8,60±0,03	2,15±0,01	2,15±0,00	2,15±0,03	2,15±0,03
<i>H. orphanidis</i>	Koren	0,60±0,02	0,30±0,03	0,60±0,03	1,25±0,08	1,25±0,00	0,30±0,03	0,60±0,00	0,60±0,03
		1,25±0,00	1,25±0,02	1,25±0,02	2,50±0,10	2,50±0,10	0,40±0,00	1,25±0,02	1,25±0,01
	List	0,63±0,01	0,30±0,00	0,15±0,01	0,30±0,00	0,30±0,03	0,15±0,02	0,15±0,02	0,15±0,02
		1,25±0,02	0,60±0,02	0,30±0,02	0,60±0,00	0,60±0,07	0,30±0,02	0,30±0,03	0,30±0,00
	Cvast	0,55±0,03	0,85±0,08	0,55±0,06	1,10±0,08	0,55±0,03	0,85±0,08	0,55±0,06	0,55±0,00
		2,15±0,09	2,15±0,09	1,10±0,03	2,15±0,09	1,10±0,06	2,15±0,09	1,10±0,08	2,15±0,05
	Plod	0,80±0,02	0,80±0,02	1,65±0,02	0,40±0,00	0,40±0,03	0,20±0,00	0,20±0,02	0,40±0,02
		3,30±0,07	1,65±0,05	3,30±0,20	0,80±0,03	0,80±0,03	0,40±0,03	0,40±0,03	0,80±0,02
Bifonazol		0,15±0,03	0,10±0,02	0,15±0,03	0,15±0,04	0,15±0,03	0,20±0,04	0,20±0,03	0,10±0,06
		0,20±0,04	0,20±0,03	0,20±0,06	0,20±0,06	0,20±0,04	0,25±0,06	0,25±0,06	0,20±0,08

Etarska ulja/Plesni	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK	MFK
Ketokonazol	0,20±0,02	0,20±0,08	1,50±0,90	0,20±0,08	1,00±0,08	0,20±0,04	2,50±0,10	0,20±0,06
	0,50±0,03	0,50±0,06	2,00±0,90	0,50±0,09	1,00±0,08	0,50±0,06	3,50±0,20	0,30±0,08

Prikazani rezultati predstavljaju srednje vrednosti tri nezavisna određivanja ± SD.

Pokazana antimikrobna aktivnost 30 ispitivanih etarskih ulja je u saglasnosti sa njihovim hemijskim sastavom. Prethodno je pokazano da je  $\beta$ -pinen, jedan od glavnih sastojaka etarskih ulja podzemnih organa *H. sibiricum*, *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i *H. verticillatum* (detektovan u ukupno 28 ispitivanih ulja), inhibirao rast *M. flavus*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *E. cloacae* i *P. aeruginosa* (MIK=0,005-0,01 mg/mL; MBK=0,0055-0,013 mg/mL). Na iste bakterije bio je aktivan i limonen, prisutan u 29 ispitivanih etarskih ulja, od toga u većoj količini u uljima podzemnih organa i listova *H. verticillatum* (MIK=0,007-0,01 mg/mL; MBK=0,007-0,015 mg/mL) (Soković i sar., 2010). (Z)-Falkarinol, identifikovan u 17 ispitivanih etarskih ulja, od toga dominantan u ulju podzemnih organa *H. orphanidis*, pokazao je značajnu aktivnost na *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *E. coli* (MIK=0,0031-0,00625 mg/mL) (Kobaisy i sar., 1997), a (E)-nerolidol, glavna komponenta etarskih ulja listova i cvasti *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (detektovana u ukupno 19 ulja), na *S. aureus* (MIK=0,0039 mg/mL) i *A. niger* (MIK=0,0156 mg/mL) (Tao i sar., 2013). Za ovaj seskviterpen prethodno je demonstrirano i da potencira efekat drugih antibiotika na *S. aureus* i *E. coli*, i stimuliše apsorpciju lekova kroz kožu (Brehm-Stecher i Johnson, 2003). Metileugenol, jedna od najzastupljenijih komponenti etarskih ulja listova i cvasti *H. sibiricum* i *H. ternatum*, kao i ulja podzemnih organa *H. sibiricum* (prisutan u ukupno 18 ispitivanih ulja), bio je aktivan na bakterije *M. flavus* (MIK=0,36 mg/mL), *P. aeruginosa* (MIK=0,72 mg/mL), i plesni *A. niger* (MIK=0,20 mg/mL) i *A. fumigatus* (MIK=0,57 mg/mL) (Joshi, 2013), dok su (E)-kariofilen (MIK=0,125-0,25 mg/mL) i germakren D (MIK=0,0625-0,125 mg/mL), značajno zastupljeni u više etarskih ulja listova i cvasti (identifikovani u ukupno 19, odnosno 16 ispitivanih ulja), inhibirali rast *A. niger*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* i *P. aeruginosa* (Ben Hsouna i sar., 2013). Za oktilacetat, dominantan sastojak svih ispitivanih etarskih ulja plodova, kao i ulja listova i cvasti *H. orphanidis* (detektovan u ukupno 21 ispitivanom ulju), pokazana je antifungalna aktivnost na *A. ochraceus* (MIK=0,10 mg/mL) i *P. funiculosum* (MIK=0,19 mg/mL) (Skalicka-Woźniak i sar., 2017). Dodatno, aktivnost na mikroorganizme ispitivane u okviru ove doktorske disertacije pokazana je i za mnoge komponente koje su u ispitivanim etarskim uljima bile zastupljene samo u manjoj količini, npr. za  $\alpha$ -pinen, terpinolen, terpinen-4-ol, kariofilenoksid,  $\alpha$ -humulen, eugenol i *n*-oktanol (Ben Hsouna

i sar., 2013; İşcan i sar., 2003; Joshi, 2013; Kazemi i sar., 2012; Setzer i sar., 2006; Soković i sar., 2010; Tao i sar., 2013). Na ustanovljenu antimikrobnu aktivnost ispitivanih etarskih ulja potencijalno je uticao i sinergizam između navedenih, aktivnih komponenti. Ovaj fenomen je prethodno opisan kod velikog broja etarskih ulja (Bakkali i sar., 2008; Burt, 2004).

Primarno mesto delovanja većine komponenti etarskih ulja je bakterijska plazma membrana. Naime, zahvaljujući svojoj lipofilnosti, sastojci etarskih ulja mogu da se inkorporiraju između membranskog lipidnog dvosloja, što remeti strukturu plazma membrane i povećava njenu propustljivost za jone, kao i ostale sastojke bakterijske ćelije. Pored toga, komponente etarskih ulja mogu da penetriraju kroz membranu i ostvaruju svoje efekte unutar ćelije. Neke od posledica dejstva na ćelijsku membranu, ali i na druge komponente bakterijske ćelije su poremećaji membranskog potencijala, protonskih pumpi i bakterijskih enzimskih sistema, gubitak rezervi ATP-a, koagulacija citoplazme i liza ćelije (Bakkali i sar., 2008; Burt i sar., 2004; Guinoiseau i sar., 2010; Langeveld i sar., 2013). Od komponenti etarskih ulja identifikovanih u okviru ove doktorske disertacije, efekti na plazma membranu su i posebno potvrđeni za nerolidol i *n*-oktanol, na osnovu merenja gubitka jona kalijuma u slučaju *S. aureus* (Inoue i sar., 2004; Togashi i sar., 2007). Pored toga, za pojedine komponente etarskih ulja su dodatno utvrđeni i specifični mehanizmi delovanja, npr. timol remeti metabolizam citrata, a eugenol dovodi do smanjivanja ekspresije nekoliko faktora virulencije (Langeveld i sar., 2013). Slično, za (+)- $\beta$ -pinen i (+)- $\alpha$ -pinen je pokazano da inhibiraju enzime fosfolipaze i esteraze koje luče neke vrste roda *Candida*, a u nešto manjoj meri i ove enzime koje luči *S. aureus* (Da Silva i sar., 2012).

#### **4.2. Citotoksična aktivnost**

Citotoksična aktivnost odabranih 26 etarskih ulja izolovanih iz podzemnih i nadzemnih organa ispitivanih taksona roda *Heracleum* testirana je na humanim tumorskim ćelijskim linijama HeLa (ćelijska linija karcinoma grlića materice), LS174 (ćelijska linija karcinoma debelog creva) i A549 (ćelijska linija nesitnoćelijskog karcinoma pluća). Selektivnost ovog efekta utvrđena je na humanoj normalnoj ćelijskoj liniji MRC-5 (ćelijska linija fetalnih fibroblasta pluća) (**Tabela 24**). Najbolju aktivnost na sve testirane ćelije tumora, pokazala su etarska ulja izolovana iz podzemnih organa,

listova i plodova *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* ( $IC_{50}$ =6,49-14,56  $\mu$ g/mL) i *H. ternatum* ( $IC_{50}$ =6,71-25,27  $\mu$ g/mL), podzemnih organa i plodova *H. verticillatum* ( $IC_{50}$ =5,93-14,08  $\mu$ g/mL), kao i podzemnih organa *H. sphondylium* ( $IC_{50}$ =5,72-24,31  $\mu$ g/mL). Ova etarska ulja su prema svim ispitivanim ćelijskim linijama tumora zadovoljila kriterijum američkog Instituta za proučavanje kancera NCI (eng. *National Cancer Institute*) za citotoksičnost ( $IC_{50}$ <30,00  $\mu$ g/mL) (Suffness i Pezzuto, 1991). Navedeni uslov su ispunila i etarska ulja podzemnih organa i plodova *H. orphanidis* i *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* na HeLa ćelije ( $IC_{50}$ =7,53-21,07  $\mu$ g/mL), kao i ulja plodova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* ( $IC_{50}$ =24,16  $\mu$ g/mL) i podzemnih organa *H. orphanidis* na LS174 ćelije ( $IC_{50}$ =24,95  $\mu$ g/mL). Interesantna aktivnost je zabeležena i za etarska ulja cvasti *H. montanum* ( $IC_{50}$ =36,34  $\mu$ g/mL) i *H. sphondylium* ( $IC_{50}$ =39,35  $\mu$ g/mL), i lista *H. verticillatum* ( $IC_{50}$ =66,81  $\mu$ g/mL) na HeLa ćelije, kao i etarska ulja podzemnih organa *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* ( $IC_{50}$ =40,13  $\mu$ g/mL) i plodova *H. orphanidis* ( $IC_{50}$ =58,86  $\mu$ g/mL) na LS174 ćelije.

Za cisplatin, koji je korišćen kao pozitivna kontrola, pokazana je jača citotoksična aktivnost na navedene ćelijske linije tumora u odnosu na sva ispitivana etarska ulja ( $IC_{50}$ =0,75-3,11  $\mu$ g/mL). Međutim, cisplatin je takođe pokazao snažnu toksičnost na normalne humane ćelije fetalnih fibroblasta pluća, MRC-5 ( $IC_{50}$ =14,11  $\mu$ g/mL). Nasuprot tome, ispitivana etarska ulja pokazala su selektivno citotoksično delovanje, s obzirom da  $IC_{50}$  vrednosti prema normalnim MRC-5 ćelijama nisu postignute pri koncentraciji ulja 200,00  $\mu$ g/mL. Jednini izuzetak bilo je ulje lista *H. verticillatum*, koje je na njih delovalo slabo citotoksično ( $IC_{50}$ =120,11  $\mu$ g/mL).

Citotoksična aktivnost navedenih etarskih ulja ispitivanih taksona roda *Heracleum* može barem delom da se objasni prisustvom pojedinih dominantnih komponenti, ali i onih zastupljenih u manjoj količini. Za njih je prethodno pokazana citotoksična aktivnost na HeLa i/ili A549 ćelijskim linijama. Naime, proliferacija HeLa ćelija bila je inhibirana od strane (*Z*)-falkarinola ( $IC_{50}$ =8,58  $\mu$ g/mL), detektovanog u 16 ispitivanih etarskih ulja, od toga dominantnog u ulju podzemnih organa *H. orphanidis*, elemicina ( $IC_{50}$ =2,00  $\mu$ g/mL), identifikovanog u 20 ispitivanih ulja, od toga značajno zastupljenog u ulju listova *H. ternatum*, limonena ( $IC_{50}$ =22,10  $\mu$ g/mL), prisutnog u 25 ispitivanih ulja, od toga u većoj količini u uljima podzemnih organa i listova *H. verticillatum*, i *n*-oktanola ( $IC_{50}$ =25,05  $\mu$ g/mL), detektovanog u 20 ispitivanih ulja, od toga značajno zastupljenog u

ulja plodova *H. ternatum*. Dodatno,  $\beta$ -pinen ( $IC_{50}=85,00 \mu\text{g/mL}$ ), jedan od najzastupljenijih sastojaka etarskih ulja podzemnih organa *H. ternatum*, *H. verticillatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (ukupno identifikovan u 25 ispitivanih ulja), prethodno je bio citotoksičan na A549 ćelije, a (*E*)-nerolidol ( $IC_{50}=3,02-6,40 \mu\text{g/mL}$ ), detektovan u 15 ispitivanih ulja, od toga dominantan u ulju listova *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, i (*E*)-kariofilen ( $IC_{50}=19,8-21,3 \mu\text{g/mL}$ ), prisutan u 15 ispitivanih ulja, od toga u većoj količini u uljima listova *H. verticillatum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, na obe (HeLa i A549) ćelijske linije. Dodatno, citotoksičnost prema HeLa i/ili A549 ćelijama pokazana je za komponente zastupljene samo u manjim količinama u ispitivanim etarskim uljima (npr.  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -humulen, kariofilenoksid, terpinen-4-ol i  $\beta$ -jonon) (Bourgou i sar., 2010; Da Silva i sar., 2007; Herrmann i sar., 2013; Ikeda i sar., 1998; Jun i sar., 2011; Kubo i Morimitsu, 1995; Sobral i sar., 2014; Sylvestre i sar., 2007; Zapata i sar., 2014). Takođe, na pacovima je pokazan preventivni efekat limonena na razvoj tumora dojke i metastaze tumora želuca (Shaaban i sar., 2012). U literaturi se ističe prednost unosa (*Z*)-falkarinola putem hrane, jer je za izolovane poliacetilene pokazan izraženiji alergogeni potencijal, a i u izolovanom obliku su hemijski nestabilni (Zidorn i sar., 2005).

Mehanizmi citotoksičnog delovanja komponenti etarskih ulja su uglavnom slični mehanizmima antimikrobne aktivnosti i prvenstveno podrazumevaju efekte na plazma membranu, a potom i prodor i delovanje unutar ćelije. U slučaju tumorskih (eukariotskih) ćelija značajno je pomenuti i efekte na mitohondrijalnu membranu, koji dovode do poremećaja protoka jona kalcijuma, gubitka citohroma C i povećane produkcije i oslobađanja slobodnih radikala. Na ove načine komponente etarskih ulja dovode do nekroze, ili poželjnije apoptoze tumorskih ćelija, prvenstveno zbog potencijalno manjeg štetnog uticaja na okolno tkivo (Bakkali i sar., 2008). Od komponenti etarskih ulja ispitivanih u okviru ove doktorske disertacije proapoptotska aktivnost pokazana je za limonen,  $\alpha$ -pinen, mircen i terpinen-4-ol (Sobral i sar., 2014), a za nerolidol (smešu *E* i *Z* izomera) je pokazano da dovodi do povećane produkcije slobodnih radikala (Sperotto i sar., 2013). Za (*Z*)-falkarinol je utvrđeno da može da zaustavi ćelijski ciklus različitih tumorskih ćelija u različitim fazama, a pretpostavlja se da su ovi efekti posledica njegove hidrofobnosti i činjenice da može da deluje kao jak alkilirajući agens na merkaptu i amino grupe proteina i drugih biomolekula (Christensen i Brandt, 2006).

**Tabela 24.** Citotoksična aktivnost odabranih etarskih ulja izolovanih iz podzemnih organa (korena) i nadzemnih organa (listova, cvasti i/ili plodova) ispitivanih taksona roda *Heracleum*, i cisplatinu

Etarsko ulje	IC <sub>50</sub> (µg/mL) <sup>a</sup>			
	Maligne ćelije			Normalne ćelije
	HeLa	LS174	A549	MRC5
<i>H. sphondylium</i> koren	5,72±0,11	24,31±0,52	16,23±0,72	>200
<i>H. sphondylium</i> list	94,41±1,35	121,46±1,31	102,55±2,41	>200
<i>H. sphondylium</i> cvast	39,35 ± 3,00	n.t. <sup>b</sup>	n.t.	n.t.
<i>H. sphondylium</i> plod	>200	>200	>200	>200
<i>H. sibiricum</i> koren	132,33±0,12	>200	>200	>200
<i>H. sibiricum</i> list	155,77±0,22	128,62±5,67	194,94±0,35	>200
<i>H. sibiricum</i> cvast	>200	>200	>200	>200
<i>H. sibiricum</i> plod	>200	>200	>200	>200
<i>H. montanum</i> koren	106,24±2,47	138,21±1,58	152,47±1,33	>200
<i>H. montanum</i> list	80,08±0,59	93,74±1,39	111,43±1,58	>200
<i>H. montanum</i> cvast	36,34 ± 0,94	n.t.	n.t.	n.t.
<i>H. montanum</i> plod	>200	>200	>200	>200
<i>H. ternatum</i> koren	17,71±0,93	6,71±0,87	11,95±0,56	>200
<i>H. ternatum</i> list	14,38±1,05	25,27±1,28	7,44±0,47	>200
<i>H. ternatum</i> cvast	147,94±0,11	>200	>200	>200



Etarsko ulje	IC <sub>50</sub> (µg/mL) <sup>a</sup>			
	Maligne ćelije			Normalne ćelije
	HeLa	LS174	A549	MRC5
<i>H. ternatum</i> plod	10,52±0,73	23,49±1,76	11,98±1,22	>200
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>pollinianum</i> koren	21,07±1,01	40,13±0,66	n.t.	n.t.
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>pollinianum</i> plod	10,05±0,22	24,16±0,73	n.t.	n.t.
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>orsinii</i> koren	13,92±0,78	12,67±0,75	14,56±0,72	>200
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>orsinii</i> list	10,96±0,59	11,64±1,01	12,85±0,43	>200
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>orsinii</i> plod	9,08±0,44	7,42±0,53	6,49±0,84	>200
<i>H. verticillatum</i> koren	8,26±0,54	13,89±1,06	5,93±0,24	>200
<i>H. verticillatum</i> list	66,81±5,24	145,97±1,15	135,54±1,34	120,11±1,20
<i>H. verticillatum</i> plod	11,34±1,21	14,08±0,92	10,82±0,91	>200
<i>H. orphanidis</i> koren	7,53±0,02	24,95±1,03	n.t.	n.t.
<i>H. orphanidis</i> plod	16,55±2,34	58,86±1,91	n.t.	n.t.
Cisplatin	0,75±0,05	2,49±0,22	3,11±0,54	14,11±0,74

<sup>a</sup> Prikazani rezultati predstavljaju srednje vrednosti tri nezavisna određivanja ± SD.

<sup>b</sup> n.t. – etarsko ulje nije testirano.

### 4.3. Antiradikalska aktivnost

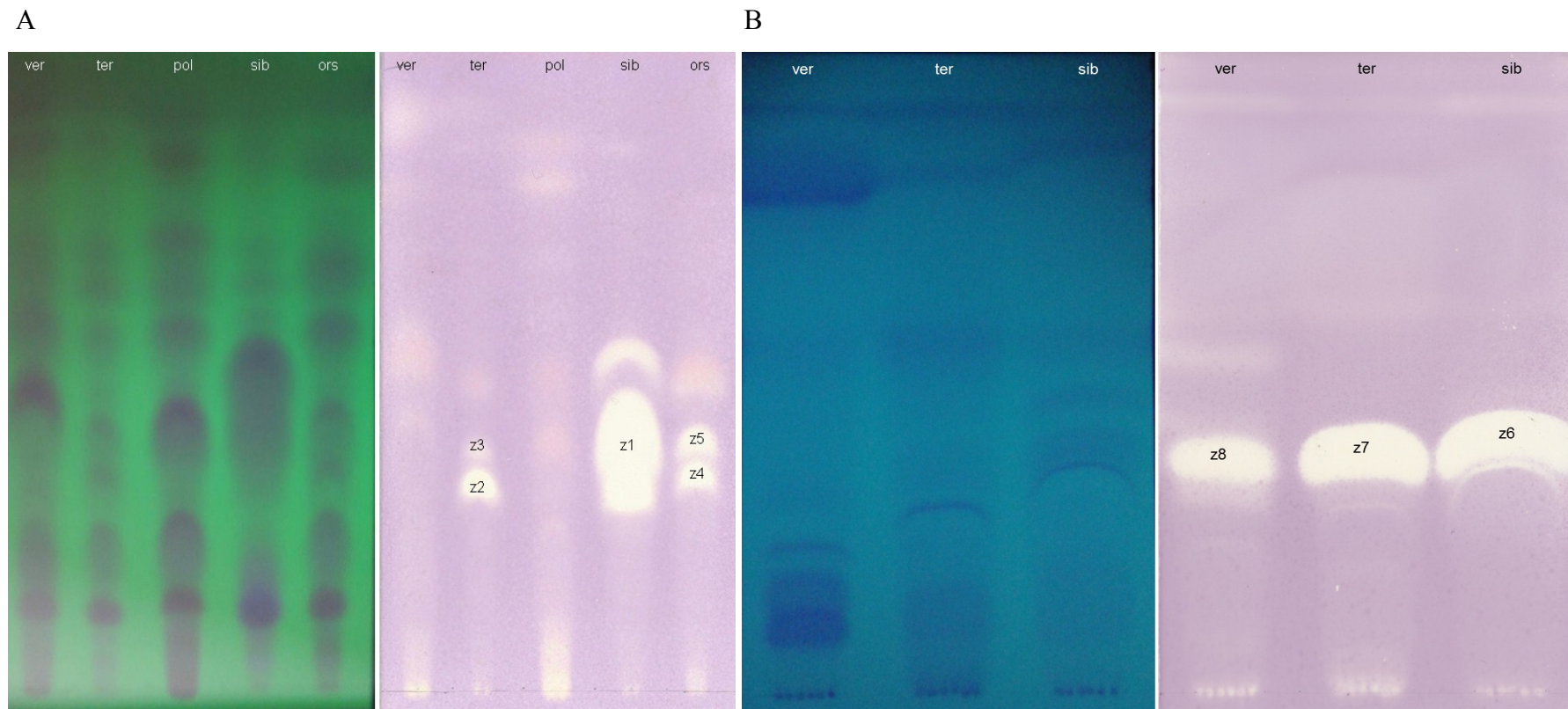
Antiradikalska aktivnost 14 odabranih etarskih ulja podzemnih organa i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum* analizirana je DPPH testom (**Tabela 25**). Najbolju aktivnost pokazalo je etarsko ulje podzemnih organa ( $SC_{50}=5,19 \mu\text{L/mL}$ ) i plodova ( $SC_{50}=6,09 \mu\text{L/mL}$ ) *H. sibiricum*, a slede ga ulja podzemnih organa *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* ( $SC_{50}=7,85 \mu\text{L/mL}$ ), i plodova *H. verticillatum* ( $SC_{50}=7,79 \mu\text{L/mL}$ ) i *H. ternatum* ( $SC_{50}=9,25 \mu\text{L/mL}$ ). Od ispitivanih etarskih ulja, anti-DPPH aktivnost je ustanovljena i za ulja podzemnih organa *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* i *H. verticillatum* ( $SC_{50}=11,50-12,33 \mu\text{L/mL}$ ). Preostalih šest testiranih etarskih ulja plodova nije bilo aktivno u koncentraciji  $40,0 \mu\text{L/mL}$ . U ispitivanim etarskim uljima podzemnih organa dominirali su monoterpenski ugljovodonici, najviše  $\beta$ -pinen (26,2-47,3%), a u ulju *H. sibiricum* i metileugenol (22,3%) i elemicin (25,6%), dok su u aktivnim uljima plodova najzastupljeniji bili alifatični estri, prevashodno oktilacetat (47,8-64,3%), a pratio ih je *n*-oktanol (2,5-21,1%). Demonstrirana aktivnost je bila značajno slabija u odnosu na prethodno ispitivane standardne antioksidanse i ekstrakte bogate polifenolima (Kukić i sar., 2006; Milutinović i sar., 2018; Petrović i sar., 2017), ali je zanimljiva u poređenju sa literaturnim podacima za druga etarska ulja (Bakkali i sar., 2008).

**Tabela 25.** Anti-DPPH aktivnost odabranih etarskih ulja izolovanih iz podzemnih organa (korena) i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*

Etarsko ulje	$SC_{50}$ ( $\mu\text{L/mL}$ ) <sup>a</sup>	
	Koren	Plod
<i>H. sibiricum</i>	5,19	6,09
<i>H. ternatum</i>	11,50	9,25
<i>H. verticillatum</i>	12,33	7,79
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>pollinianum</i>	11,53	> 40,00
<i>H. pyrenaicum</i> subsp. <i>orsinii</i>	7,85	> 40,00
<i>H. sphondylium</i>	n.t. <sup>b</sup>	> 40,00
<i>H. montanum</i>	n.t.	> 40,00
<i>H. orphanidis</i>	n.t.	> 40,00
<i>H. austriacum</i> subsp. <i>siifolium</i>	n.t.	> 40,00

<sup>a</sup> Rezultati predstavljaju srednje vrednosti tri određivanja. <sup>b</sup> n.t. - ulje nije testirano.

Doprinos pojedinih komponenti ispitivanih etarskih ulja demonstriranom anti-DPPH efektu preliminarno je procenjivan pomoću TLC-DPPH (*dot-blot*) testa. Ukoliko su se na hromatogramu etarskog ulja nalazile žute anti-DPPH zone, one su isečene, eluirane apsolutnim etanolom i analizirane gasnom hromatografijom. Takav je bio slučaj kod etarskih ulja podzemnih organa *H. sibiricum* (široka aktivna zona sa  $R_f=0,34 - z1$ ), *H. ternatum* (dve zone sa  $R_{f1}=0,30$  i  $R_{f2}=0,35$ , zajedno eluirane -  $z2+z3$ ) i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* (dve zone sa  $R_{f1}=0,35$  i  $R_{f2}=0,42$ , zajedno eluirane -  $z4+z5$ ), i etarskih ulja plodova *H. sibiricum* ( $R_f=0,20 - z6$ ), *H. ternatum* ( $R_f=0,31 - z7$ ) i *H. verticillatum* ( $R_f=0,27 - z8$ ) (**Slika 43**). Dobijeni rezultati pokazali su da dominantni sastojci etarskih ulja uglavnom nisu bili i najzastupljeniji u anti-DPPH zonama (**Tabela 26**). Naime, lipofilniji monoterpenski ugljovodonici i alifatični estri imali su više, a *n*-oktanol niže  $R_f$  vrednosti u odnosu na komponente aktivnih zona. Izuzetak su bili fenilpropani metileugenol i elemicin, značajno prisutni i u etarskom ulju podzemnih organa *H. sibiricum* i u njegovoj anti-DPPH zoni (19,5% i 64,5%). Međutim, u ovoj zoni identifikovano je još 15 jedinjenja u manjim količinama, kao što su eugenol, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, spatulenol, (*E*)-seskvilavandulol i (*Z*)-falkarinol. Sa druge strane, dominantni među 17, odnosno 19 identifikovanih komponenti u anti-DPPH zonama etarskih ulja podzemnih organa *H. ternatum* i *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* bili su oksidovani terpeni: *trans*-sabinol (21,8%), spatulenol (21,7%), (*E*)-seskvilavandulol (13,1%), bulnezol (7,6%) i gvajol (4,1%) kod *H. ternatum*, i (*E*)-seskvilavandulol (14,5%), intermedeol (13,6%), terpinen-4-ol (9,2%), *trans*-sabinol (8,4%) i spatulenol (8,3%), uz poliacetilenski alkohol (*Z*)-falkarinol (11,6%) kod *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*. U anti-DPPH zonama etarskih ulja plodova identifikovano je manje jedinjenja u odnosu na aktivne zone ulja podzemnih organa. Eugenol (66,8%), (*E*)-nerolidol (19,8%) i (*Z*)-izoelemicin (13,4%) uz još dve minorne komponente identifikovani su u etarskom ulju plodova *H. ternatum*, metileugenol (70,4%), eugenol (29,6%) uz još dva jedinjenja u ulju *H. sibiricum*, a samo intermedeol (100,0%) u ulju *H. verticillatum*. Anti-DPPH efekat eugenola ( $SC_{50}=0,01 \mu\text{L/mL}$ ), spatulenola ( $SC_{50}=0,09 \mu\text{L/mL}$ ), metileugenola ( $SC_{50}=0,10 \mu\text{L/mL}$ ), kao i terpinen-4-ola ( $1,48 \mu\text{M/g}$  troloks ekvivalenta) i elemicina ( $11,78 \mu\text{M/g}$  troloks ekvivalenta) demonstriran je i u prethodnim studijama (Adiani i sar., 2015; do Nascimento i sar., 2018; Park, 2006). Nerolidol (smeša *E* i *Z* izomera) delovao je protektivno kod oksidativnog stresa na hipokampusu miševa (Nogueira Neto i sar., 2013).



**Slika 43.** TLC hromatogrami testiranih etarskih ulja podzemnih organa (A) i plodova (B) ispitivanih taksona roda *Heracleum* pod UV svetlošću (254 nm) (slike A i B levo) i nakon prskanja 0,5 mmol/L DPPH reagensom (slike A i B desno). Skraćenice: **sib** - *H. sibiricum*, **ter** - *H. ternatum*, **pol** - *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*; z1-z8 označavaju anti-DPPH zone.

**Tabela 26.** Hemijski sastav anti-DPPH zona odabranih etarskih ulja podzemnih organa (korena) i plodova ispitivanih taksona roda *Heracleum*

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta etarskog ulja	Koren			Plod		
			sib <sup>c</sup>	ter	ors	sib	ter	ver
			z1 <sup>d</sup>	z2+z3	z4+z5	z6	z7	z8
904	901	Heptanal	tr <sup>e</sup>	tr	1,8 <sup>f</sup>	-	-	-
1004	998	<i>n</i> -Oktanal	tr	tr	1,6	-	-	-
1036	1024	Limonen	-	-	tr	-	-	-
1043	1032	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	-	-	tr	-	-	-
1071	1065	<i>cis</i> -Sabinenhidrat	tr	-	-	-	-	-
1092	1086	Terpinolen	-	-	tr	-	-	-
1142	1135	Nopinon	-	1,6	2,4	-	-	-
1144	1137	<i>trans</i> -Sabinol	-	21,8	8,4	-	-	-
1172	1165	Borneol	-	tr	-	-	-	-
1181	1174	Terpinen-4-ol	0,8	-	9,2	-	-	-
1188	1179	<i>p</i> -Cimen-8-ol	tr	-	-	-	-	-
1193	1186	$\alpha$ -Terpineol	1,0	tr	-	-	-	-
1198	1194	Mirtenol	0,4	-	-	-	-	-
1199	1195	Mirtenal	-	tr	-	-	-	-
1362	1356	Eugenol	0,3	-	-	29,6	66,8	-
1378	1364	Dekanska kiselina	-	-	3,5	-	-	-
1404	1403	Metileugenol	19,5	-	tr	70,4	tr	-
1500	1491	( <i>E</i> )-Metilizeugenol	tr	-	-	-	-	-
1563	1555	Elemicin	64,5	2,0	2,2	tr	tr	-
1566	1561	( <i>E</i> )-Nerolidol	-	-	-	-	19,8	-
1582	1568	( <i>Z</i> )-Izoelemicin	0,6	tr	-	tr	13,4	-
1583	1577	Spatulenol	0,7	21,7	8,3	-	-	-
1599	1600	Gvajol	-	4,1	-	-	-	-
1635	1631	( <i>E</i> )-Seskvilavandulol	0,2	13,1	14,5	-	-	-
1662	1665	Intermedeol	-	2,5	13,6	-	-	100,0
1670	1670	Bulnezol	-	7,6	tr	-	-	-
1843	1773	<i>n</i> -Pentadekanol	0,3	-	-	-	-	-

RI <sub>eks</sub> <sup>a</sup>	RI <sub>lit</sub> <sup>b</sup>	Komponenta etarskog ulja	Koren			Plod		
			sib <sup>c</sup>	ter	ors	sib	ter	ver
			z1 <sup>d</sup>	z2+z3	z4+z5	z6	z7	z8
1968	1959	Heksadekanska kiselina	1,8	5,1	6,8	-	-	-
2038	2035	(Z)-Falkarinol	0,8	2,8	11,6	-	-	-
		Oksidovani monoterpeni	2,2	21,8	17,6	-	-	-
		Oksidovani seskviterpeni	0,9	49,1	36,4	-	19,8	100,0
		Fenilpropani	84,9	2,0	2,2	100,0	80,2	-
		Poliacetileni	0,8	2,8	11,6	-	-	-
		Ostali	2,1	6,7	16,0	-	-	-
		Ukupno	90,9	82,3	83,8	100,0	100,0	100,0
		Ukupno identifikovano jedinjenja	17	17	19	4	5	1

<sup>a</sup> RI<sub>eks</sub> - Retencioni indeksi na HP-5MS koloni računati u odnosu na C<sub>9</sub>-C<sub>40</sub> *n*-alkane.

<sup>b</sup> RI<sub>lit</sub> - Retencioni indeksi iz literature (Adams, 2007).

<sup>c</sup> Taksoni iz čijih etarskih ulja su izolovane anti-DPPH zone: **sib** - *H. sibiricum*, **ter** - *H. ternatum*, **ors** - *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*, **ver** - *H. verticillatum*.

<sup>d</sup> Oznaka anti-DPPH zone.

<sup>e</sup> tr-tragovi (<0,1%).

<sup>f</sup> Relativni udeo komponente u anti-DPPH zoni.

## ZAKLJUČCI

1. U okviru ove doktorske disertacije ispitivano je devet taksona roda *Heracleum* poreklom iz jugoistočne Evrope: sedam iz grupe *H. sphondylium* (*H. sphondylium*, *H. sibiricum*, *H. montanum*, *H. ternatum*, *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i *H. verticillatum*), i *H. orphanidis*, svi iz *H. sect. Heracleum*, kao i *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz *H. sect. Wendia*. Biljni materijal prikupljan je u Srbiji, Crnoj Gori, Makedoniji i Sloveniji.

2. Ukupno 59 etarskih ulja devet ispitivanih taksona, i to 16 ulja podzemnih organa, 18 ulja plodova, 16 ulja listova, osam ulja cvasti, kao i ulje nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium*, izolovano je destilacijom vodenom parom i analizirano gasnom hromatografijom sa FID i MS detekcijom.

3. Dominantne komponente etarskih ulja podzemnih organa predstavnika grupe *H. sphondylium* bili su monoterpeni, prvenstveno  $\beta$ -pinen, (*Z*)- $\beta$ -ocimen i/ili limonen. Dodatno, ulja podzemnih organa tri od ukupno četiri ispitivana uzorka *H. sibiricum* bila su bogata i fenilpropanima, pre svega metileugenolom i elemicinom. Dominantna komponenta ulja podzemnih organa *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium* bio je (*Z*)-falkarinol.

4. Hemijski sastav *headspace* frakcija podzemnih organa ispitivanih taksona grupe *H. sphondylium* bio je u skladu sa sastavom njihovih etarskih ulja, jer su najzastupljenije komponente ulja bile ujedno i najisparljivije. U *headspace* frakcijama takođe su dominirali monoterpeni, prvenstveno  $\beta$ -pinen, (*Z*)- $\beta$ -ocimen i/ili limonen. Nasuprot tome, u *headspace* frakciji podzemnih organa *H. orphanidis* najzastupljeniji je bio *n*-nonan, s obzirom da je glavni sastojak njihovog etarskog ulja (*Z*)-falkarinol slabije isparljiv.

5. Dominantni sastojci etarskih ulja plodova bili su alifatični estri: u slučaju taksona iz sekcije *Heracleum* oktilacetat, a u slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sekcije *Wendia* oktilheksanoat. *Headspace* frakcije plodova takođe su bile bogate alifatičnim estrima, u slučaju taksona sekcije *Heracleum* prvenstveno oktilacetatom, a u slučaju *H. austriacum* subsp. *siifolium* oktil-2-metilbutanoatom, praćenog *n*-oktanolom.

6. U etarskim uljima listova i cvasti predstavnika grupe *H. sphondylium*, kao i nadzemnih delova u cvetu *H. austriacum* subsp. *siifolium* dominantni su bili različiti seskviterpeni ( $\alpha$ -*trans*-bergamoten, (*E*)-kariofilen, (*E*)- $\beta$ -farnezen, germakren D,  $\beta$ -

bisabolen,  $\beta$ -seskvifelandren ili (*E*)-nerolidol), fenilpropani (metileugenol, elemicin, (*Z*)-izoelemicin ili apiol) ili monoterpeni (limonen). Ulja listova i cvasti *H. orphanidis* su se uglavnom sastojala od alifatičnih estara, prvenstveno oktilacetata.

7. Multivarijantna statistička analiza (PCA, 2D nMDS i UPGMA) sastava etarskih ulja i analiziranih *headspace* frakcija pokazala je da su ispitivani taksoni roda *Heracleum* grupisani u skladu sa njihovom taksonomskom klasifikacijom, nezavisno od lokaliteta i datuma prikupljanja uzoraka. Navedena statistička analiza sastava ulja podzemnih organa, listova i cvasti, kao i *headspace* frakcija podzemnih organa pokazala je odvajanje *H. orphanidis* i *H. austriacum* subsp. *siifolium* od predstavnika grupe *H. sphondylium*, i grupisanje podvrsti *H. pyrenaicum* u okviru ove grupe. Statistička analiza sastava ulja i *headspace* frakcija plodova pokazala je jasno odvajanje *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sekcije *Wendia* od predstavnika sekcije *Heracleum*. Uvođenje treće dimenzije u nMDS analizu sastava ulja plodova dovelo je do potpunog razdvajanja svih vrsta, kao i izdvajanja predstavnika grupe *H. sphondylium*. PCA analiza je pokazala da je veći broj komponenti (a ne isključivo dominantne) doprineo razdvajanju vrsta.

8. S obzirom da je u pojedinim etarskim uljima ispitivanih taksona utvrđeno prisustvo potencijalno fototoksičnih furanokumarina, u skladu sa preporukama Evropske agencije za lekove, procenjen je bezbednosni profil ovih ulja u odnosu na utvrđeni sadržaj ukupnih furanokumarina računatih kao 8-metoksipsoralen (8-MOP). Ustanovljeni su dnevni unosi etarskih ulja koji ne doprinose značajno ukupnom riziku (1,94-15,68 mL), i dnevni unosi etarskih ulja koji ne predstavlja nikakav rizik (0,02-0,16 mL).

9. U suvim dihlormetanskim ekstraktima podzemnih organa, kao i kristalnim talozima dihlormetanskih ekstrakata plodova svih devet taksona identifikovano je ukupno 12 furanokumarina LC-MS metodom korišćenjem pet standardnih supstanci i/ili na osnovu njihovih UV, MS,  $^1\text{H}$  i ROESY NMR spektara.

10. Suvi dihlormetanski ekstrakti podzemnih organa predstavnika sekcije *Heracleum* imali su visok sadržaj ukupnih furanokumarina, među kojima je bio dominantan pimpinelin, a sledili su ga izopimpinelin, sfondin, bergapten i izobergapten. Nasuprot tome, suvi dihlormetanski ekstrakt podzemnih organa *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sekcije *Wendia*, imao je značajno nižu količinu ukupnih furanokumarina, a dominantan je bio ksantotoksin.



11. Kristalni talozi dihlormetanskih ekstrakata plodova ispitivanih taksona sekcije *Heracleum* imali su takođe visok sadržaj ukupnih furanokumarina. U slučaju *H. verticillatum* najzastupljeniji je bio imperatorin, u slučaju *H. orphanidis* bergapten, a u slučaju ostalih šest biakangelikol, bergapten i heraklenin. Nasuprot predstavnicima sekcije *Heracleum*, kristalni talog dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. austriacum* subsp. *siifolium* imao je značajno nižu količinu ukupnih furanokumarina, a dominantan je bio imperatorin.

12. Multivarijantna statistička analiza (PCA, 2D nMDS i UPGMA) furanokumarina podzemnih organa pokazala je odvajanje *H. austriacum* subsp. *siifolium* od predstavnika sekcije *Heracleum*, a analiza furanokumarina plodova i dodatno odvajanje *H. orphanidis* od predstavnika grupe *H. sphondylium*, ali i izdvajanje *H. verticillatum* u okviru ove grupe.

13. Analiza isparljivih metilovanih masnih kiselina i silanizovanih sterola i triterpena uljastih supernatanata dihlormetanskih ekstrakata plodova svih osam predstavnika sekcije *Heracleum* vršena je gasnom hromatografijom sa FID i MS detekcijom. U frakciji masnih kiselina dominantne su bile mononezasićene, prvenstveno petroselinska i oleinska, a sledila ih je po količini linolna. Među sterolima i triterpenima najzastupljeniji su bili fitosteroli, prvenstveno  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol,  $\Delta^7$ -stigmastenol i kampesterol. Jedini identifikovani triterpen  $\alpha$ -amirin bio je zastupljen u značajno nižem procentu.

14. Antimikrobna aktivnost 30 odabranih etarskih ulja, i to po osam ulja podzemnih organa, listova i plodova i šest ulja cvasti ispitivanih taksona testirana je mikrodilucionom metodom na po osam bakterija i mikromiceta.

15. Najbolju antibakterijsku aktivnost pokazali su etarsko ulje podzemnih organa *H. orphanidis* prema svim testiranim bakterijama (izuzev *Listeria monocytogenes*), kao i sva ulja *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* na testirane Gram-pozitivne bakterije (izuzev *L. monocytogenes*). Dodatno, za ulja podzemnih organa i plodova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* demonstriran je značajan efekat na Gram-negativne bakterije (osim na *Salmonella typhimurium*), a za ulja listova i cvasti ovog taksona na *Enterobacter cloacae*. Zanimljivu antibakterijsku aktivnost ispoljilo je i ulje cvasti *H. montanum* prema svim testiranim bakterijama (osim *L. monocytogenes* i *Pseudomonas aeruginosa*), i ulje cvasti *H. sphondylium* na Gram-negativne bakterije.

16. Značajnu aktivnost prema svim testiranim mikromicetama pokazala su etarska ulja cvasti *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum*, podzemnih organa *H. verticillatum* i

plodova *H. sibiricum*, kao i ulja listova *H. orphanidis* (osim na *Aspergillus fumigatus*) i plodova *H. pyrenaicum* subsp. *pollinianum* (osim na *Trichoderma viride* i *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*).

17. Citotoksična aktivnost 26 odabranih etarskih ulja, i to po osam ulja podzemnih organa i plodova, šest ulja listova i četiri ulja cvasti testirana je na humanim tumorskim ćelijskim linijama HeLa, LS174 i/ili A549. Ulja podzemnih organa, listova i plodova *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i *H. ternatum*, podzemnih organa i plodova *H. verticillatum*, i podzemnih organa *H. sphondylium* pokazala su prema svim testiranim ćelijskim linijama tumora značajno citotoksično delovanje. Selektivnost ovog efekta pokazana je na humanoj normalnoj ćelijskoj liniji MRC-5.

18. Antiradikalska aktivnost odabranih 14 etarskih ulja, i to pet ulja podzemnih organa i devet ulja plodova analizirana je DPPH testom. Ulja su ispoljila slabu anti-DPPH aktivnost, što je bilo u skladu sa njihovim hemijskim sastavom. Najbolju aktivnost pokazala su ulja podzemnih organa i plodova *H. sibiricum*, podzemnih organa *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii* i plodova *H. verticillatum* i *H. ternatum*. Doprinos pojedinih komponenti ulja demonstriranom efektu preliminarno je procenjen TLC-DPPH (*dot-blot*) testom.

19. Generalno se može zaključiti da je hemijska karakterizacija sprovedena u okviru ove doktorske disertacije značajno doprinela boljem poznavanju kompozicije odgovarajućih sekundarnih i primarnih metabolita analiziranih predstavnika sekcije *Heracleum*, dok su ispitivanja *H. austriacum* subsp. *siifolium* iz sekcije *Wendia* sprovedena po prvi put. Utvrđeno je da su ispitivani taksoni potencijalno novi biljni izvori jedinjenja značajnih za farmaceutsku, kozmetičku, prehrambenu ili hemijsku industriju. Za komponente etarskih ulja i furanokumarine multivarijantnom statističkom analizom ustanovljeno je da imaju homosistematski značaj. Rezultati ispitivanja farmakoloških aktivnosti etarskih ulja ukazali su na opravdanost daljih istraživanja ovih izolata kao potencijalno novih lekovitih biljnih sirovina, uz uslov poštovanja ustanovljenih maksimalnih dozvoljenih dnevnih unosa za ona etarska ulja u kojima su detektovani furanokumarini.

## LITERATURA

1. Abbet C, Mayor R, Roguet D, Spichiger R, Hamburger M, Potterat O. Ethnobotanical survey on wild alpine food plants in Lower and Central Valais (Switzerland). *J Ethnopharmacol* 2014;151(1):624-634.
2. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, 2007.
3. Adams M, Schneider S-, Kluge M, Kessler M, Hamburger M. Epilepsy in the Renaissance: a survey of remedies from 16th and 17th century German herbals. *J Ethnopharmacol* 2012;143(1):1-13.
4. Adebajo AC, Reisch J. Minor furocoumarins of *Murraya koenigii*. *Fitoterapia* 2000;71(3):334-337.
5. Adiani V, Gupta S, Chatterjee S, Variyar PS, Sharma A. Activity guided characterization of antioxidant components from essential oil of Nutmeg (*Myristica fragrans*). *J Food Sci Technol* 2015;52(1):221-230.
6. Afrisham R, Aberomand M, Ghaffari MA, Siahpoosh A, Jamalan M. Inhibitory effect of *Heracleum persicum* and *Ziziphus jujuba* on activity of alpha-amylase. *J Bot* 2015;2015.
7. Akcin A, Seyis F, Akcin TA, Cayci YT, Coban AY. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of endemic *Heracleum platytaenium* Boiss. from Turkey. *J Essent Oil-Bear Plant* 2013;16(2):166-171.
8. Akhmedov DM, Serkerov SV. Coumarin derivatives from the epigeal part of *Heracleum grandiflorum*. *Chem Nat Compd* 1998;34(1):101-103.
9. Alaluf S, Hu HL, Green MR, Powell JR, Rawlings AV, Rogers JS, i sar. Cosmetic use of petroselinic acid. EP, 1999, 1(013), 178.
10. Alaluf S, Green MR, Powell JR, Rogers JS, Watkinson A, Cain FW, i sar. Petroselinic acid and its use in food. U.S. Patent No. 6,365,175. U.S. Patent and Trademark Office, Washington, DC, 2002.
11. Baba M, Jin Y, Mizuno A, Suzuki H, Okada Y, Takasuka N, i sar. Studies on cancer chemoprevention by traditional folk medicines XXIV. Inhibitory effect of a coumarin derivative, 7-isopentenylcoumarin, against tumor-promotion. *Biol Pharm Bull* 2002;25(2):244-246.

12. Bae DS, Kim CY, Lee JK. Anti-inflammatory effects of dehydrogeijerin in LPS-stimulated murine macrophages. *Int Immunopharmacol* 2012;14(4):734-739.
13. Bağcı E. Fatty acids and tocopherol patterns of some Turkish Apiaceae (Umbelliferae) plants; a chemotaxonomic approach. *Acta Bot Gallica* 2007;154(2):143-151.
14. Bahadori MB, Dinparast L, Zengin G. The genus *Heracleum*: a comprehensive review on its phytochemistry, pharmacology, and ethnobotanical values as a useful herb. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2016;15(6):1018-1039.
15. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem Toxicol* 2008;46(2):446-475.
16. Barrett KE, Green MR, Hu HL, Parmar P, Powell JR, Rawlings AV. Skin care composition. U.S. Patent No. 6,455,057. U.S. Patent and Trademark Office, Washington, DC, 2002.
17. Başer KHC, Kürkçüoğlu M, Aytaç Z. Composition of the essential oil of *Heracleum argaeum* Boiss. et Bal. *J Essent Oil Res* 1998;10(5):561-562.
18. Başer KHC, Kürkçüoğlu M, Adigüzel N, Aytaç Z, Joulain D, Laurent R. Composition of the essential oil of *Heracleum paphlagonicum* Czeczott. *J Essent Oil Res* 2000;12(3):385-386.
19. Başer KHC. Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure Appl Chem* 2002;74(4):527-545.
20. Basílico MZ, Basílico JC. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Lett Appl Microbiol* 1999;29(4):238-241.
21. Bayman P, Baker JL, Doster MA, Michailides TJ, Mahoney NE. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(5):2326-2329.
22. Ben Hsouna A, Ben Halima N, Abdelkafi S, Hamdi N. Essential oil from *Artemisia phaeolepis*: chemical composition and antimicrobial activities. *J Oleo Sci* 2013;62(12):973-980.
23. Benedec D, Hanganu D, Filip L, Oniga I, Tipericiu B, Olah N-, i sar. Chemical, antioxidant and antibacterial studies of Romanian *Heracleum sphondylium*. *Farmacia* 2017;65(2):252-256.

24. Bicchi C, D'Amato A, Frattini C, Cappelletti EM, Caniato R, Filippini R. Chemical diversity of the contents from the secretory structures of *Heracleum sphondylium* subsp. *sphondylium*. *Phytochemistry* 1990;29(6):1883-1887.
25. Bogucka-Kocka A. The analysis of furanocoumarins in fruits of *Heracleum sibiricum* L. *Acta Pol Pharm Drug Res* 1999;56(5):399-402.
26. Bogucka-Kocka A, Krzaczek T. The furanocoumarins in the roots of *Heracleum sibiricum* L. *Acta Pol Pharm Drug Res* 2003;60(5):391-393.
27. Bogucka-Kocka A, Smolarz HD, Kocki J. Apoptotic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukaemia cell lines. *Fitoterapia* 2008;79(7-8):487-497.
28. Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, Legault J. Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *S Afr J Bot* 2010;76(2):210-216.
29. Bradley JM, Fell KR. The anatomy of the fruit of *Heracleum sphondylium* L. *Planta Med* 1966;14(1):10-18.
30. Brehm-Stecher BF, Johnson EA. Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol, bisabolol, and apritone. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(10):3357-3360.
31. Brummitt RK. *Heracleum* L. U: Flora Europaea, Vol. 2. Uredili: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA. Cambridge University Press, London, 1968, str. 364-366.
32. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int J Food Microbiol* 2004;94(3):223-253.
33. Buruk K, Sokmen A, Aydin F, Erturk M. Antimicrobial activity of some endemic plants growing in the Eastern Black Sea Region, Turkey. *Fitoterapia* 2006;77(5):388-391.
34. Chacko S, Sethuraman MG, George V. Monoterpenoids from the seeds of *Heracleum candolleianum*. *Fitoterapia* 2000;71(5):616-617.
35. Chauhan RS, Nautiyal MC, Tava A, Cecotti R. Essential oil composition from leaves of *Heracleum candicans* Wall.: a sustainable method for extraction. *J Essent Oil Res* 2014;26(2):130-132.

36. Chlouchi A, Girard C, Bonet A, Viollon-Abadie C, Heyd B, Manton G, et al. Effect of chrysin and natural coumarins on UGT1A1 and 1A6 activities in rat and human hepatocytes in primary culture. *Planta Med* 2007;73(8):742-747.
37. Christensen LP, Brandt K. Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: occurrence, bioactivity and analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2006;41:683-693.
38. Chu SS, Cao J, Liu QZ, Du SS, Deng ZW, Liu ZL. Chemical composition and insecticidal activity of *Heracleum moellendorffii* Hance essential oil. *Chemija* 2012;23(2):108-112.
39. Cieśla Ł, Bogucka-Kocka A, Hajnos M, Petruczynik A, Waksmundzka-Hajnos M. Two-dimensional thin-layer chromatography with adsorbent gradient as a method of chromatographic fingerprinting of furanocoumarins for distinguishing selected varieties and forms of *Heracleum* spp. *J Chromatogr A* 2008;1207(1-2):160-168.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard - eighth edn. M07-A8. CLSI, Wayne, PA, 2009.
41. Çoruh N, Celep AGS, Özgökçe F. Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food Chem* 2007;100(3):1237-1242.
42. Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv Chim Acta* 1997;80:1144-1152.
43. Da Silva SL, Figueiredo PM, Yano T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves. *Acta Amazonica* 2007;37(2):281-286.
44. Da Silva ACR, Lopes PM, De Azevedo MMB, Costa DCM, Alviano CS, Alviano DS. Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. *Molecules* 2012;17:6305-6316.
45. Dadjou Y, Panahi Y, Pishgoo B, Sahebkar A, Taghipour H, Akbari A, Parvin S. Effects of supplementation with *Heracleum persicum* fruit extract on serum lipids in patients undergoing coronary angiography: a pilot trial. *Phytother Res* 2015;29(1):141-143.

46. Dalouchi F, Banan Khojasteh SM, Dehghan G, Mohhammadnezhad D, Rostampour S, Farsad N. Protective effect of *Heracleum persicum* alcoholic extract on cyclophosphamide-induced gametogenic damage in rats. *Pharmacologyonline* 2014;3:197-202.
47. Dash S, Bhise S, Nath LK, Bhattacharya S. A flavonoid from the roots of *Heracleum nepalense* D. Don. *Asian J Chem* 2006;18(2):1581-1582.
48. Davis PH. *Heracleum* L. U: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 4. Uredio: Davis PH. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1972, str. 488-500.
49. De Miguel D, Gómez P, González R, García-Suárez J, Cuadros JA, Bañas MH, i sar. Nonfatal pulmonary *Trichoderma viride* infection in an adult patient with acute myeloid leukemia: report of one case and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;53(1):33-37.
50. Dehghan H, Sarrafi Y, Salehi P, Nejad Ebrahimi S.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory and antioxidant activity of furanocoumarins from *Heracleum persicum*. *Med Chem Res* 2017;26(4):849-855.
51. Dei Cas L, Pugini F, Fico G. Tradition of use on medicinal species in Valfurva (Sondrio, Italy). *J Ethnopharmacol* 2015;163:113-134.
52. Delbeke EI, Everaert J, Uitterhaegen E, Verweire S, Verlee A, Talou T, i sar. Petroselinic acid purification and its use for the fermentation of new sophorolipids. *AMB Express* 2016;6(1):28-37.
53. Dewick PM. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. John Wiley & Sons, Chichester, 2009.
54. Dincel D, Hatipoğlu SD, Gören AC, Topcü G. Anticholinesterase furocoumarins from *Heracleum platytaenium*, a species endemic to the Ida Mountains. *Turk J Chem* 2013;37(4):675-683.
55. do Nascimento KF, Moreira FMF, Alencar Santos J, Kassuya CAL, Croda JHR, Cardoso CAL, i sar. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *J Ethnopharmacol* 2018;210:351-358.
56. Ebadollahi A, Zavieh EA, Nazifi A, Sendi JJ, Farjaminezhad M, Samadzadeh A, Tajmiri P. Chemical composition and bio-pesticidal values of essential oil isolated

- from the seed of *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer (Apiaceae). Span J Agric Res 2014;12(4):1166-1174.
57. Encyclopedia Britannica, 2018. <https://www.britannica.com/topic/borsch> Pristupljeno: 25.04.2018. god.
  58. Engelhart S, Loock A, Skutlarek D, Sagunski H, Lommel A, Färber H, Exner M. Occurrence of toxigenic *Aspergillus versicolor* isolates and sterigmatocystin in carpet dust from damp indoor environments. Appl Environ Microbiol 2002;68(8):3886-3890.
  59. Erdelmeier CAJ, Meier B, Sticher O. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of closely related furocoumarins. J Chromatogr A 1985;346(C):456-460.
  60. Espinel-Ingroff A. Comparison of the E-test with the NCCLS M38-P method for antifungal susceptibility testing of common and emerging pathogenic filamentous fungi. J Clin Microbiol 2001;39(4):1360-1367.
  61. Euro+Med. Euro+Med PlantBase – the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity, 2006–. <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetailOccurrence.asp?NameId=108690&PTRefFk=7500000> Pristupljeno: 22.08.2018. god.
  62. European Medicines Agency. EMA/HMPC/317913/2006. Final: Reflection paper on the risks associated with furocoumarins contained in preparations of *Angelica archangelica* L. London, 2007.
  63. Evergetis E, Michaelakis A, Kioulos E, Koliopoulos G, Haroutounian SA. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from six Apiaceae family taxa against the West Nile virus vector *Culex pipiens*. Parasitol Res 2009;105(1):117-124.
  64. Falahati-Anbaran M, Mohammadi Bazargani M, Rohloff J. Large scale geographical mapping of essential oil volatiles in *Heracleum* (Apiaceae): identification of novel compounds and unraveling cryptic variation. Chem Biodivers 2018; doi: 10.1002/cbdv.201800230.
  65. Firuzi O, Asadollahi M, Gholami M, Javidnia K. Composition and biological activities of essential oils from four *Heracleum* species. Food Chem 2010;122(1):117-122.



66. French pharmacopoeia. L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), 2007. [http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/2d60bde3ab305070b553b3c5d0a9edd1.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/2d60bde3ab305070b553b3c5d0a9edd1.pdf)      Pristupljeno: 12.08.2018. god.
67. Frérot E, Decorzant E. Quantification of total furocoumarins in citrus oils by HPLC coupled with UV, fluorescence, and mass detection. *J Agric Food Chem* 2004;52(23):6879-6886.
68. Gao Y, Liu Y, Wang Z-, Zhang H-. Chemical constituents of *Heracleum dissectum* and their cytotoxic activity. *Phytochem Lett* 2014;10:276-280.
69. Gelmini F, Ruscica M, Macchi C, Bianchi V, Facino RM, Beretta G, Magni P. Unsaponifiable fraction of unripe fruits of *Olea europaea*: an interesting source of anti-inflammatory constituents. *Planta Med* 2016;82:273-278.
70. George V, Chacko S, Sethuraman MG. Chemical composition of the essential oil from the rhizomes of *Heracleum candolleianum*. *J Essent Oil Res* 2001;13(2):80-81.
71. Glowniak K, Mroczek T, Zabza A, Cierpicki T. Isolation and structure elucidation of 5,7-disubstituted simple coumarins in the fruits of *Heracleum mantegazzianum*. *Pharm Biol* 2000;38(4):308-312.
72. Gonzalez AG, Barroso JT, Lopez Dorta H, Luis JR, Rodriguez Luis F. Componentes de Umbelíferas: XX. Componentes del *Heracleum pyrenaicum* Lam. *An Quim* 1978;74:832-834.
73. Gostuški R. Lečenje lekovitim biljem. Narodna knjiga, Beograd, 1979.
74. Grlić Lj. Samoniklo jestivo bilje. Prosvjeta, Zagreb, 1980.
75. Guinoiseau E, Luciani A, Rossi PG, Quilichini Y, Ternengo S, Bradesi P, Berti L. Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29(7):873-879.
76. Guleria S, Saini R, Jaitak V, Kaul VK, Lal B, Rahi P, i sar. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Heracleum thomsonii* (Clarke) from the cold desert of the western Himalayas. *Nat Prod Res* 2011;25(13):1250-1260.
77. Gupta BD, Banerjee SK, Handa KL, Atal CK. Heratomin and heratomol, new coumarins from *Heracleum thomsoni*. *Phytochemistry* 1976;15(8):1319-1320.

78. Habibi Z, Eshaghi R, Mohammadi M, Yousefi M. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Heracleum rechingeri* Manden from Iran. Nat Prod Res 2010;24(11):1013-1017.
79. Hajhashemi V, Sajjadi SE, Heshmati M. Anti-inflammatory and analgesic properties of *Heracleum persicum* essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. J Ethnopharmacol 2009;124(3):475-480.
80. Hajhashemi V, Dashti G, Saberi S, Malekjamshidi P. The effect of hydroalcoholic extract and essential oil of *Heracleum persicum* on lipid profile in cholesterol-fed rabbits. Avicenna J Phytomed 2014;4(3):144-150.
81. Hänel H, Raether W. A more sophisticated method of determining the fungicidal effect of water-insoluble preparations with a cell harvester, using miconazole as an example. Mycoses 1988;31(3):148-154.
82. Hartvig P. *Heracleum* L. U: Mountain Flora of Greece 1. Uredio: Strid A. Cambridge University Press, Cambridge, 1986, str. 723-725.
83. Hasani R, Mehregan I, Larijani K, Nejdassattari T, Scalone R. Survey of the impacts of soil and climatic variations on the production of essential oils in *Heracleum persicum*. Biodiversitas 2017;18(1):365-377.
84. Hassler M. U: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. Uredili: Roskov Y, Abucay L, Orrell T, Nicolson D, Bailly N, Kirk PM i sar. Species 2000: Naturalis, Leiden, 2018. <http://www.catalogueoflife.org/col> Pristupljeno: 22.08.2018. god.
85. Heimermann WH, Holman RT, Gordon DT, Kowalyshyn DE, Jensen RG. Effect of double bond position in octadecenoates upon hydrolysis by pancreatic lipase. Lipids 1973;8(1):45-47.
86. Heinke R, Franke K, Michels K, Wessjohann L, Ali NAA, Schmidt J. Analysis of furanocoumarins from Yemenite *Dorstenia* species by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. J Mass Spectrom 2012;47(1):7-22.
87. Hemati A, Azarnia M, Nabiuni M, Mirabolghasemi G, Irian S. Effect of the hydroalcoholic extract of *Heracleum persicum* (Golpar) on folliculogenesis in female wistar rats. Cell J 2012;14(1):47-52.

88. Herrmann F, Sporer F, Tahrani A, Wink M. Antitrypanosomal properties of *Panax ginseng* C. A. Meyer: new possibilities for a remarkable traditional drug. *Phytother Res* 2013;27(1):86-98.
89. Huong DT, Choi HC, Rho TC, Lee HS, Lee MK, Kim YH. Inhibitory activity of monoamine oxidase by coumarins from *Peucedanum japonicum*. *Arch Pharm Res* 1999;22(3):324-326.
90. Ibadullaeva SD. Essential oil of *Heracleum antasiaticum*. *Chem Nat Compd* 2000;36(2):218.
91. Ibadullaeva SD, Serkerov SV. Coumarins of *Heracleum pastinacifolium*. *Chem Nat Compd* 2000;36(5):534.
92. Ikeda R, Nagao T, Okabe H, Nakano Y, Matsunaga H, Katano M, Mori M. Antiproliferative constituents in Umbelliferae plants. III. Constituents in the root and the ground part of *Anthriscus sylvestris* Hoffm. *Chem Pharm Bull* 1998;46(5):871-874.
93. Inoue Y, Shiraishi A, Hada T, Hirose K, Hamashima H, Shimada J. The antibacterial effects of terpene alcohols on *Staphylococcus aureus* and their mode of action. *FEMS Microbiol Lett* 2004;237:325-331.
94. Inoue A, Taniguchi M, Shibano M, Wang N-, Baba K. Chemical studies on the root of *Heracleum candicans* Wall. (Part 3). *J Nat Med* 2010;64(2):175-181.
95. Inoue A, Shibano M, Taniguchi M, Baba K, Wang N-. Four novel furanocoumarin glucosides, candinosides A, B, C and D, from *Heracleum candicans* Wall. *J Nat Med* 2011;65(1):116-121.
96. International Conference on Harmonisation (ICH). ICH harmonised tripartite guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). ICH, Geneva, 2005.
97. İşcan G, Demirci F, Kürkçüoğlu M, Kivanç M, Başer KHC. The bioactive essential oil of *Heracleum sphondylium* L. subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt. *Z Naturforsch Sect C J Biosci* 2003;58(3-4):195-200.
98. İşcan G, Özek T, Özek G, Duran A, Başer KHC. Essential oils of three species of *Heracleum*. Anticandidal activity. *Chem Nat Compd* 2004;40(6):544-547.
99. Ivancheva S, Stantcheva B. Ethnobotanical inventory of medicinal plants in Bulgaria. *J Ethnopharmacol* 2000;69(2):165-172.

100. Ivanov S, Zlatanov M, Ivanova E, Aitzetmüller K. Phospholipid composition of 14 types of glyceride oils from representatives of the family Apiaceae of the Bulgarian wild flora. *Lipid/Fett* 1999;101(8):307-309.
101. Iyer D, Patil UK. Evaluation of antihyperlipidemic and antitumor activities of isolated coumarins from *Salvadora indica*. *Pharm Biol* 2014;52(1):78-85.
102. Izzo AA, di Carlo G, Biscardi D, de Fusco R, Mascolo N, Borrelli F, i sar. Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. *Phytother Res* 1995;9(4):281-286.
103. Jagannath N, Ramakrishnaiah H, Krishna V, Gowda PJ. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Heracleum rigens*. *Nat Prod Commun* 2012;7(7):943-946.
104. Jakubowicz O, Zaba C, Nowak G, Jarmuda S, Zaba R, Marcinkowski JT. *Heracleum sosnowskyi* Manden. *Ann Agric Environ Med* 2012;19(2):327-328.
105. Jančić R, Lakušić B. *Botanika farmaceutika*. Lento, Beograd, 2017.
106. Jeon J-, Um B-, Kim CY. A new geranyl phenylpropanoid from *Heracleum moellendorffii* leaves. *Chem Nat Compd* 2017;53(1):56-58.
107. John AJ, Karunakaran VP, George V, Sethuraman MG. Chemical composition of leaf and fruit oils of *Heracleum candolleianum*. *J Essent Oil Res* 2007;19(4):358-359.
108. Joshi R. Chemical composition, *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. sanctum* and their major constituents. *Indian J Pharm Sci* 2013;75(4):457-462.
109. Joshi RK. Chemical constituents of leaf essential oils of *Heracleum candicans* Wall. ex DC from western Himalaya of Uttarakhand, India. *Amer J Essent Oil Nat Prod* 2016;4(2):1-4.
110. Jun NJ, Mosaddik A, Moon JY, Jang K-, Lee D-, Ahn KS, Cho SK. Cytotoxic activity of  $\beta$ -caryophyllene oxide isolated from Jeju Guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf. *Rec Nat Prod* 2011;5(3):242-246.
111. Kang J, Zhou L, Sun J, Han J, Guo D-. Chromatographic fingerprint analysis and characterization of furocoumarins in the roots of *Angelica dahurica* by HPLC/DAD/ESI-MSn technique. *J Pharm Biomed Anal* 2008;47(4-5):778-785.

112. Karimi AG, Ito M. Sedative effect of vapor inhalation of essential oil from *Heracleum afghanicum* Kitamura seeds. J Essent Oil Res 2012;24(6):571-577.
113. Karuppusamy S, Muthuraja G. Radical scavenging activities of *Heracleum aquilegifolium* Wight (Apiaceae) fruit oils *in vitro*. Z Naturforsch Sect C J Biosci 2010;65C(11-12):653-659.
114. Karuppusamy S, Muthuraja G. Chemical composition and antioxidant activity of *Heracleum sprengelianum* (Wight and Arnott) essential oils growing wild in Peninsular India. Iran J Pharm Res 2011;10(4):769-775.
115. Kasumova GK, Serkerov SV. A new natural methoxyfurocoumarin from *Heracleum pastinacifolium*. Chem Nat Compd 2011;47(3):358-359.
116. Kasumova GK, Serkerov SV. A new esterified furocoumarin from *Heracleum pastinacifolium*. Chem Nat Compd 2013;48(6):955-957.
117. Kazemi M, Rostami H, Ameri A. The study of compositions and antimicrobial properties of essential oil of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* on human pathogens. Curr Res Bacteriol 2012;5:1-12.
118. Kharkwal GC, Pande C, Tewari G, Panwar A, Pande V. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Heracleum lanatum* Michx. from Uttarakhand Himalaya. Int J Sci Technol Res 2014;3(12):60-64.
119. Khetwal KS, Pathak RP, Joshi B. Active crystalline principles from *Heracleum brunonis*. J Nat Prod 1987;50(5):997-998.
120. Kılıç CS, Demirci B, Coşkun M, Başer KHC. Chemical Composition of *Heracleum platytaenium* Boiss. (Apiaceae) essential oil from Turkey. Nat Volatiles Essent Oils 2016;3(4):13-23.
121. Kleiman R, Spencer GF. Search for new industrial oils: XVI. Umbelliflorae – seed oils rich in petroselinic acid. J Am Oil Chem Soc 1982;59(1):29-38.
122. Kobaisy M, Abramowski Z, Lermer L, Saxena G, Hancock REW, Towers GHN, i sar. Antimycobacterial polyynes of Devil's club (*Oplonanax horridus*), a North American native medicinal plant. J Nat Prod 1997;60(11):1210-1213.
123. Kordi MF, Valizadeh H, Hosseinzadeh Z, Bahadori MB. Furocoumarins from *Heracleum rawianum* in Iran. Iran Chem Commun 2014;3:1-6.
124. Kovačić ZJ. Multivarijaciona analiza. Univerzitet u Beogradu - Ekonomski fakultet, Beograd, 1994.

125. Kubo I, Morimitsu Y. Cytotoxicity of green tea flavor compounds against two solid tumor cells. *J Agric Food Chem* 1995;43(6):1626-1628.
126. Kukić J, Petrović S, Niketić M. Antioxidant activity of four endemic *Stachys* taxa. *Biol Pharm Bull* 2006;29(4):725-729.
127. Kuljanabhagavad T, Sriubolmas N, Ruangrunsi N. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Heracleum siamicum* Craib. *Pharm Chem J* 2011;45(3):178-182.
128. Kumar R, Banerjee SK, Handa KL. Coumarins of *Heracleum canescens* and *Heracleum pinnatum*; sources for dermal photosensitizing agents. *Planta Med* 1976;30(3):291-294.
129. Kurbanova FK, Serkerov SV. A new psoralenic methoxyfurocoumarin from fruit of *Heracleum transcaucasicum*. *Chem Nat Compd* 2012;48(3):374-375.
130. Kürkçüoğlu M, Özek T, Başer KHC, Malyer H. Composition of the essential oil of *Heracleum platytaenium* Boiss. from Turkey. *J Essent Oil Res* 1995;7(1):69-70.
131. Langeveld WT, Veldhuizen EJA, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol* 2013; doi: 10.3109/1040841X.2013.763219.
132. Laribi B, Kouki K, Bettaieb T, Mougou A, Marzouk B. Essential oils and fatty acids composition of Tunisian, German and Egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: a comparative study. *Ind Crop Prod* 2013;41:312-318.
133. Lawrie W, McLean J, El Garby Younes M. Constituents of the seeds of *Heracleum sphondylium*. *Phytochemistry* 1968;7(11):2065-2066.
134. Leporatti ML, Ivancheva S. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J Ethnopharmacol* 2003;87(2-3):123-142.
135. Lercker G, Rodriguez-Estrada MT. Chromatographic analysis of unsaponifiable compounds of olive oils and fat-containing foods. *J Chromatogr A* 2000;881:105-129.
136. Lesinger I. Kućna biljna ljekarna. Adamić, Rijeka, 2006.

137. Li W, Chen L, Wu C, Xin J. Analysis of the essential oil from seed of *Heracleum moellendorffii* Hance cultivated in northeast China. *Asian J Chem* 2013;25(8):4701-4702.
138. Li B, Zhang X, Wang J, Zhang L, Gao B, Shi S, i sar. Simultaneous characterisation of fifty coumarins from the roots of *Angelica dahurica* by off-line two-dimensional high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Phytochem Anal* 2014;25(3):229-240.
139. Ling TC, Clayton TH, Crawley J, Exton LS, Goulden V, Ibbotson S, i sar. British association of dermatologists and British photodermatology group guidelines for the safe and effective use of psoralen-ultraviolet A therapy 2015. *Br J Dermatol* 2016;174(1):24-55.
140. Liu JH, Zschocke S, Reininger E, Bauer R. Comparison of Radix *Angelicae pubescentis* and substitutes - constituents and inhibitory effect on 5-lipoxygenase and cyclooxygenase. *Pharm Biol* 1998;36(3):207-216.
141. Logacheva MD, Valiejo-Roman CM, Pimenov MG. ITS phylogeny of West Asian *Heracleum* species and related taxa of Umbelliferae-Tordylieae W.D.J.Koch, with notes on evolution of their psbA-trnH sequences. *Plant Syst Evol* 2008;270(3-4):139-157.
142. Łuczaj Ł. Changes in the utilization of wild green vegetables in Poland since the 19th century: a comparison of four ethnobotanical surveys. *J Ethnopharmacol* 2010;128(2):395-404.
143. Lühr-Lehrs. 2018. [http://www.luehr-lehrs.de/PI\\_Heralvent.HTM](http://www.luehr-lehrs.de/PI_Heralvent.HTM) Pristupljeno: 12.08.2018. god.
144. Łuszczki JJ, Andres-Mach M, Gleńsk M, Skalicka-Woźniak K. Anticonvulsant effects of four linear furanocoumarins, bergapten, imperatorin, oxypeucedanin, and xanthotoxin, in the mouse maximal electroshock-induced seizure model: a comparative study. *Pharmacol Rep* 2010;62(6):1231-1236.
145. Maggi F, Quassinti L, Bramucci M, Lupidi G, Petrelli D, Vitali LA, i sar. Composition and biological activities of hogweed [*Heracleum sphondylium* L. subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt] essential oil and its main components octyl acetate and octyl butyrate. *Nat Prod Res* 2014;28(17):1354-1363.

146. Mandenova IP. *Heracleum* L. U: Flora of the U.S.S.R., Vol. 17. Uredio: Schischkin BK. Botanical Institute of the Academy of Sciences of the USSR, Moscow, Leningrad, 1951, str. 222-260.
147. Manzoomi N, Ganbalani GN, Dastjerdi HR, Fathi SAA. Fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula officinalis*, *Artemisia dracuncululus* and *Heracleum persicum* on the adults of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Mun Ent Zool* 2010;5(1):118-122.
148. Martinčić A. *Heracleum* L. U: Mala flora Slovenije. Uredio: Martinčić A. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, 1999, str. 353.
149. Matevski V. *Heracleum* L. U: Flora na republika Makedonija 1 (6). Uredio: Micevski K. Makedonska akademija na naukite i umetnostite, Skopje, 2005, str. 1637-1640.
150. Miladinović DL, Ilić BS, Mihajilov-Krstev TM, Nikolić DM, Cvetković OG, Marković MS, Miladinović LC. Antibacterial activity of the essential oil of *Heracleum sibiricum*. *Nat Prod Commun* 2013;8(9):1309-1311.
151. Mileski KS, Ćirić AD, Trifunović SS, Ristić MS, Soković MD, Matevski VS, i sar. *Heracleum orphanidis*: chemical characterisation, and comparative evaluation of antioxidant and antimicrobial activities with specific interest in the influence on *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Food Funct* 2016;7(9):4061-4074.
152. Milutinović V, Niketić M, Ušjak Lj, Nikolić D, Krunić A, Zidorn C, Petrović S. Methanol extracts of 28 *Hieracium* species from the Balkan Peninsula – comparative LC–MS analysis, chemosystematic evaluation of their flavonoid and phenolic acid profiles and antioxidant potentials. *Phytochem Anal* 2018;29(1):30-47.
153. Mojab F, Nickavar B. Composition of the essential oil of the root of *Heracleum persicum* from Iran. *Iran J Pharm Res* 2003;2:245-247.
154. Moshafi MH, Sharififar F, Dehghan G-, Ameri A. Bioassay screening of the essential oil and various extracts of fruits of *Heracleum persicum* Desf. and rhizomes of *Zingiber officinale* Rosc. using brine shrimp cytotoxicity assay. *Iran J Pharm Res* 2009;8(1):59-63.



155. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65(1-2):55-63.
156. Najafabadi RE, Mohammadi M, Yousefi M, Habibi Z. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from flowers, seeds and stems of *Heracleum rechingeri* (Manden) from Iran. *J Essent Oil-Bear Plant* 2011;14(6):746-750.
157. Nakamori T, Shibano M, Taniguchi M, Wang N-, Baba K. Candibirin A, a furanocoumarin dimer isolated from *Heracleum candicans* Wall. *Acta Crystallogr Sect C: Cryst Struct Commun* 2004;60:833-835.
158. Nakamori T, Taniguchi M, Shibano M, Wang N-, Baba K. Chemical studies on the root of *Heracleum candicans* Wall. *J Nat Med* 2008;62(4):403-412.
159. Nakano Y, Matsunaga H, Saita T, Mori M, Katano M, Okabe H. Antiproliferative constituents in Umbelliferae plants II. Screening for polyacetylenes in some Umbelliferae plants, and isolation of panaxynol and falcarindiol from the root of *Heracleum moellendorffii*. *Biol Pharm Bull* 1998;21:257-261.
160. Nakata H, Sashida Y, Shimomura H. A new phenolic compound from *Heracleum lanatum* Michx. var. *nippinicum* Hara. II. *Chem Pharm Bull* 1982;30(12):4554-4556.
161. Nedelcheva A. An ethnobotanical study of wild edible plants in Bulgaria. *EurAsian J BioSci* 2013;7:77-94.
162. Nie H, Meng LZ, Zhou JY, Fan XF, Luo- Y, Zhang GW. Imperatorin is responsible for the vasodilatation activity of *Angelica dahurica* var. *formosana* regulated by nitric oxide in an endothelium-dependent manner. *Chin J Integr Med* 2009;15(6):442-447.
163. Nikolić V. Apiaceae. U: Flora SR Srbije 5. Uredio: Josifović M. Srpska akademija nauka i umetnosti (SANU), Beograd, 1973a, str. 242-243.
164. Nikolić V. *Heracleum* L. U: Flora SR Srbije 5. Uredio: Josifović M. Srpska akademija nauka i umetnosti (SANU), Beograd, 1973b, str. 298-304.
165. NIST Chemistry WebBook. National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, 2018. <http://webbook.nist.gov/chemistry> Pristupljeno: 22.08.2018. god.

166. Nogueira Neto JD, de Almeida AAC, da Silva Oliveira J, dos Santos PS, de Sousa DP, de Freitas RM. Antioxidant effects of nerolidol in mice hippocampus after open field test. *Neurochem Res* 2013;38(9):1861-1870.
167. Ognyanov I, Gencheva G, Georgiev V, Panov P. Naturcumarine I. Cumarine in *Heracleum verticillatum* Panč. und *Heracleum sibiricum* L. *Planta Med* 1966;14: 19-21.
168. Ohno M, Abe T. Rapid colorimetric assay for the quantification of leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin-6 (IL-6). *J Immunol Methods* 1991;145(1-2):199-203.
169. O'Neill T, Johnson JA, Webster D, Gray CA. The Canadian medicinal plant *Heracleum maximum* contains antimycobacterial diynes and furanocoumarins. *J Ethnopharmacol* 2013;147(1):232-237.
170. Oniszczyk A, Waksmundzka-Hajnos M, Skalicka-Woźniak K, Głowniak K. Comparison of matrix-solid phase dispersion and liquid-solid extraction connected with solid-phase extraction in the quantification of selected furanocoumarins from fruits of *Heracleum leskowitzii* by high performance liquid chromatography. *Ind Crops Prod* 2013;50:131-136.
171. Online Atlas of the British and Irish flora. Biological Records Centre (BRC), Wallingford, 2018. <http://www.brc.ac.uk/plantatlas/plant/heracleum-sphondylium> Pristupljeno: 22.08.2018. god.
172. Özkırım A, Keskin N, Kürkcüoğlu M, Başer KHC. Evaluation of some essential oils as alternative antibiotics against American foulbrood agent *Paenibacillus* larvae on honey bees *Apis mellifera* L. *J Essent Oil Res* 2012;24(5):465-470.
173. Panahi Y, Pishgoo B, Beiraghdar F, Araghi ZM, Sahebkar A, Abolhasani E. Results of a randomized, open-label, clinical trial investigating the effects of supplementation with *Heracleum persicum* extract as an adjunctive therapy for dyslipidemia. *Sci World J* 2011;11:592-601.
174. Panahi Y, Pishgoo B, Sahebkar A. Angiographic findings after supplementation with *Heracleum persicum* extract: results of a randomized controlled trial. *Heart Views* 2015a;16:85-87.

175. Panahi Y, Dadjo Y, Pishgoo B, Akbari A, Sahebkar A. Clinical evaluation of the anti-inflammatory effects of *Heracleum persicum* fruits. *Comp Clin Pathol* 2015b;24(4):971-974.
176. Papageorgiou VP, Ochir G, Motl O, Argyriadou N, Dunkel H. Composition of the essential oil from *Heracleum dissectum*. *J Nat Prod* 1985;48(5):851-853.
177. Park H-. Toxicological studies on the essential oil of *Eugenia caryophyllata* buds. *Nat Prod Sci* 2006;12(2):94-100.
178. Park HJ, Nugroho A, Jung B, Won YH, Jung YJ, Kim WB, Choi JS. Isolation and quantitative analysis of flavonoids with peroxynitrite-scavenging effect from the young leaves of *Heracleum moellendorffii*. *Korean J Plant Res* 2010;23:393-398.
179. Pavela R, Maggi F, Cianfaglione K, Bruno M, Benelli G. Larvicidal activity of essential oils of five Apiaceae taxa and some of their main constituents against *Culex quinquefasciatus*. *Chem Biodivers* 2017;15:e1700382.
180. Pavlović M. Proučavanje sastojaka *Anthemis triumfetti* (*Asteraceae*) i poređenje sa drugim vrstama podroda *Cota*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet, 2008.
181. Peev D. *Heracleum* L. U: Flora na Narodna Republika Bălgaria, Vol. VIII. Uredili: Velčev V, Kožuharov S. Academia scientiarum Bulgaricae, Sofia, 1982, str. 246.
182. Petrović S, Ušjak Lj, Milenković M, Arsenijević J, Drobac M, Drndarević A, Niketić M. *Thymus dacicus* as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. *J Funct Foods* 2017;28:114-121.
183. Pignatti S. Flora d'Italia, Vol. 2. Edagricole, Bologna, 1982.
184. Pirbalouti AG, Sedaghat L, Hamedi B, Tirgir F. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of three endemic medicinal plants of Iran. *Bangladesh J Bot* 2013;42(2):327-332.
185. Pommerville JC. Alcamo's Fundamentals of Microbiology. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, 2011.
186. Pu F, Watson MF. *Heracleum* L. U: Flora of China, Vol. 14. Uredili: komitet editora. Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 2005, str. 194-202.

187. Purushothaman DN, Ravi S. GC-MS analysis of essential oil obtained from *Heracleum candolleianum* (Wight et Arn). J Pharm Res 2013;6:155-157.
188. Pyšek P, Pergl J, Jahodová Š, Moravcová L, Müllerová J, Perglová I, Wild J. The hogweed story: invasion of Europe by large *Heracleum* species. U: Atlas of Biodiversity Risk. Uredili: Settele J, Peven L, Georgiev T, Grabaum R, Grobelnik V, Hammen V, i sar. Pensoft Publishers, Sofia, 2010, str. 150-151.
189. Rabrenović BB, Dimić EB, Novaković MM, Tešević VV, Basić ZN. The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. LWT-Food Sci Technol 2014;55(2):521-527.
190. Radjabian T, Salimi A, Rahmani N, Shockravi A, Mozaffarian V. Essential oil composition of some wild populations of *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer growing in Iran. J Essent Oil-Bear Plant 2013;16(6):841-849.
191. Radjabian T, Salimi A, Rahmani N. Essential-oil composition of the fruits of six *Heracleum* L. species from Iran: chemotaxonomic significance. Chem Biodivers 2014;11(12):1945-1953.
192. Raquet N, Schrenk D. Application of the equivalency factor concept to the phototoxicity and -genotoxicity of furocoumarin mixtures. Food Chem Toxicol 2014;68:257-266.
193. Rašić A. Preživeti u prirodi. Kolor pres, Lapovo, 2002.
194. Rawat AKS, Singh AP, Singh DP, Pandey MM, Govindarajan R, Srivastava S. Separation and identification of furocoumarin in fruits of *Heracleum candicans* DC. by HPTLC. J Chem 2013;2013.
195. Razdan TK, Kachroo V, Harkar S, Koul GL. Furanocoumarins from *Heracleum canescens*. Phytochemistry 1982;21(4):923-927.
196. Reduron JP, Rottensteiner WK, Scheuer C. Beiträge zur Flora von Istrien V: the Istrian Apiaceae: a new determination key, distribution maps, and a list of specimens housed in the herbarium GZU. Fritschiana (Graz) 2015;81:1-80.
197. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. J Ethnopharmacol 2005;100(1-2):80-84.
198. Rusinov KS. Anticonvulsive activity of certain furocoumarins. C R Acad Bulg Sci 1966;19(10):985-987.

199. Satzyperova IF. Борщевики флоры СССР - новые кормовые растения. Наука, Leningrad, 1984.
200. Sayyah M, Moaied S, Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed. J Ethnopharmacol 2005;98(1-2):209-211.
201. Sedaghat MM, Sanei Dehkordi A, Abai MR, Khanavi M, Mohtarami F, Salim Abadi Y, i sar. Larvicidal activity of essential oils of Apiaceae plants against malaria vector, *Anopheles stephensi*. Iran J Arthropod-Borne Diseases 2011;5(2):51-59.
202. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the oil of *Heracleum persicum* L. (leaves and flowers). J Essent Oil Res 2002;14(4):295-297.
203. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the oil of *Heracleum persicum* L. (seeds and stems). J Essent Oil Res 2004;16(4):296-298.
204. Senejoux F, Demougeot C, Cuciureanu M, Miron A, Cuciureanu R, Berthelot A, Girard-Thernier C. Vasorelaxant effects and mechanisms of action of *Heracleum sphondylium* L. (Apiaceae) in rat thoracic aorta. J Ethnopharmacol 2013;147(2):536-539.
205. Seo WD, Kim JY, Ryu HW, Kim JH, Han S-, Ra J-, i sar. Identification and characterisation of coumarins from the roots of *Angelica dahurica* and their inhibitory effects against cholinesterase. J Funct Foods 2013;5(3):1421-1431.
206. Setzer WN, Vogler B, Bates RB, Schmidt JM, Dicus CW, Nakkiew P, Haber WA. HPLC-NMR/HPLC-MS analysis of the bark extract of *Stauranthus perforatus*. Phytochem Anal 2003;14(1):54-59.
207. Setzer WN, Schmidt JM, Noletto JA, Vogler B. Leaf oil compositions and bioactivities of abaco bush medicines. Pharmacologyonline 2006;3:794-802.
208. Shaaban HAE, El-Ghorab AH, Shibamoto T. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: review. J Essent Oil Res 2012;24(2):203-212.
209. Sharififar F, Pournourmohammadi S, Arabnejad M, Rastegarianzadeh R, Ranjbaran O, Purhemmaty A. Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Heracleum persicum* Desf. in mice. Iran J Pharm Res 2009;8(4):287-292.
210. Sharma YN, Zaman A, Kidwai AR. Chemical examination of *Heracleum candicans* - I. Isolation and structure of a new furocoumarin - heraclenin. Tetrahedron 1964a;20(1):87-90.

211. Sharma YN, Sharma RC, Zaman A, Kidwai AR. Chemical examination of *Heracleum candicans*. II Isolation and structure of a new furocoumarin, heraclenol. *Naturwissenschaften* 1964b;51(22):537.
212. Sharma YN, Zaman A, Kidwai AR, Bates RB, Thalacker VP. Coumarin constituents of *Heracleum candicans* - III. *Tetrahedron* 1966;22(9):3221-3225.
213. Shimomura H, Sashida Y, Nakata H, Kawasaki J, Ito Y. Plant growth regulators from *Heracleum lanatum*. *Phytochemistry* 1982;21(9):2213-2215.
214. Shin E, Lee C, Sung SH, Kim YC, Hwang BY, Lee MK. Antifibrotic activity of coumarins from *Cnidium monnieri* fruits in HSC-T6 hepatic stellate cells. *J Nat Med* 2011;65(2):370-374.
215. Shokri H, Sharifzadeh A, Ashrafi Tamai I. Anti-*Candida zeylanoides* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *J Mycol Med* 2012;22(3):211-216.
216. Singh DP, Govindarajan R, Rawat AKS. Comparison of different analytical HPLC columns for determination of furocoumarins in *Heracleum candicans* fruits. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2008;31(3):421-427.
217. Skalicka-Woźniak K, Głowniak K. Pressurized liquid extraction of coumarins from fruits of *Heracleum leskowiei* with application of solvents with different polarity under increasing temperature. *Molecules* 2012;17(4):4133-4141.
218. Skalicka-Woźniak K, Mendel M, Chłopecka M, Dziekan N. Isolation and evaluation of the myorelaxant effect of bergapten on isolated rat jejunum. *Pharm Biol* 2016;54(1):48-54.
219. Skalicka-Woźniak K, Grzegorzczak A, Świętek Ł, Walasek M, Widelski J, Rajtar B, i sar. Biological activity and safety profile of the essential oil from fruits of *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae). *Food Chem Toxicol* 2017;109:820-826.
220. Sperotto ARM, Moura DJ, Péres VF, Damasceno FC, Caramão EB, Henriques JAP, Saffi J. Cytotoxic mechanism of *Piper gaudichaudianum* Kunth essential oil and its major compound nerolidol. *Food Chem Toxicol* 2013;57:57-68.
221. Sobral MV, Xavier AL, Lima TC, de Sousa DP. Antitumor activity of monoterpenes found in essential oils. *Sci World J* 2014; doi: 10.1155/2014/953451.

222. Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, Van Griensven LJLD. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. *Molecules* 2010;15(11):7532-7546.
223. Souri E, Farsam H, Sarkheil P, Ebadi F. Antioxidant activity of some furanocoumarins isolated from *Heracleum persicum*. *Pharm Biol* 2004;42(6):396-399.
224. Sriti J, Wannas WA, Talou T, Mhamdi B, Cerny M, Marzouk B. Lipid profiles of Tunisian coriander (*Coriandrum sativum*) seed. *J Am Oil Chem Soc* 2010;87(4):395-400.
225. St-Gelais A, Collin G, Pichette A. Aromas from Quebec. V. Essential oils from the fruits and stems of *Heracleum maximum* Bartram and their unsaturated aliphatic acetates. *J Essent Oil Res* 2017;29(2):126-136.
226. StatSoft Statistica (data analysis software system), version 6.0. StatSoft Inc, Tulsa, 2001.
227. Steck W. Leaf furanocoumarins of *Heracleum lanatum*. *Phytochemistry* 1970;9(5):1145-1146.
228. Stevanović V. *Heracleum orphanidis* Boiss. U: Flora SR Srbije 10. Uredili: Sarić M, Diklić N. Srpska akademija nauka i umetnosti (SANU), Beograd, 1986, str. 152.
229. Stevens PF. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14 (July 2017), 2001–. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> Pristupljeno: 16.09.2018. god.
230. Suffness M, Pezzuto JM. Assay related to cancer drug discovery. U: Methods in plant biochemistry. Assays for bioactivity, Vol 6. Uredio: Hostettmann K. Academic Press, London, 1991.
231. Sumiyoshi M, Sakanaka M, Taniguchi M, Baba K, Kimura Y. Anti-tumor effects of various furocoumarins isolated from the roots, seeds and fruits of *Angelica* and *Cnidium* species under ultraviolet A irradiation. *J Nat Med* 2014;68(1):83-94.
232. Sylvestre M, Pichette A, Lavoie S, Longtin A, Legault J. Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina* (L.) Coulter. *Phytother Res* 2007;21(6):536-540.
233. Synowiec A, Kalemba D. Composition and herbicidal effect of *Heracleum sosnowskyi* essential oil. *Open Life Sci* 2015;10(1):425-432.

234. Tang CH, Yang RS, Chien MY, Chen CC, Fu WM. Enhancement of bone morphogenetic protein-2 expression and bone formation by coumarin derivatives via p38 and ERK-dependent pathway in osteoblasts. *Eur J Pharmacol* 2008;579(1-3):40-49.
235. Taniguchi M, Yokota O, Shibano M, Wang N-, Baba K. Four coumarins from *Heracleum yunnghingense*. *Chem Pharm Bull* 2005;53(6):701-704.
236. Taniguchi M, Inoue A, Shibano M, Wang NH, Baba K. Five condensed furanocoumarins from the root of *Heracleum candicans* Wall. *J Nat Med* 2011;65(2):268-274.
237. Tao R, Wang C-, Kong Z-. Antibacterial/antifungal activity and synergistic interactions between polyprenols and other lipids isolated from *Ginkgo biloba* L. leaves. *Molecules* 2013;18(2):2166-2182.
238. Tirillini B, Ricci A. Furocoumarin production by callus tissues of *Heracleum sphondylium* L. *Phytother Res* 1998;12(SUPPL. 1):S25-S26.
239. Tkachenko KG. Constituents of essential oils from fruit of some *Heracleum* L. species. *J Essent Oil Res* 1993;5(6):687-689.
240. Tkachenko KG, Zenkevich IG. The essential oil of the flowers of *Heracleum antasiaticum* Manden. grown in Russia. *J Essent Oil Res* 1993;5(2):227-228.
241. Tkachenko KG. Composition of the essential oils of *Heracleum stevenii* Manden. *J Essent Oil Res* 1994;6(5):535-537.
242. Tkachenko KG. Antiviral activity of the essential oils of some *Heracleum* L. species. *J Herbs Spices Med Plants* 2006;12(3):1-12.
243. Tkachenko KG. Essential oils from roots of certain *Heracleum* species. *Chem Nat Compd* 2009;45(4):578-581.
244. Tkachenko KG. Essential oils from leaves of several *Heracleum* species growing in Leningrad oblast. *Chem Nat Compd* 2010;46(2):319-321.
245. Togashi N, Shiraishi A, Nishizaka M, Matsuoka K, Endo K, Hamashima H, Inoue Y. Antibacterial activity of long-chain fatty alcohols against *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 2007;12:139-148
246. Tonascia N. Biosystematische Untersuchungen an *Heracleum sphondylium* s.l. in der Schweiz. *Ber Geobot Inst ETH* 1992;58:101-120.

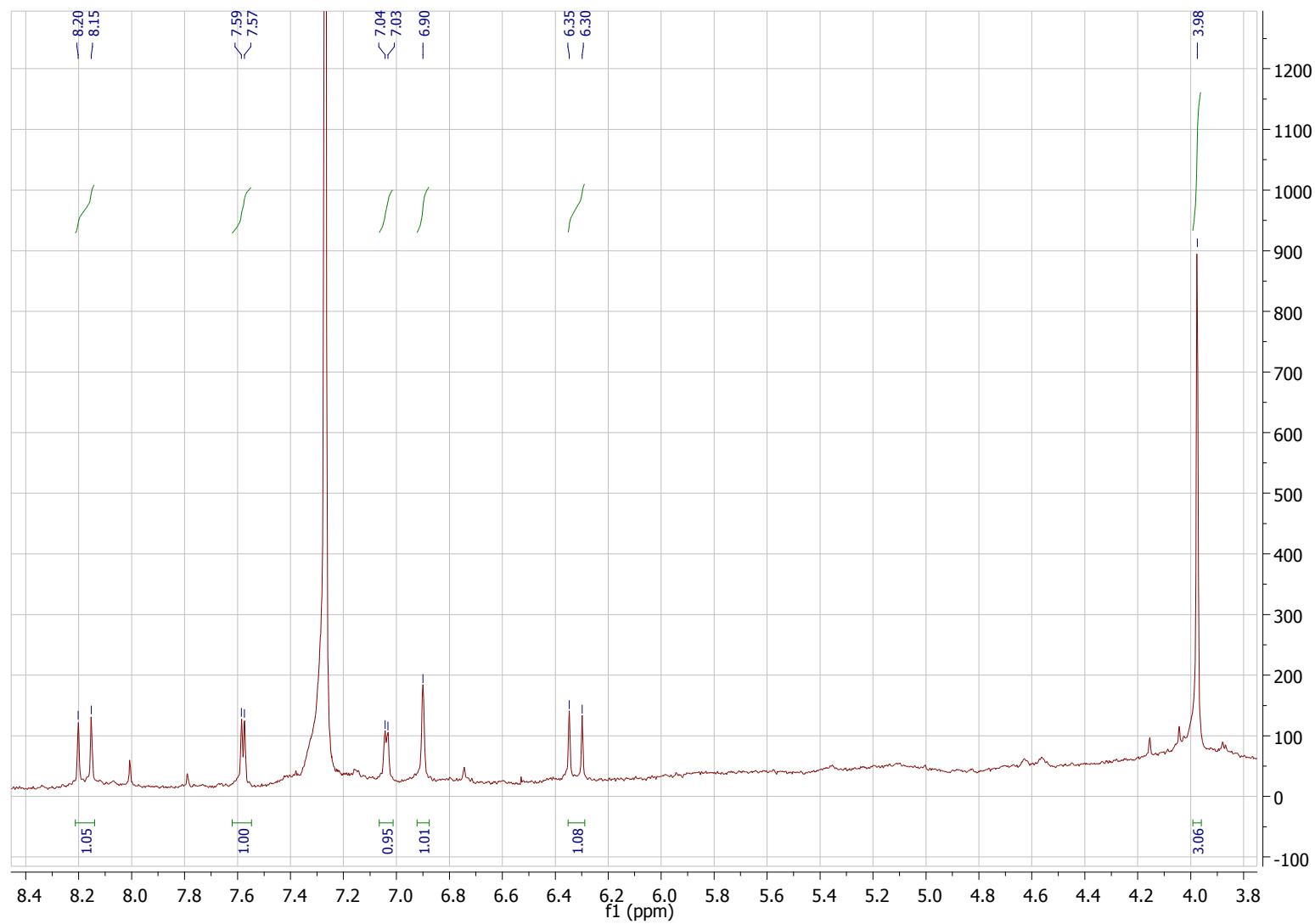


247. Torbati M, Nazemiyeh H, Lotfipour F, Asnaashari S, Nemati M, Fathiazad F. Composition and antibacterial activity of *Heracleum transcaucasicum* and *Heracleum anisactis* aerial parts essential oil. *Adv Pharm Bull* 2013;3(2):415-418.
248. Torbati M, Nazemiyeh H, Lotfipour F, Nemati M, Asnaashari S, Fathiazad F. Chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Heracleum transcaucasicum* and *Heracleum anisactis* roots essential oil. *BioImpacts* 2014;4(2):69-74.
249. Tosun F, Kizilay CA, Erol K, Kiliç FS, Kürkcüoğlu M, Başer KHC. Anticonvulsant activity of furanocoumarins and the essential oil obtained from the fruits of *Heracleum crenatifolium*. *Food Chem* 2008;107(3):990-993.
250. Tsukatani T, Suenaga H, Shiga M, Noguchi K, Ishiyama M, Ezo T, Matsumoto K. Comparison of the WST-8 colorimetric method and the CLSI broth microdilution method for susceptibility testing against drug-resistant bacteria. *J Microbiol Methods* 2012;90(3):160-166.
251. Tucakov J. Lečenje biljem. Rad, Beograd, 1997.
252. Tvrzicka E, Kremmyda LS, Stankova B, Ales Z. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease - a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Pap* 2011;155(2):117-130.
253. Venugopala KN, Rashmi V, Odhav B. Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *Biomed Res Int* 2013; doi: 10.1155/2013/963248.
254. Vračarić B, Bakić J, Čolić D, Lintner V, Micković M, Rajšić R i sar. Ishrana u prirodi. Vojnoizdavački zavod, Narodna knjiga, Beograd, 1977.
255. Wakelin SH. Handbook of systemic drug treatment in dermatology. CRC Press, Taylor & Francis group, Boca Raton, FL, 2013.
256. Walasek M, Grzegorzcyk A, Malm A, Skalicka-Woźniak K. Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae) fruits by high-performance counter-current chromatography. *Food Chem* 2015;186:133-138.

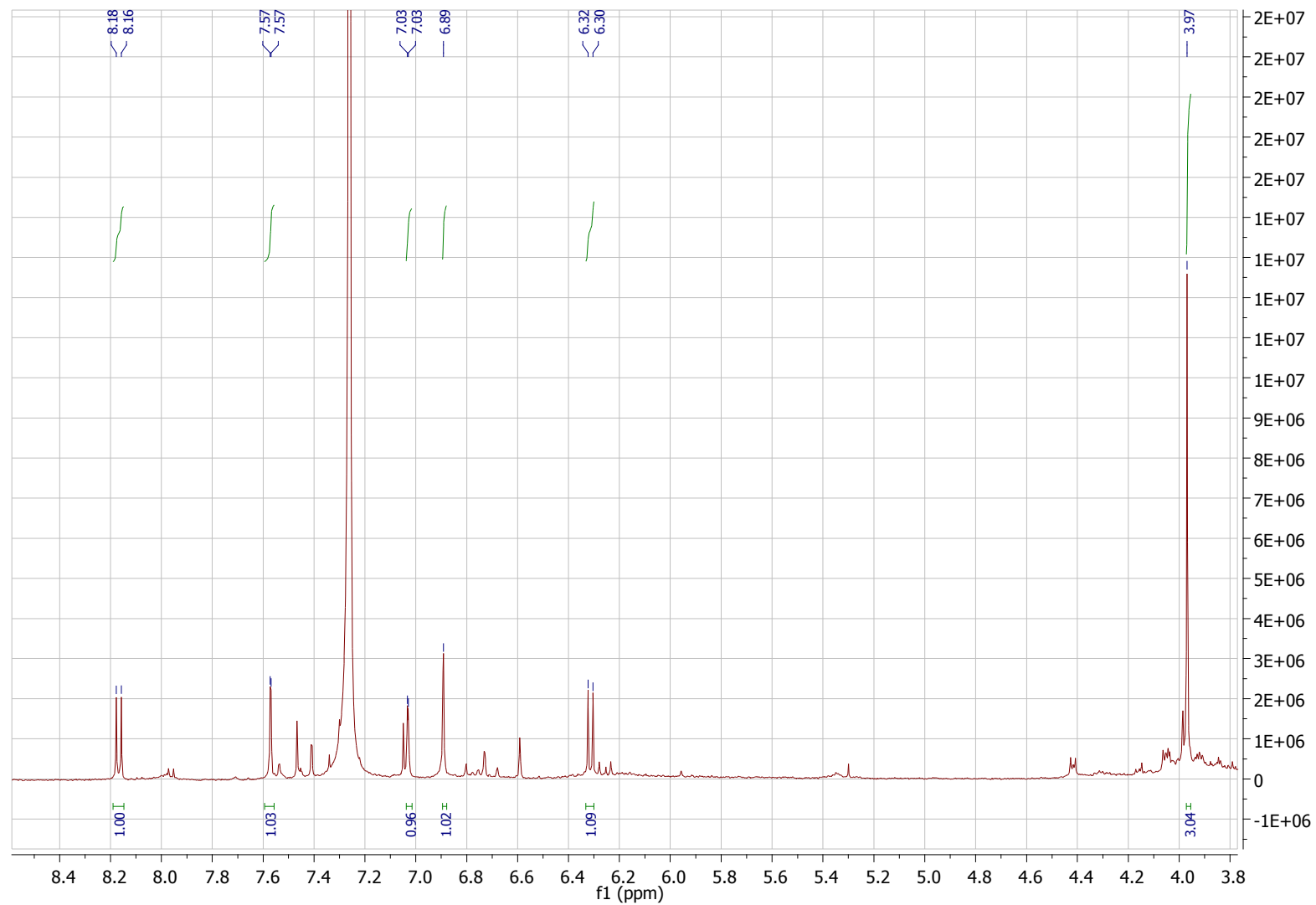
257. Wang CC, Lai JE, Chen LG, Yen KY, Yang LL. Inducible nitric oxide synthase inhibitors of Chinese herbs. Part 2: naturally occurring furanocoumarins. *Bioorg Med Chem* 2000;8(12):2701-2707.
258. Wang X-, Li G-, Li L, Zheng L-, Huang R, Zhang K-. Nematicidal coumarins from *Heracleum candicans* Wall. *Nat Prod Res* 2008;22(8):666-671.
259. Wang Z, Kim JR, Wang M, Shu S, Ahn YJ. Larvicidal activity of *Cnidium monnieri* fruit coumarins and structurally related compounds against insecticide-susceptible and insecticide-resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti*. *Pest Manag Sci* 2012;68(7):1041-1047.
260. Wang Z-, Mi J, Wang X-, Huo Y-, Peng Y-, Zhang H-, i sar. A new cinnamic acid glycoside from roots of *Heracleum dissectum*. *Nat Prod Res* 2018;32(2):133-140.
261. Wangchuk P, Pyne SG, Keller PA, Taweechotipatr M, Kamchonwongpaisane S. Phenylpropanoids and furanocoumarins as antibacterial and antimalarial constituents of the Bhutanese medicinal plant *Pleurospermum amabile*. *Nat Prod Commun* 2014;9(7):957-960.
262. Webster D, Taschereau P, Lee TDG, Jurgens T. Immunostimulant properties of *Heracleum maximum* Bartr. *J Ethnopharmacol* 2006;106(3):360-363.
263. Weimarck G, Nilsson E. Phototoxicity in *Heracleum sphondylium*. *Planta Med* 1980;38(2):97-111.
264. Weinkauff R, Santhanam U, Palanker LR, Januario TE, Brinker A. Petroselinic acid as an anti-irritant in compositions containing alpha-hydroxy acids. U.S. Patent No. 6,022,896. U.S. Patent and Trademark Office, Washington, DC, 2000.
265. Wickel SM, Citron CA, Dickschat JS. 2H-Pyran-2-ones from *Trichoderma viride* and *Trichoderma asperellum*. *Eur J Org Chem* 2013;2013(14):2906-2913.
266. Xiao W, Li S, Niu X, Zhao Y, Sun H. Rapulasides A and B: two novel intermolecular rearranged biiridoid glucosides from the roots of *Heracleum rapula*. *Tetrahedron Lett* 2005;46(34):5743-5746.
267. Xie Y, Zhao W, Zhou T, Fan G, Wu Y. An efficient strategy based on MAE, HPLC-DAD-ESI-MS/MS and 2D-prep-HPLC-DAD for the rapid extraction, separation, identification and purification of five active coumarin components from *Radix Angelicae dahuricae*. *Phytochem Anal* 2010;21(5):473-482.

268. Yang LL, Wang MC, Chen LG, Wang CC. Cytotoxic activity of coumarins from the fruits of *Cnidium monnieri* on leukemia cell lines. *Planta Med* 2003;69(12):1091-1095.
269. Yang W, Ye M, Liu M, Kong D, Shi R, Shi X, i sar. A practical strategy for the characterization of coumarins in *Radix Glehniae* by liquid chromatography coupled with triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2010;1217(27):4587-4600.
270. Yang IJ, Lee DU, Shin HM. Anti-inflammatory and antioxidant effects of coumarins isolated from *Foeniculum vulgare* in lipopolysaccharide-stimulated macrophages and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-stimulated mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2015;37(3):308-317.
271. Zapata B, Betancur-Galvis L, Duran C, Stashenko E. Cytotoxic activity of Asteraceae and Verbenaceae family essential oils. *J Essent Oil Res* 2014;26(1):50-57.
272. Zhang C, Liu Y, Xiao YQ, Li L. A new trimeric furanocoumarin from *Heracleum rapula*. *Chin Chem Lett* 2009a;20(9):1088-1090.
273. Zhang H, Gong C, Lv L, Xu Y, Zhao L, Zhu Z, i sar. Rapid separation and identification of furocoumarins in *Angelica dahurica* by high-performance liquid chromatography with diode-array detection, time-of-flight mass spectrometry and quadrupole ion trap mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2009b;23(14):2167-2175.
274. Zhang H-, Wu X-, Mi J, Peng Y-, Wang Z-, Liu Y, i sar. A new anti-inflammatory alkaloid from roots of *Heracleum dissectum*. *Chem Biodivers* 2017a;14(9).
275. Zhang H, Su Y, Wang X, Mi J, Huo Y, Wang Z, i sar. Antidiabetic activity and chemical constituents of the aerial parts of *Heracleum dissectum* Ledeb. *Food Chem* 2017b;214:572-579.
276. Zidorn C, Jöhrer K, Ganzera M, Schubert B, Sigmund EM, Mader J, i sar. Polyacetylenes from the Apiaceae vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. *J Agric Food Chem* 2005;53(7):2518-2523.

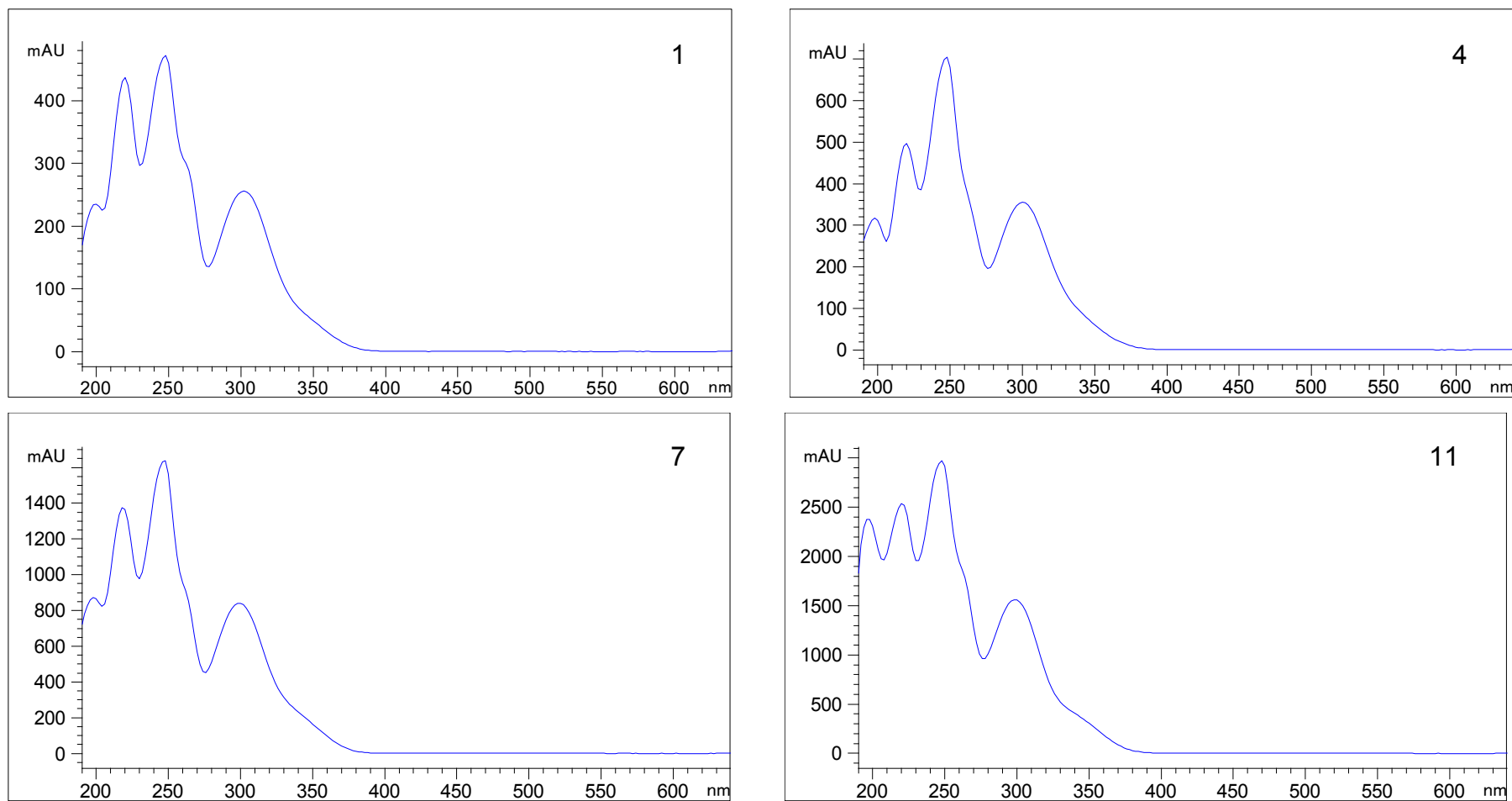
# **PRILOG**



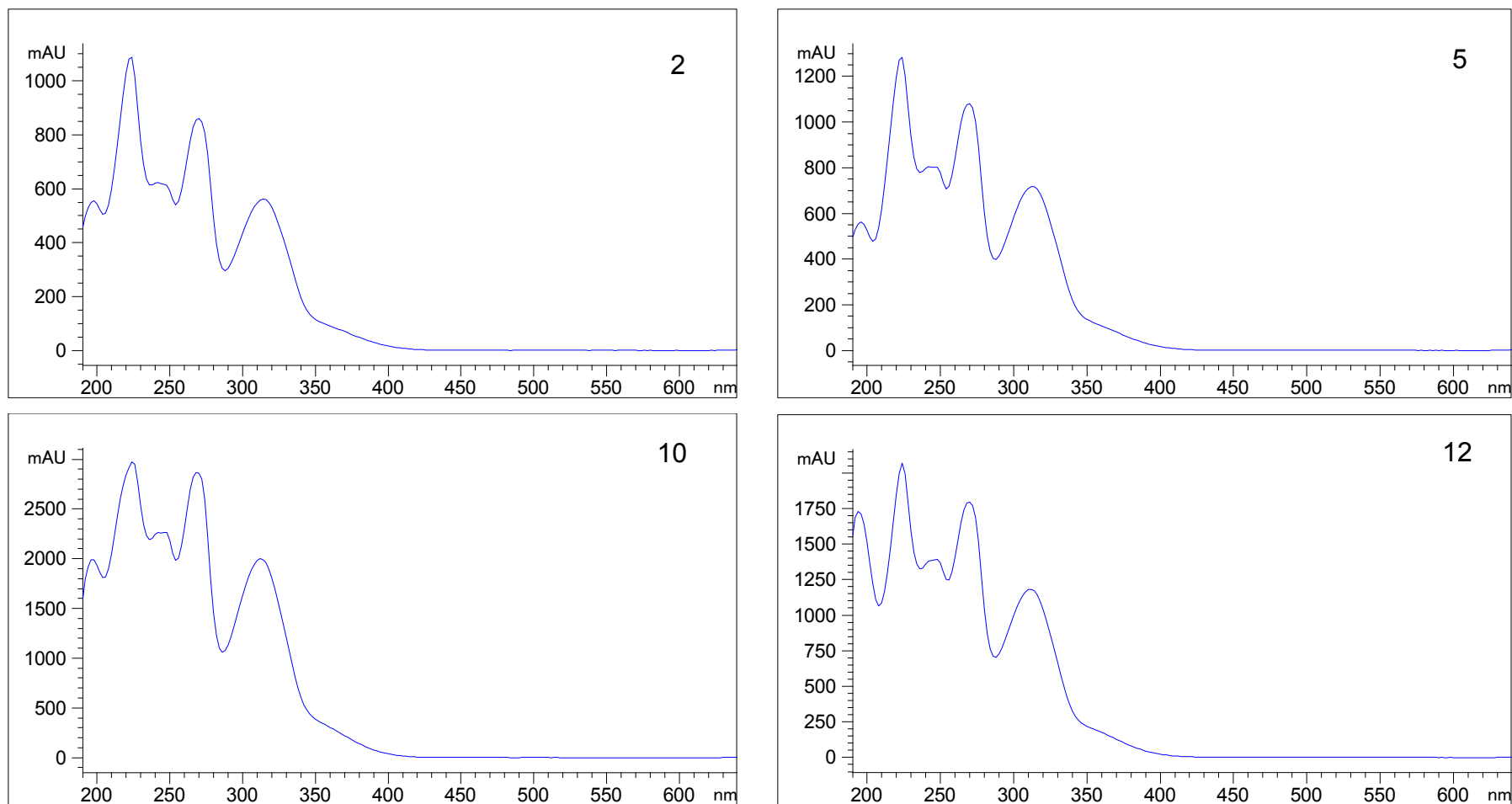
Slika 1.  $^1\text{H}$  NMR spektar izobergaptena koji je iskristalisao iz etarskog ulja podzemnih organa *H. ternatum*



Slika 2.  $^1\text{H}$  NMR spektar izobergaptena koji je iskristalisao iz etarskog ulja podzemnih organa *H. pyrenaicum* subsp. *orsinii*

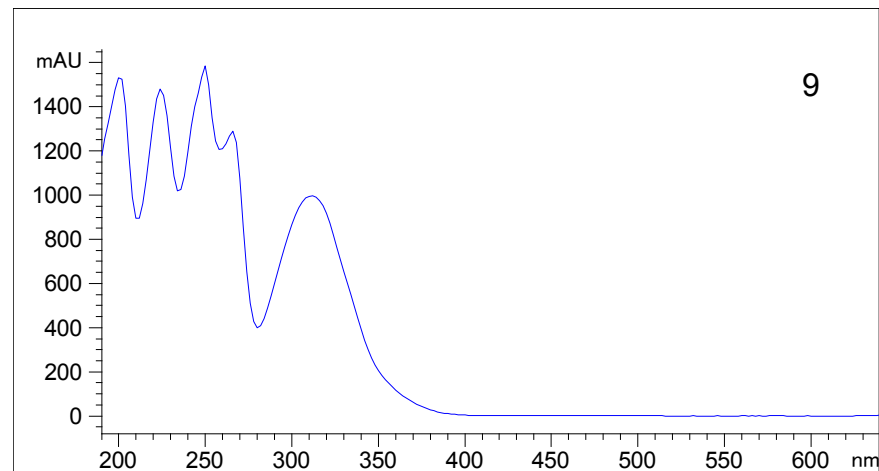
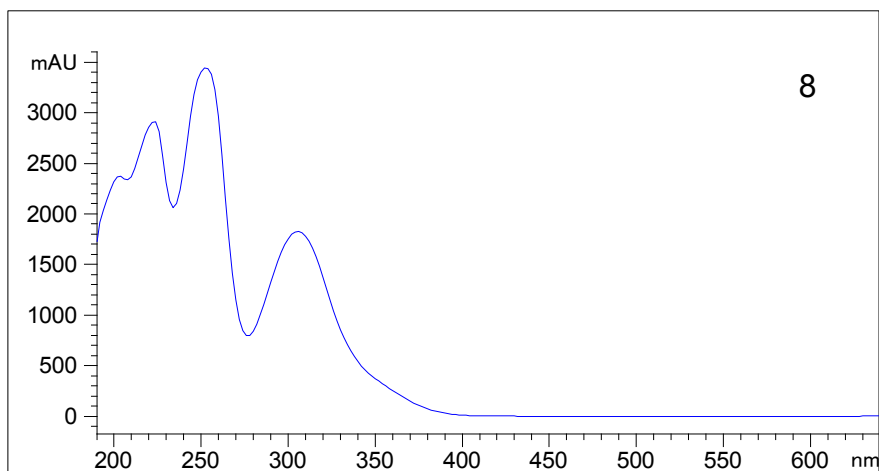
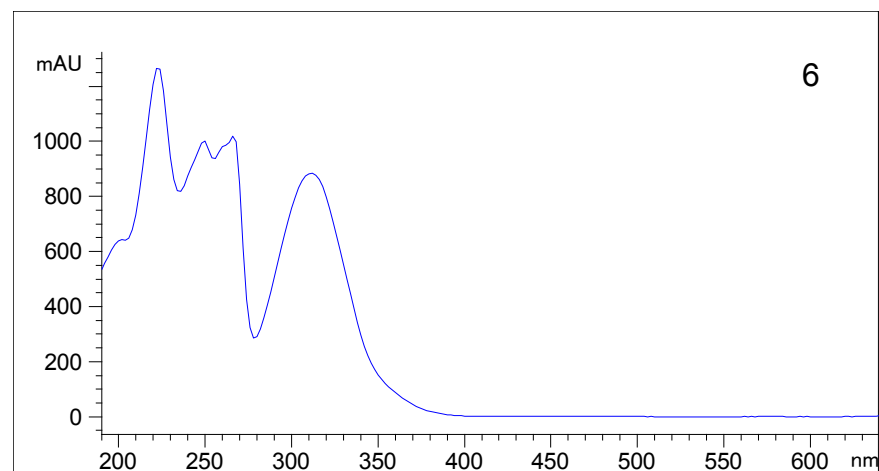
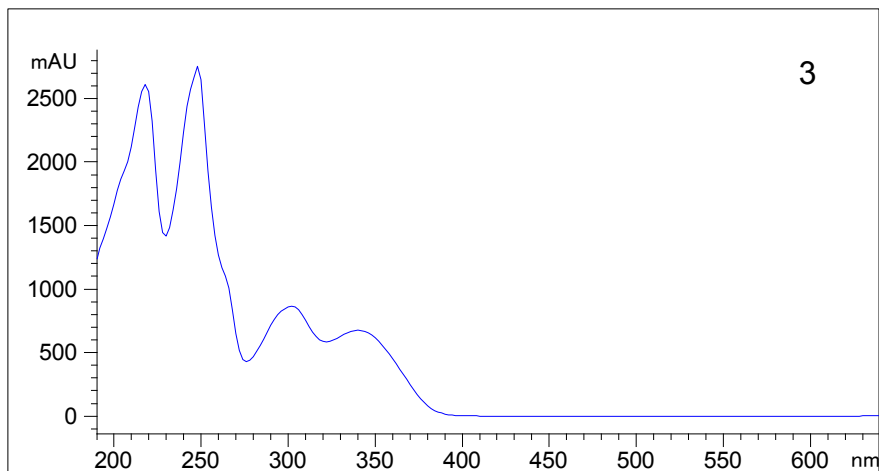


**Slika 3.** UV spektri linearnih furanokumarina supstituisanih na položaju 8: heraklenol (**1**), ksantotoksin (**4**), heraklenin (**7**), imperatorin (**11**)

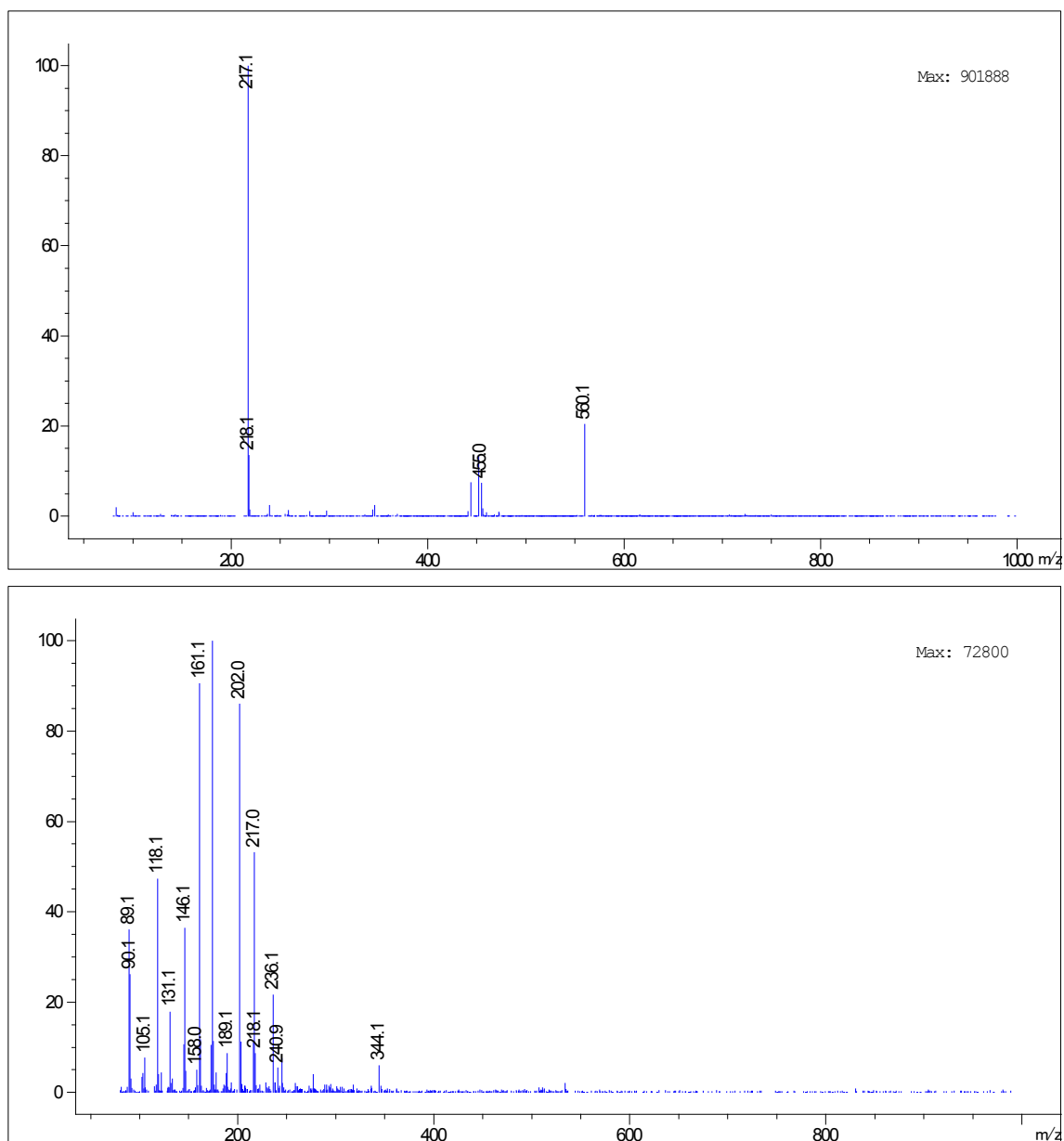


**Slika 4.** UV spektri linearnih furanokumarina supstituisanih na položajima 5 i 8: biakangelicin (**2**), izopimpinelin (**5**), biakangelikol (**10**), felopterin (**12**)

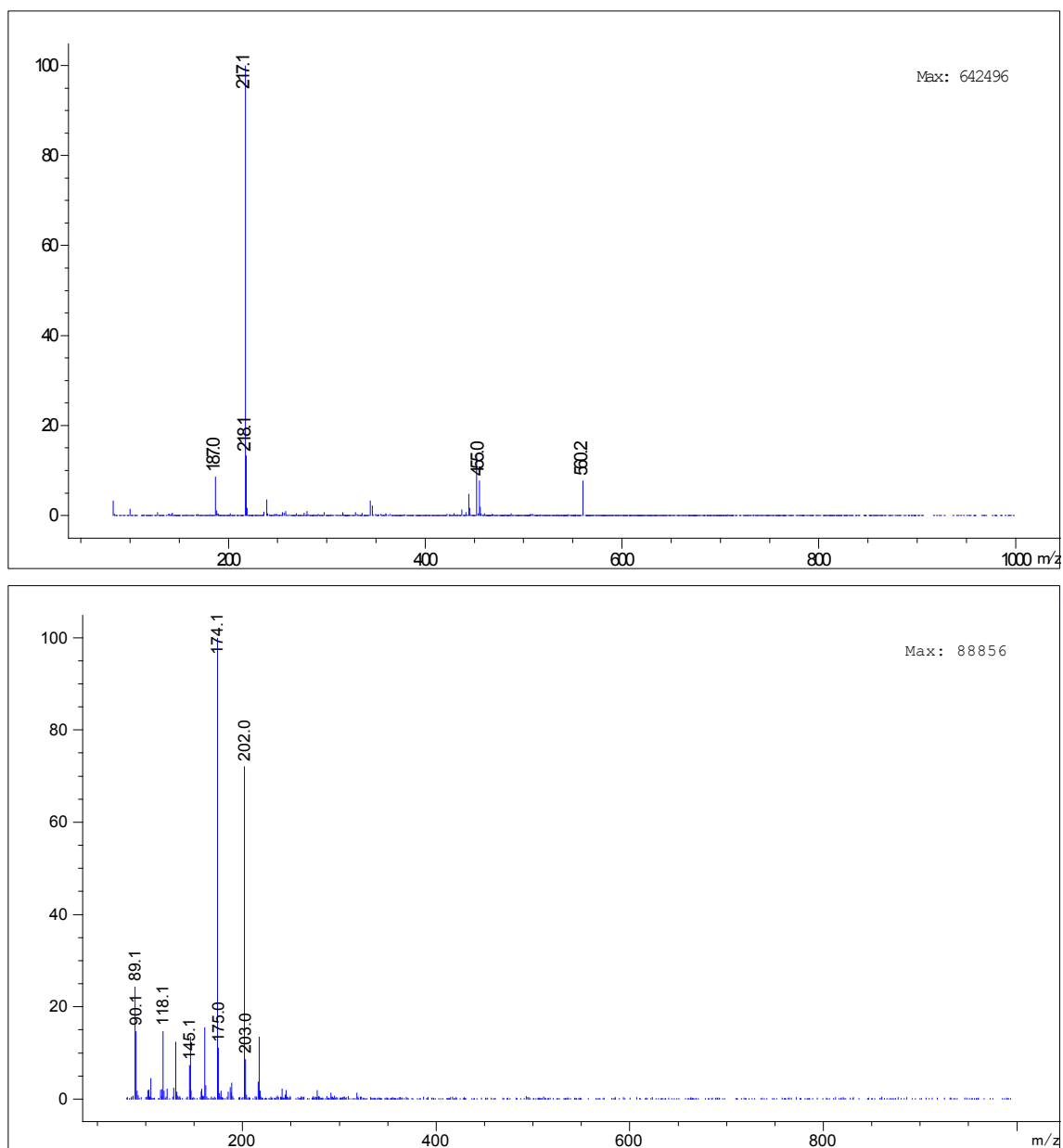




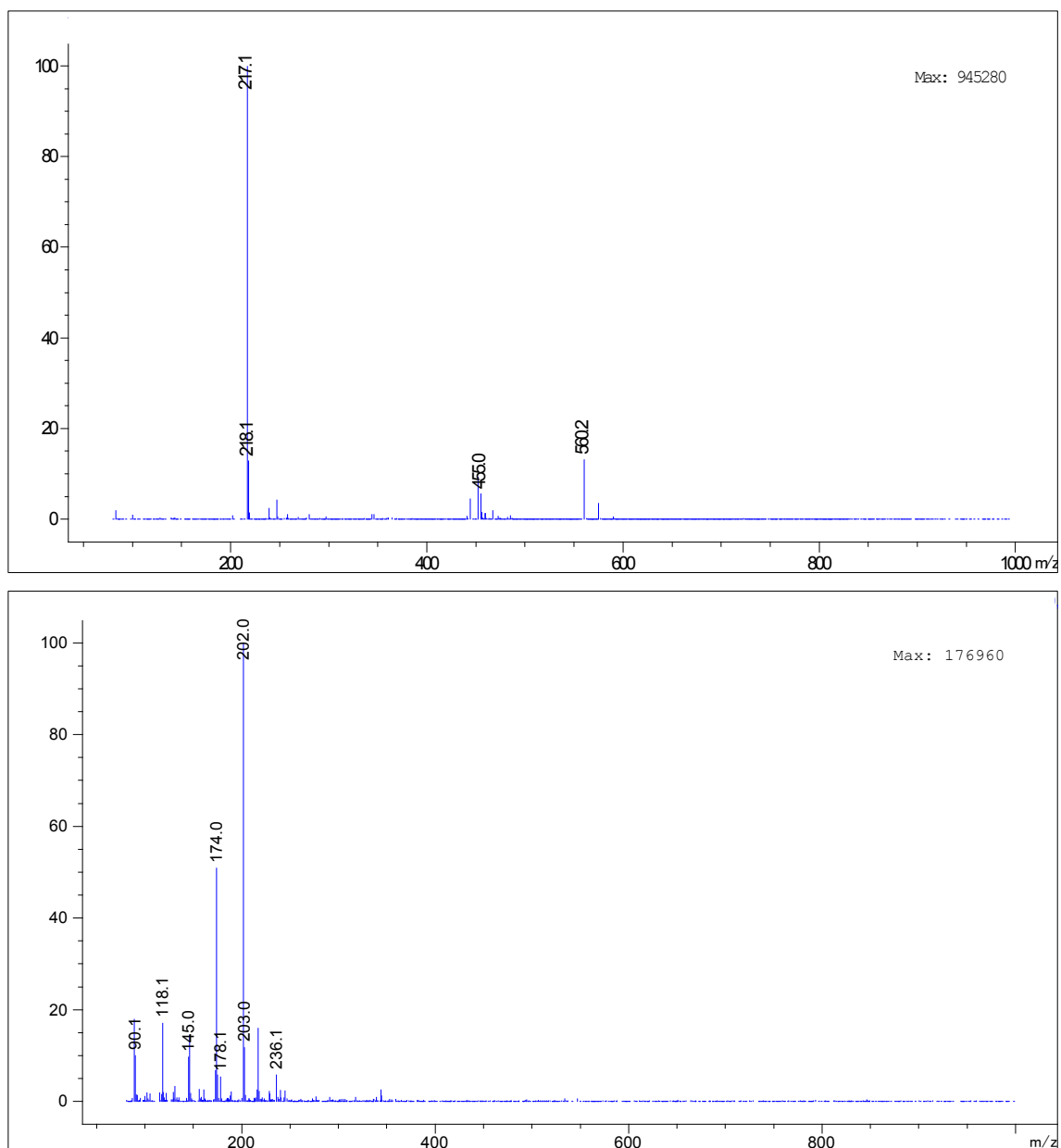
Slika 5. UV spektri sfondina (3), bergaptena (6), pimpinelina (8) i izobergaptena (9)



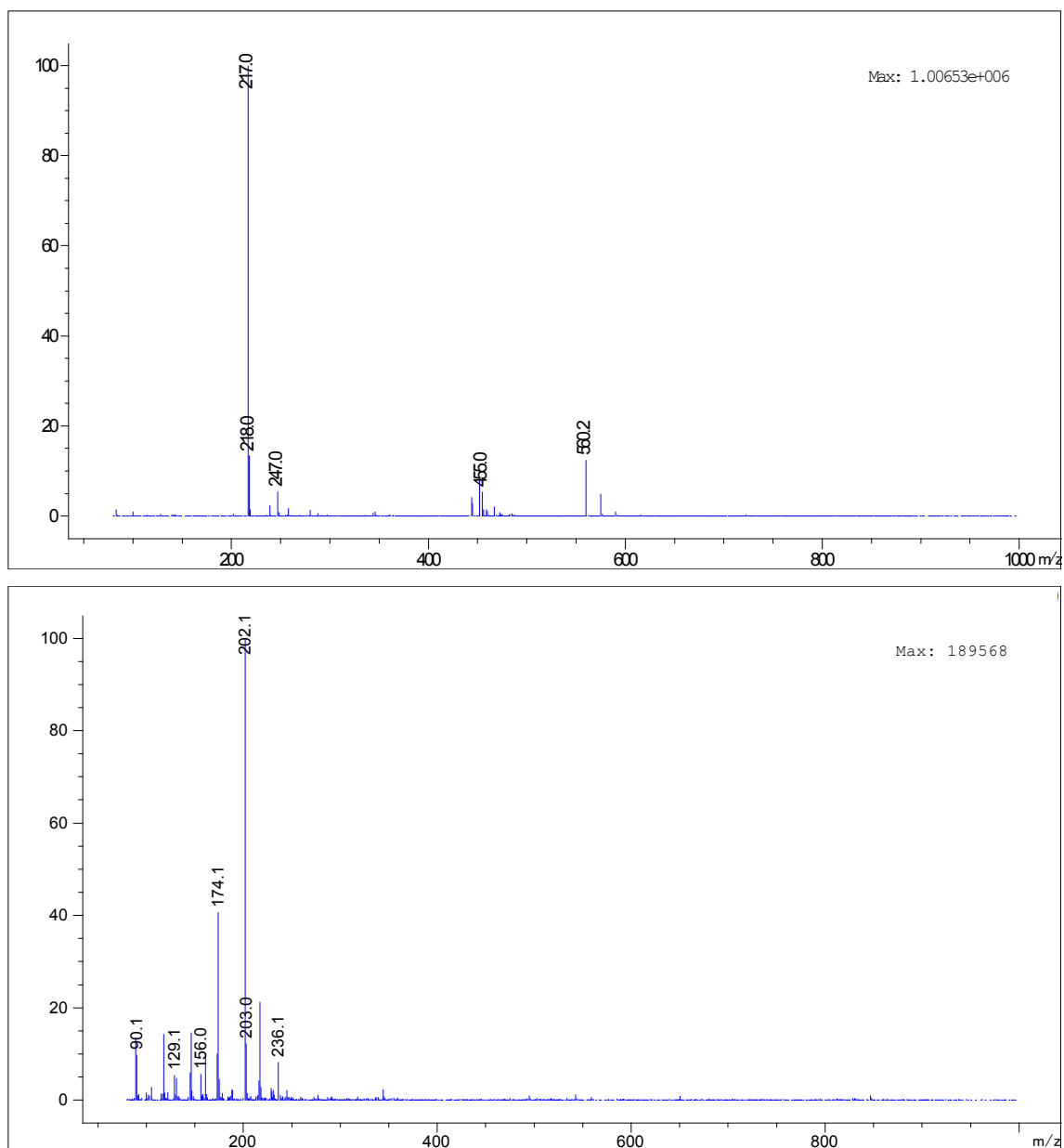
**Slika 6.** MS spektri furanokumarina molekulske mase 216 snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): sfondin (**3**)



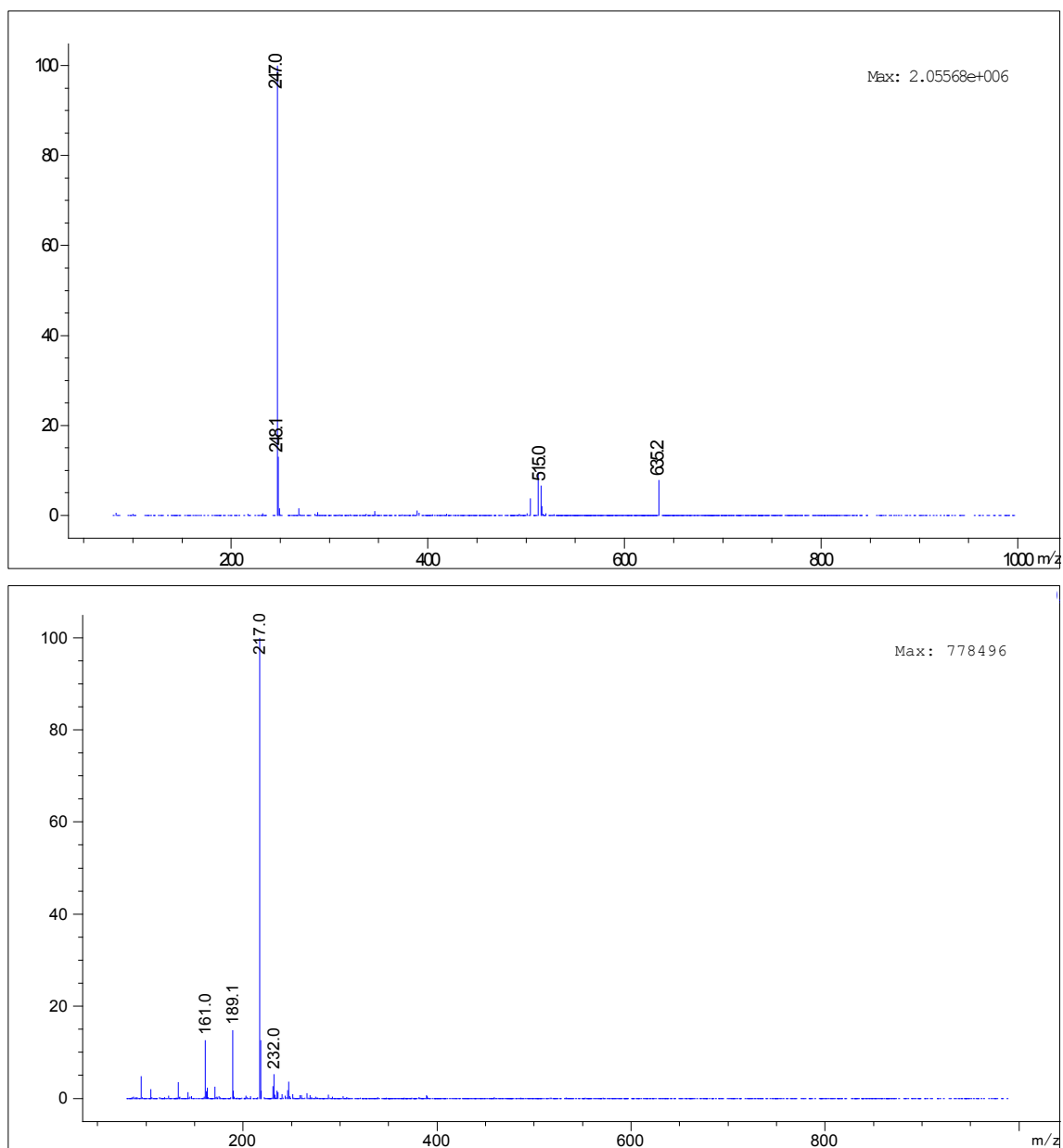
**Slika 7.** MS spektri furanokumarina molekulske mase 216 snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): ksantotoksin (4)



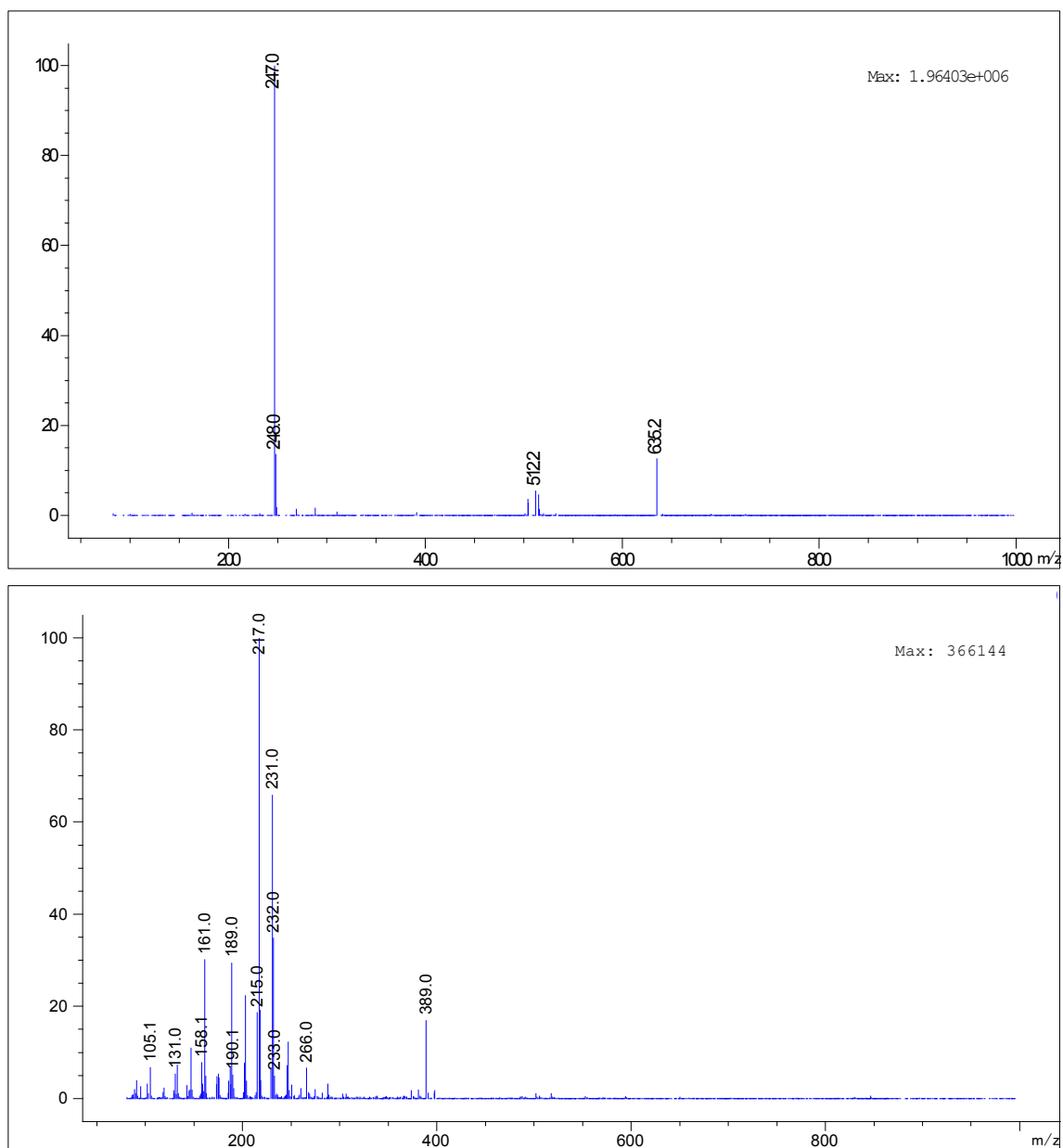
**Slika 8.** MS spektri furanokumarina molekulske mase 216 snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): bergapten (**6**)



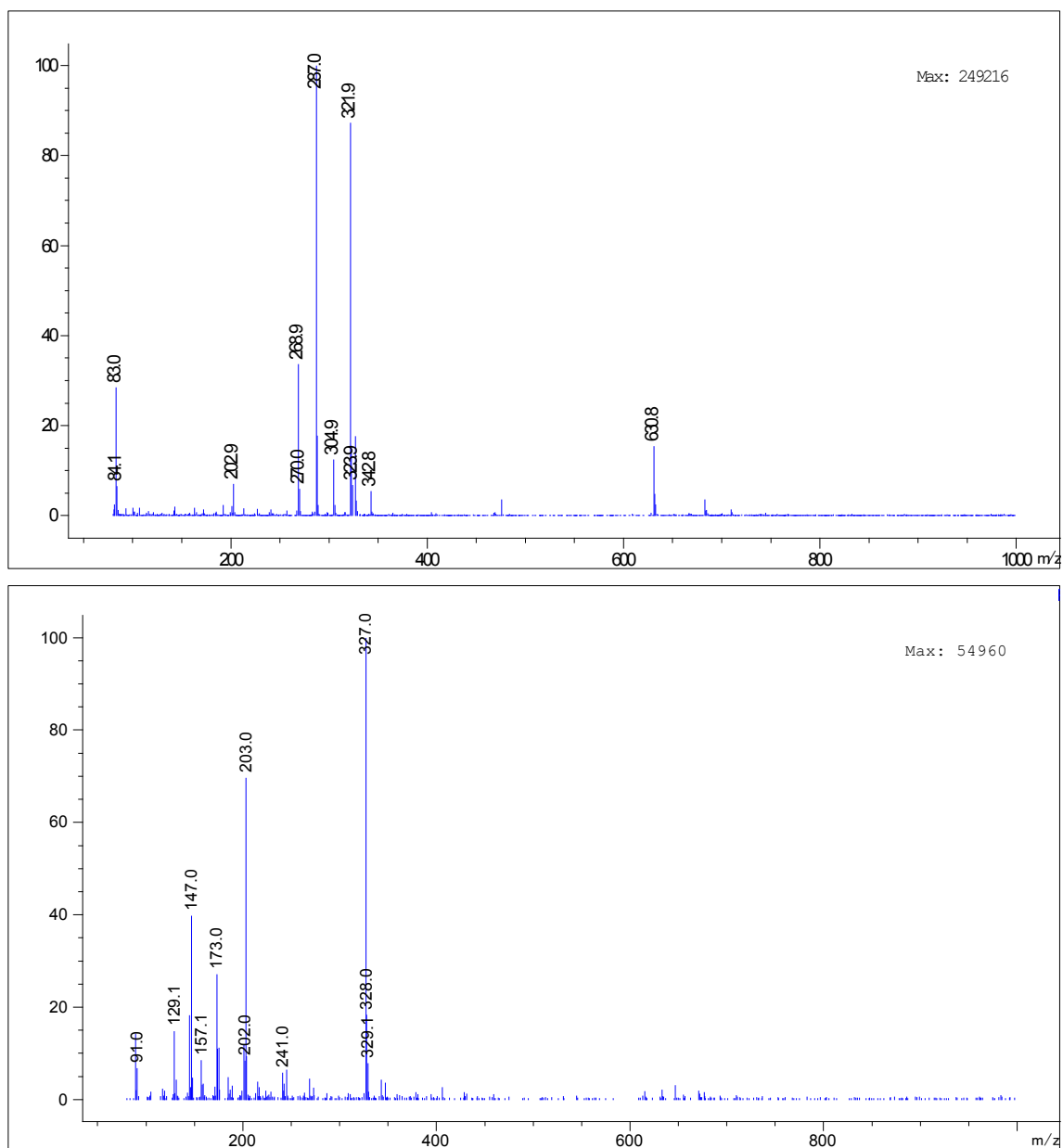
**Slika 9.** MS spektri furanokumarina molekulske mase 216 snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): izobergapten (**9**)



**Slika 10.** MS spektri furanokumarina molekulske mase 246 snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): izopimpinelin (**5**)

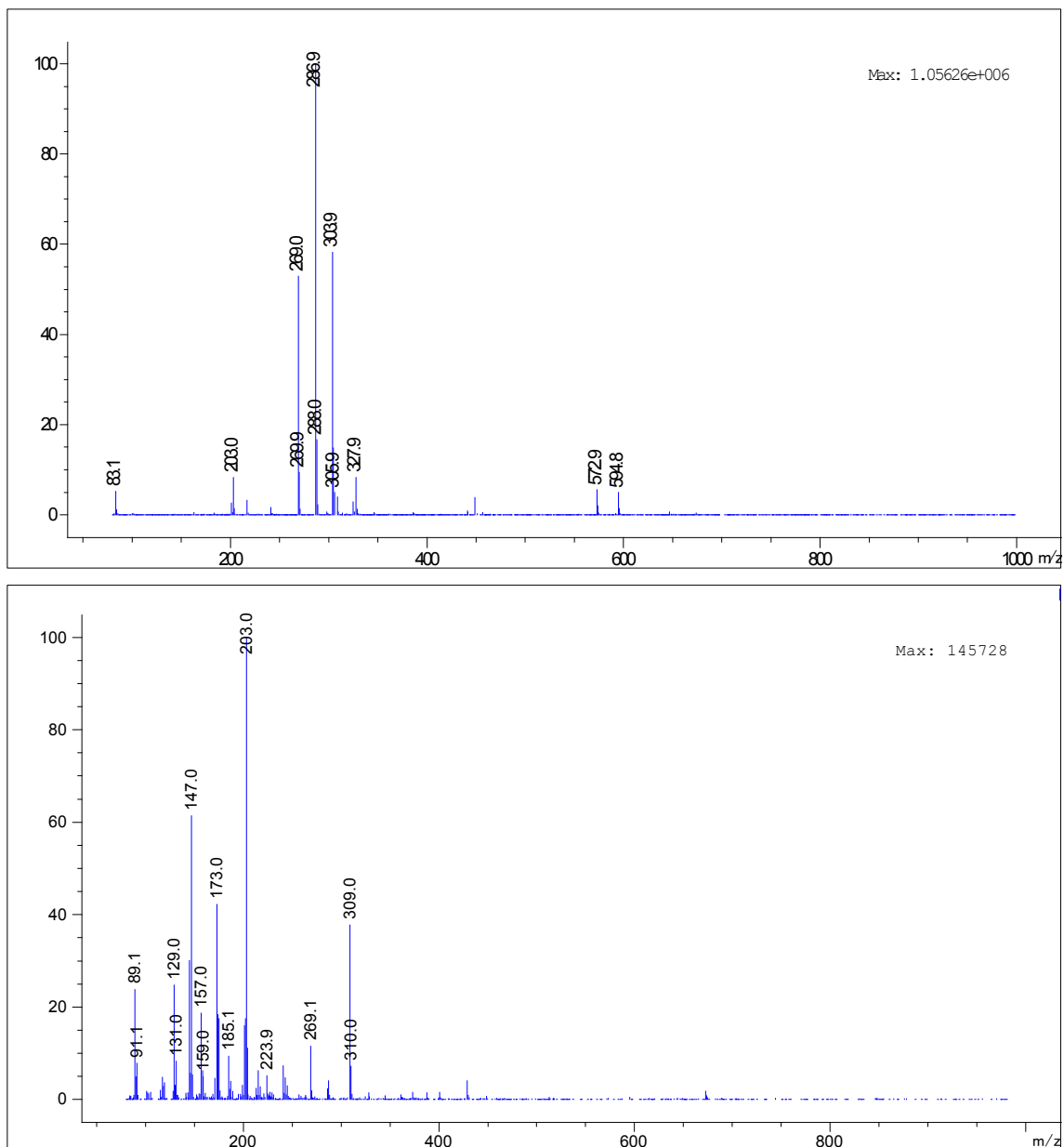


**Slika 11.** MS spektri furanokumarina molekulske mase 246 snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): pimpinelin (**8**)

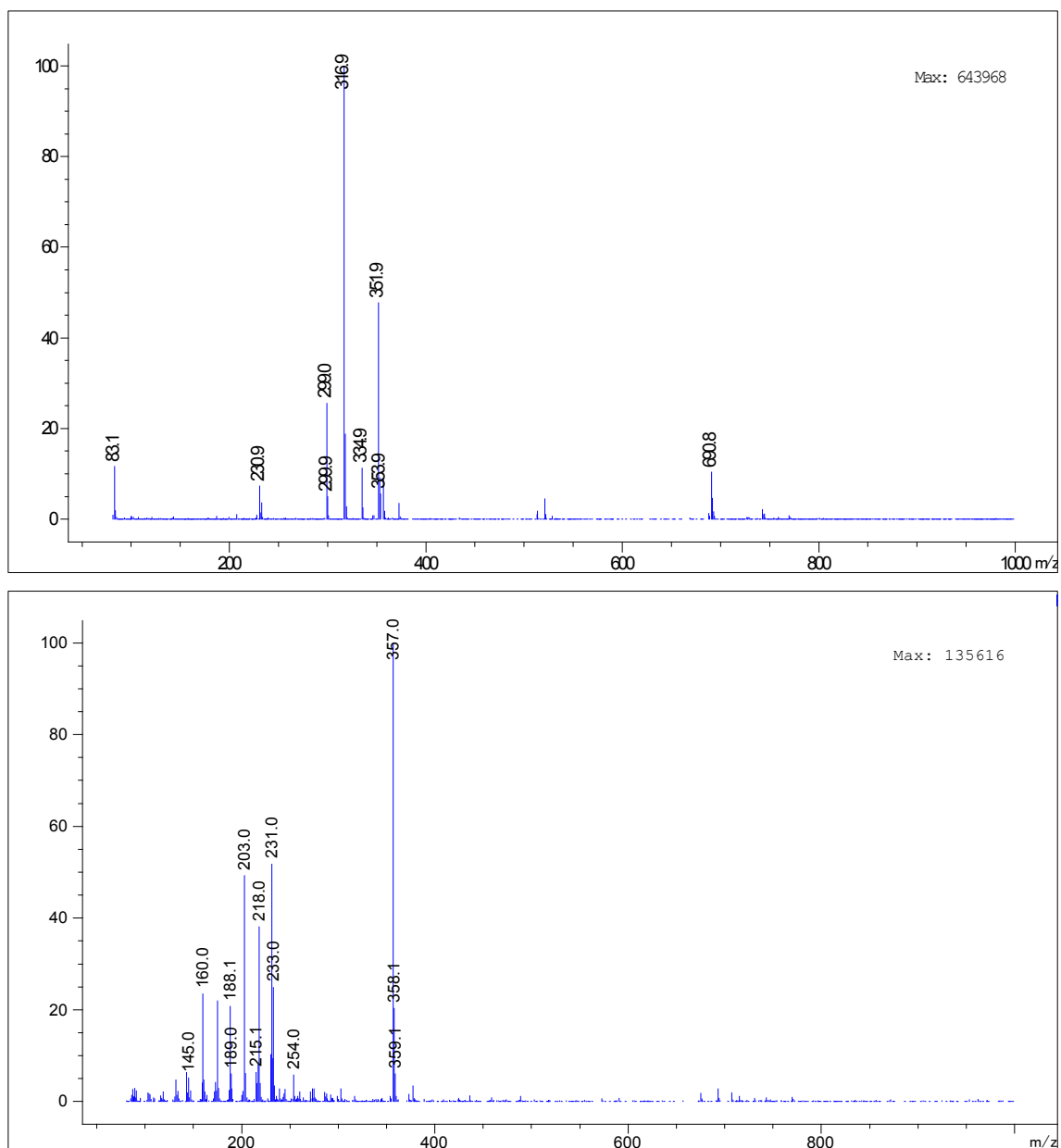


**Slika 12.** MS spektri furanokumarina supstituisanih oksidovanom preniloksi grupom snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): heraklenol (**1**)

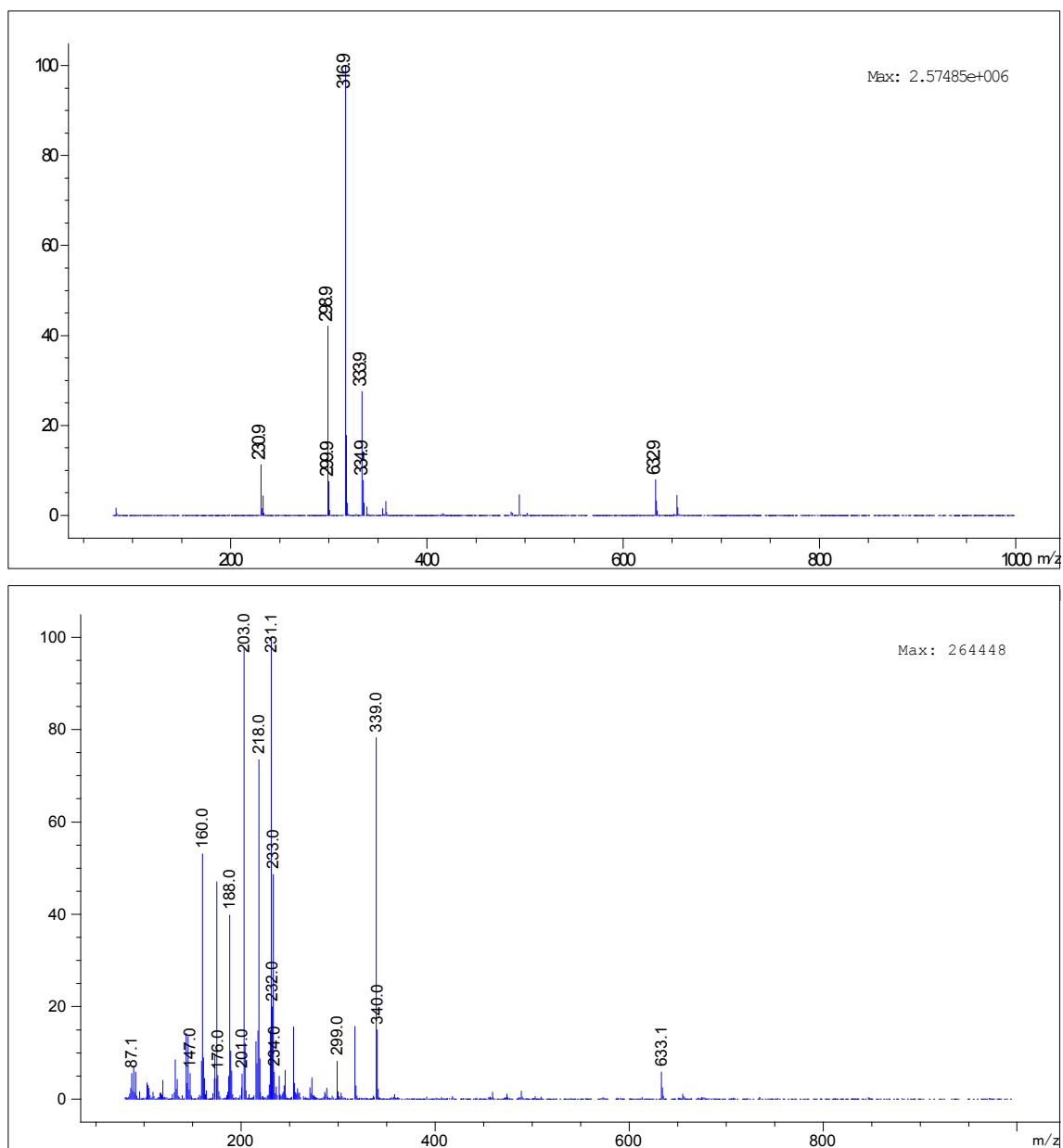




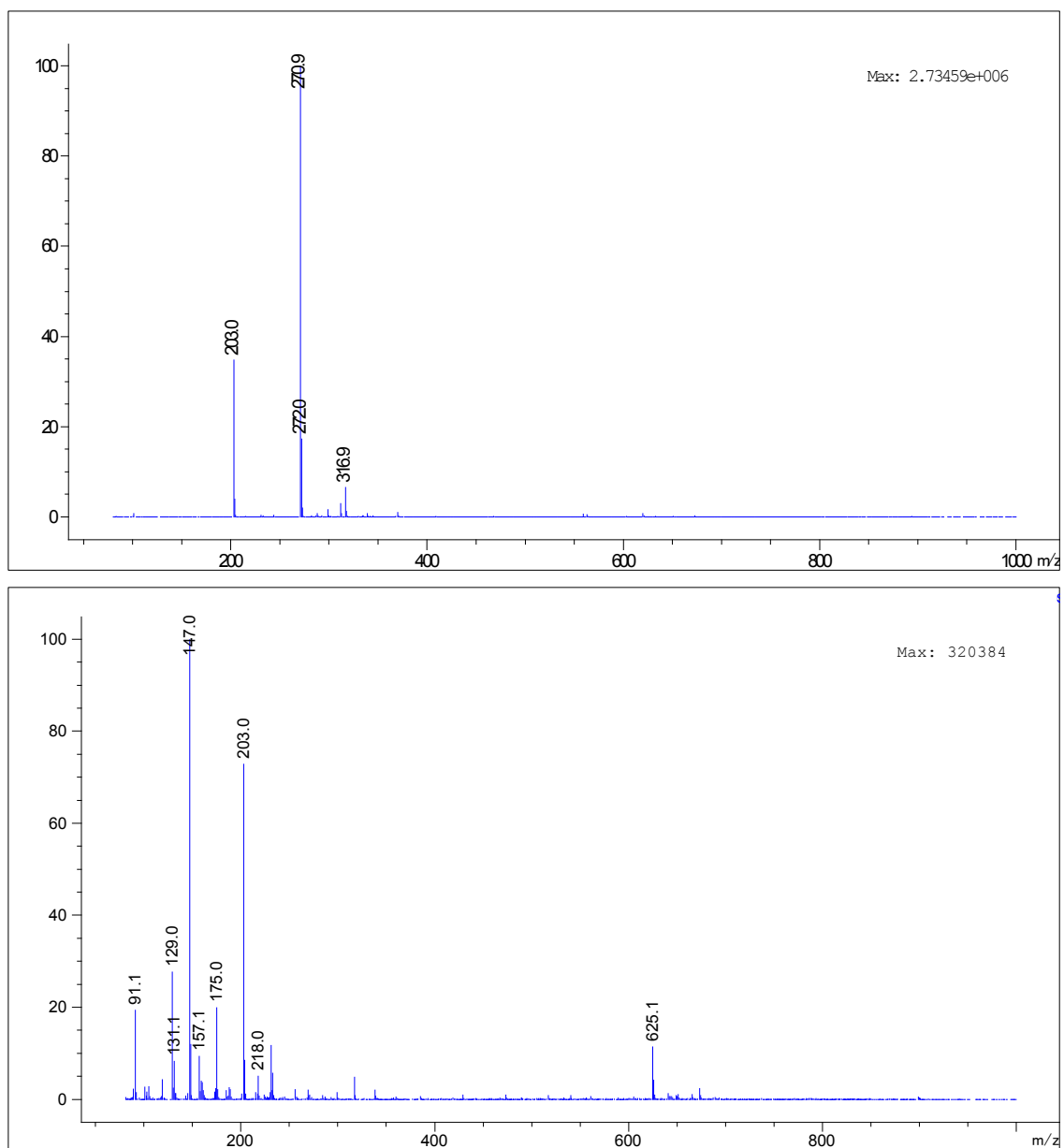
**Slika 13.** MS spektri furanokumarina supstituisanih oksidovanom preniloksi grupom snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): heraklenin (7)



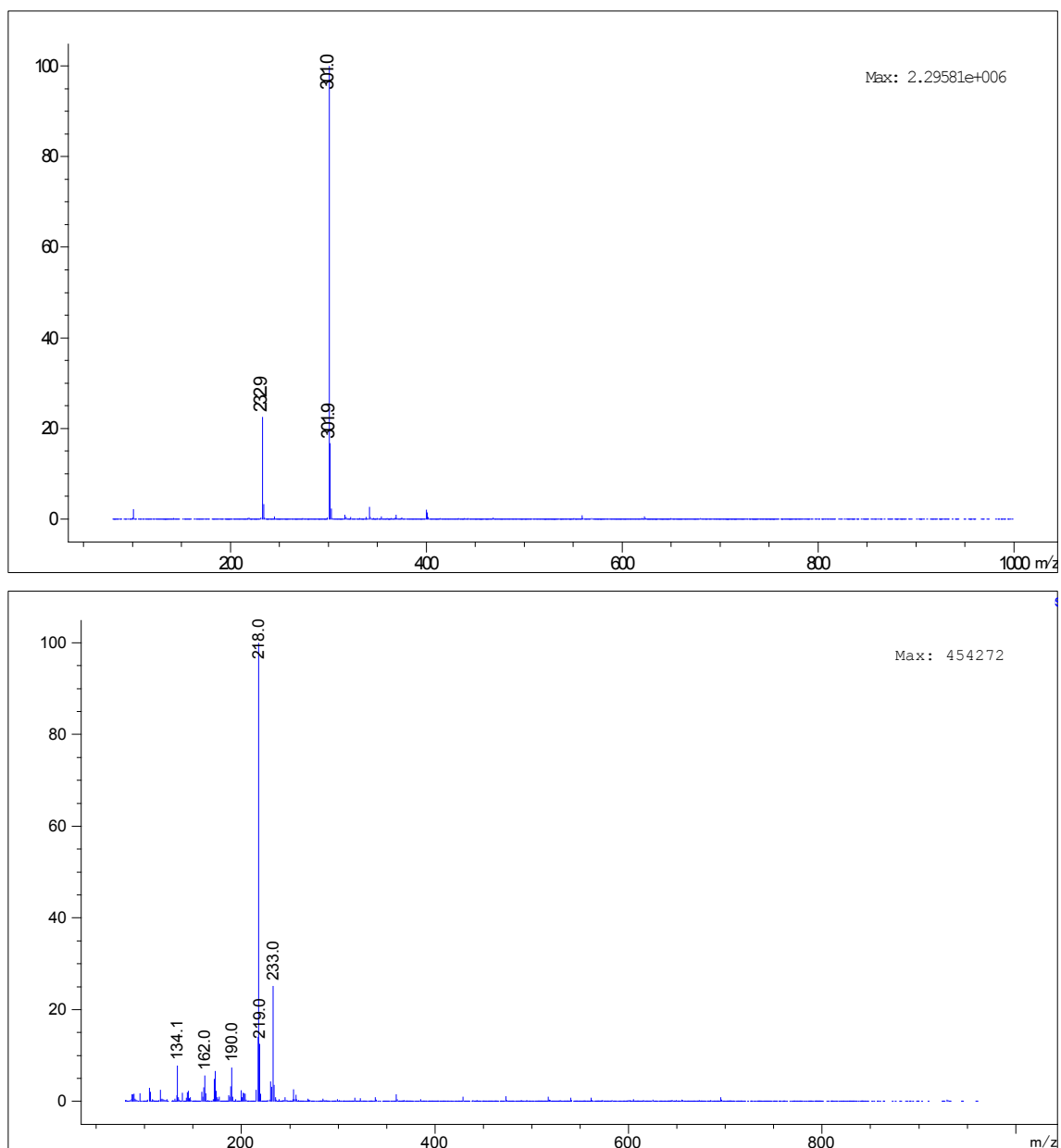
**Slika 14.** MS spektri furanokumarina supstituisanih oksidovanom preniloksi grupom snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): biakangelicin (2)



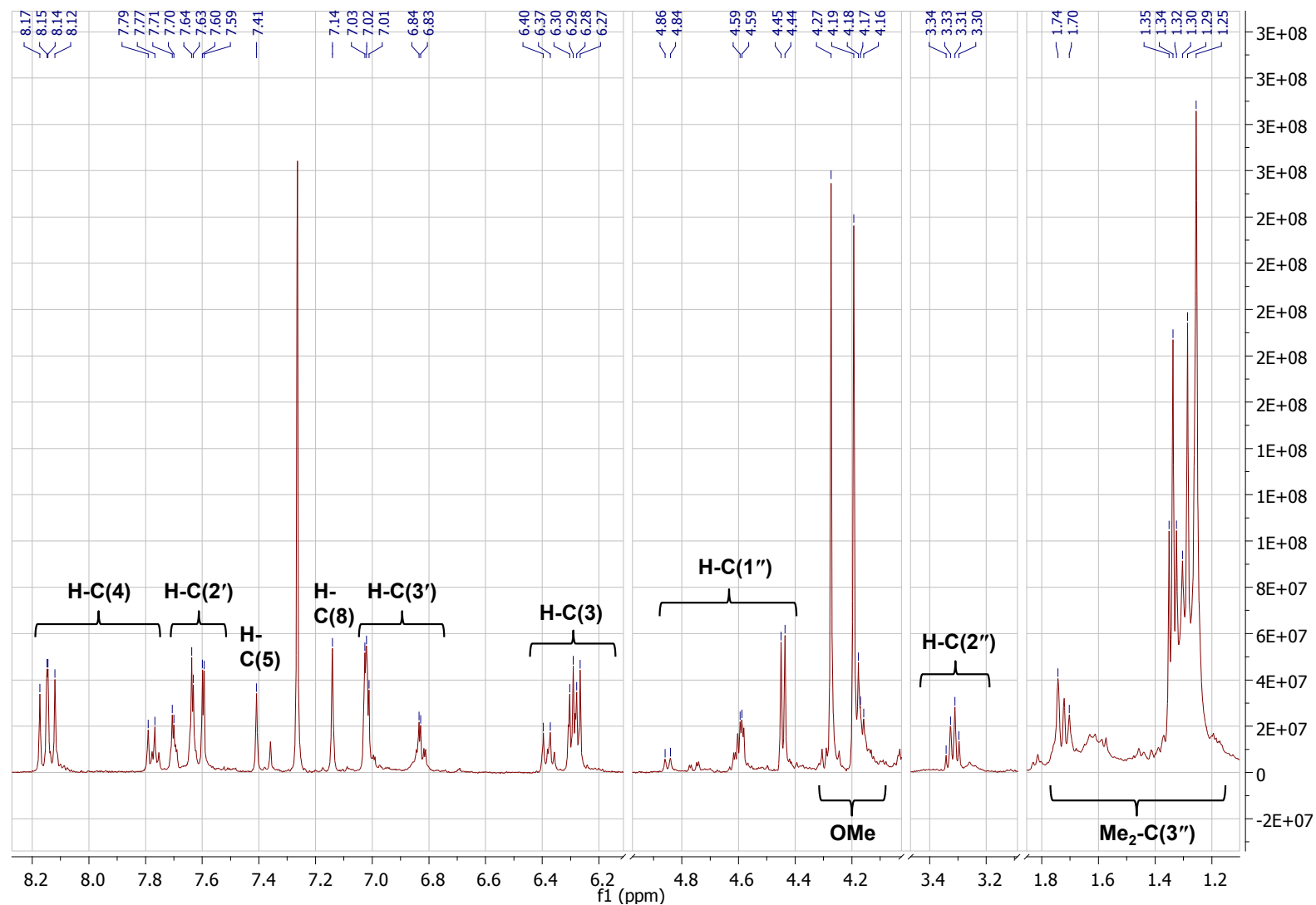
**Slika 15.** MS spektri furanokumarina supstituisanih oksidovanom preniloksi grupom snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): biakangelikol (**10**)



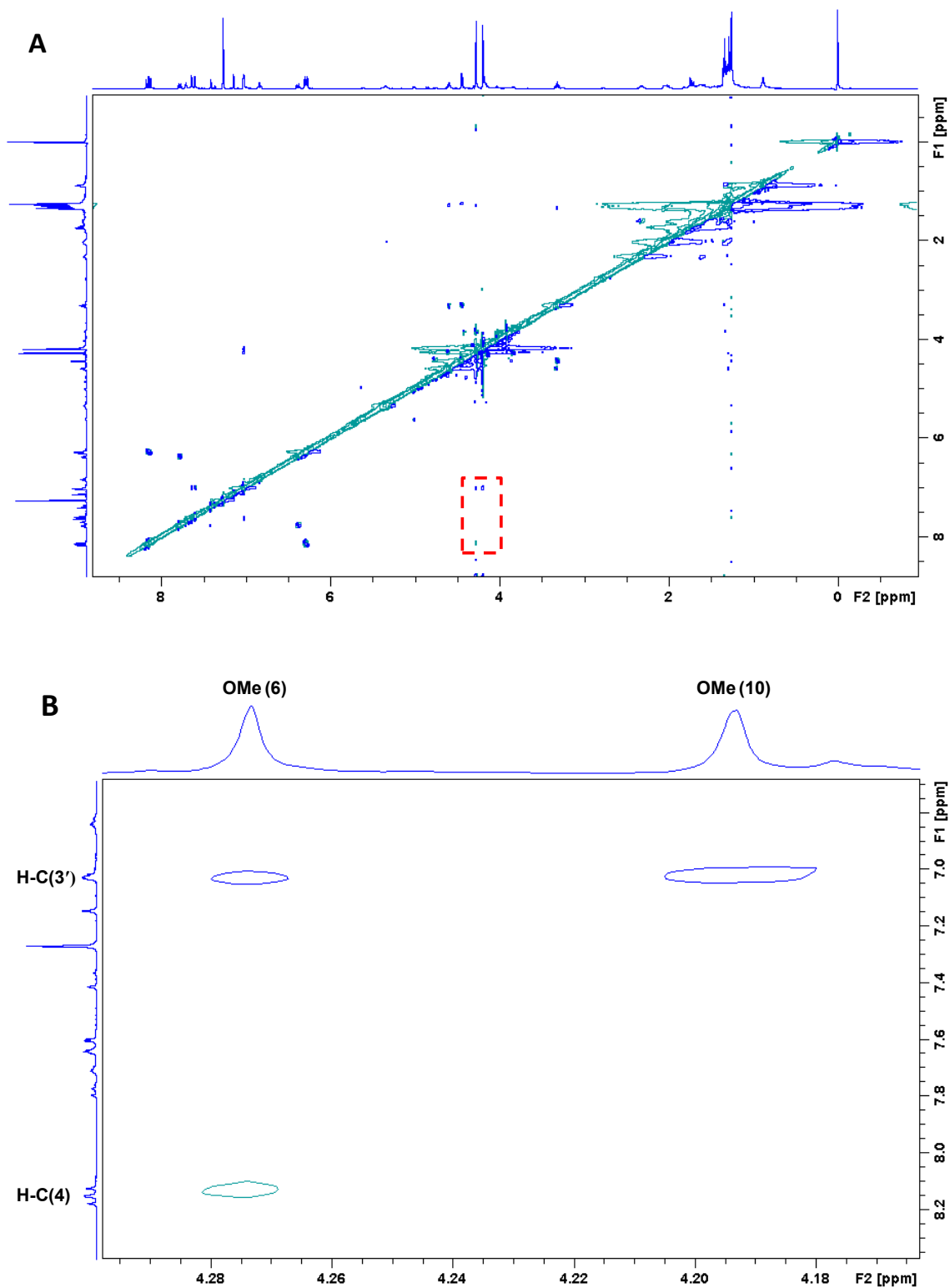
**Slika 16.** MS spektri furanokumarina supstituisanih preniloksi grupom snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): imperatorin (11)



**Slika 17.** MS spektri furanokumarina supstituisanih preniloksi grupom snimljeni u pozitivnom ESI modu pri naponu fragmentora 100 V (gore) i 250 V (dole): felopterin (12)



Slika 18.  $^1\text{H}$  NMR spektar metanolne frakcije kristalnog taloga dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. sphondylium*



**Slika 19.** ROESY NMR spektar metanolne frakcije kristalnog taloga dihlormetanskog ekstrakta plodova *H. sphondylium* (A) i njegov uvećan deo u kome je vidljiva korelacija H-C(3') bergaptena (6) i biakangelikola (10), kao i H-C(4) bergaptena (6) sa vodoncima metoksi grupa ova dva jedinjenja (B)

## OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

### Radovi publikovani u naučnim časopisima međunarodnog značaja (M20):

1. **Ušjak Lj**, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, Ćirić A, Grozdanić N, Niketić M. Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of *Heracleum verticillatum* Pančić and *H. ternatum* Velen. (Apiaceae) essential oils. ***Chemistry and Biodiversity*** 2016;13(4):466-476. (M22)
2. **Ušjak Lj**, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, Ćirić A, Niketić M. Chemical composition and bioactivity of the essential oils of *Heracleum pyrenaicum* subsp. *pollinianum* and *Heracleum orphanidis*. ***Natural Product Communications*** 2016;11(4):529-534. (M23)
3. **Ušjak Lj**, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, Ćirić A, Niketić M. Essential oils of three cow parsnips – composition and activity against nosocomial and foodborne pathogens and food contaminants. ***Food and Function*** 2017;8(1):278-290. (M21)
4. **Ušjak Lj**, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, Ćirić A, Niketić M. Edible wild plant *Heracleum pyrenaicum* subsp. *orsinii* as a potential new source of bioactive essential oils. ***Journal of Food Science and Technology*** 2017;54(8):2193-2202. (M22)
5. **Ušjak Lj**, Petrović S, Drobac M, Niketić M. Constituents of the essential oils of *Heracleum austriacum* subsp. *siifolium*, an endemic plant of the southeastern Alps. ***Chemistry of Natural Compounds*** 2018;54(2):384-386. (M23)
6. **Ušjak Lj**, Drobac M, Niketić M, Petrović S. Chemosystematic significance of essential oil constituents and furanocoumarins of underground parts and fruits of nine *Heracleum* L. taxa from Southeastern Europe. ***Chemistry and Biodiversity*** 2018;15(12):e1800412. (M22)



## BIOGRAFIJA

Ljuboš J. Ušjak rođen je 21. 6. 1985. god. u Beogradu. Gimnaziju opšteg smera „Mihajlo Pupin“ u Kovačici završio je prosečnom ocenom 5,00 kao nosilac diplome „Vuk Karadžić“. Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet upisao je školske 2004/05. god. Školske 2005/06. god. bio je stipendista Ministarstva prosvete i sporta Republike Srbije, a školske 2008/09. god. stipendista Zadužbine „Dragoljuba Marinkovića“. Diplomirao je 4. 11. 2010. god. ocenom 10 na diplomskom ispitu i prosečnom ocenom tokom studiranja 8,81.

Od 1. 12. 2010. god. do 1. 12. 2011. god. obavljao je pripravnički staž u Apoteci „Beograd“ i u Službi za farmaceutsku delatnost i snabdevanje Kliničkog centra Srbije. Stručni ispit za diplomirane farmaceute položio je 28. 12. 2011. god.

Školske 2012/13. god. upisao je doktorske akademske studije, izborni modul - Farmakognozija na Univerzitetu u Beogradu - Farmaceutskom fakultetu. U isto vreme bio je zaposlen na radnom mestu diplomiranog farmaceuta u Službi za farmaceutsku delatnost i snabdevanje Kliničkog centra Srbije, prvo u Kontrolnoj laboratoriji (15. 10. 2012 - 15. 1. 2013. god.), a zatim na Odeljenju za distribuciju potrošnog medicinskog, ugradnog i laboratorijskog materijala (16. 2 - 16. 5. 2013. god.).

Od 1. 12. 2013. god. zaposlen je na Katedri za farmakognoziju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta u zvanju istraživača - pripravnika, a od 6. 4. 2017. god. u zvanju istraživača - saradnika na Projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja br. 173021: „Ispitivanje lekovitog potencijala biljaka: morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija“. Autor je i koautor 11 radova u časopisima međunarodnog značaja (2 iz kategorije M21a, 3 iz kategorije M21, 4 iz kategorije M22 i 2 iz kategorije M23), 10 saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u izvodu i 4 saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampanih u izvodu.

Govori engleski i slovački jezik.

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Љубош Ушјак

Број индекса 8/12

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Хемијска и фармаколошка карактеризација одабраних таксона рода

*Heracleum* L. (Ariaceae), аутохтоних за југоисточну Европу

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 09.01.2019.

Ušjak Ljuboš

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Љубош Ушјак

Број индекса 08/12

Студијски програм Фармација - Фармакогнозија

Наслов рада Хемијска и фармаколошка карактеризација одабраних таксона  
рода *Heracleum* L. (Аріасеае), аутохтоних за југоисточну Европу

Ментор Проф. др Силвана Петровић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, 09.01.2019.

Ушјак Љубош

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Хемијска и фармаколошка карактеризација одабраних таксона рода

*Heracleum* L. (Apiaceae), аутохтоних за југоисточну Европу

---

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.  
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 09.01.2019.

Ušjak Ljuboš



1. **Ауторство.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.