

اندازه‌گیری میزان ترکیب هیپریسین در برگ و گل ۸ گونه *Hypericum*

کامکار جایمند^{۱*}، محمدباقر رضایی^۲، ولی‌الله مظفریان^۳، رحمان آزادی^۴، محمود نادری حاجی‌باقرکندی^۵، سعیده مشکی‌زاده^۶، مصطفی گلی‌پور^۷

- ۱- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
 - ۲- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
 - ۳- دانشیار، بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
 - ۴- کارشناسی ارشد، بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
 - ۵- کارشناس، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
 - ۶- کارشناس، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
 - ۷- کارشناس، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
- *آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۱۶ - ۱۳۱۸۵، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تلفن: ۵ - ۴۴۱۹۵۹۰۱ (۰۲۱)، نمابر: ۴۴۱۹۶۷۵۷ (۰۲۱)
پست الکترونیک: Jaimand@rifr-ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۶/۱۱/۱۰

تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۲۵

چکیده

مقدمه: گیاه *Hypericum* از گونه‌های مهم گیاهان دارویی محسوب می‌شود و در حال حاضر در ایران ۱۷ گونه گیاه علفی چند ساله و درختچه‌ای وجود دارد که سه گونه آن انحصاری ایران هستند.

هدف: در این تحقیق با هدف بررسی میزان ترکیب هیپریسین بر روی گل و برگ هشت گونه گل راعی، انجام شد.

روش بررسی: پس از جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه (گل و برگ) اقدام به استخراج عصاره در دو مرحله به ترتیب با حلال‌های کلروفرم و متانول به وسیله دستگاه سوکسوله شد و سپس عصاره‌ها توسط دستگاه HPLC بررسی شد. فاز متحرک متانول ۶۸ درصد، اتیل استات ۲۰ درصد، سدیم هیدرو سولفات (۰/۱ مول) ۱۲ درصد و فاز ثابت C₁₈ بود دتکتور UV بود که در ۵۹۰ نانومتر تنظیم شد.

نتایج: میزان ترکیب هیپریسین در گل و برگ گونه‌ها عبارت بودند از: گونه *H. dogonbadanicum* (انحصاری ایران) (گل ۳۶ ppm و برگ ۳۶)، گونه *H. helianthemoides* (گل ۱۱۸ ppm و برگ ۲۲)، گونه *H. hirtellum* (گل ۱۷۸ ppm و برگ ۲۶)، گونه *H. hyssopifolium* (گل ۲۲۴ ppm و برگ ۱۲۰)، گونه *H. lysimachioides* (گل ۱۱۷۷ ppm و برگ ۱۷۸)، گونه *H. perforatum* (گل ۱۹۰۰ ppm و برگ ۸۱۳)، گونه *H. scabrum* (گل ۱۳ ppm و برگ ۱۰) و گونه *H. triquetrifolium* (گل ۱۴۶۰ ppm، برگ ۱۴۲۶ و ساقه ۱۷).

نتیجه‌گیری: مقایسه میزان هیپریسین در گونه‌های گل راعی نشان داده که مقدار این ترکیب نسبت به گونه و منطقه جمع‌آوری شده متفاوت است. به طوری که بالاترین میزان این ترکیب در گل گونه *H. perforatum* ۱۹۰۰ ppm و گونه *H. triquetrifolium* ۱۴۶۰ ppm موجود بود.

گل‌واژگان: هیپریسین، HPLC، *H. dogonbadanicum*، *H. helianthemoides*، *H. hirtellum*، *H. hyssopifolium*، *H. lysimachioides*، *H. perforatum*، *H. scabrum*، *H. triquetrifolium*



مقدمه

از دهه‌های گذشته، علاقه به ترکیب‌های گیاهان دارویی به عنوان داروی گیاهی مورد توجه بوده است. در میان این گیاهان، گل راعی به علت ترکیب‌های مهم شیمیایی و متابولیت‌های ثانویه از ارزش خاصی برخوردار است. گونه‌های گل راعی دارای ترکیب‌هایی از جمله: اسیدهای فنلی (اسید کلروژنیک^۱)، فلوروگلوکوسینول‌ها^۲ (هیپرفورین^۳، آدهیپرفورین^۴) ترکیب هیپرفورین جهت پیشگیری از فرستنده‌های عصبی سروتونین^۵ (ماده‌ای است تنگ‌کننده رگ که به وسیله سلول‌های نقره دوست روده باریک ترشح می‌شود. این ماده به وسیله پلاکت‌ها جذب شده و وارد جریان خون می‌شود)، نورپین فرین^۶ (هورمونی است که به وسیله قسمت میانی غده فوق کلیوی در پاسخ تحریک عصب اسپلانکتیک ترشح می‌شود و هم‌چنین به طریق صنعتی تهیه می‌شود و به عنوان یک عامل مقلد سمپاتیک و بالابرنده فشار خون استفاده می‌شود) و دوپامین^۷ هستند [۴]. فلاونوئیدهای موجود در این گونه‌ها (روتین، هیپروسید^۸، ایزوکوئرستین^۹، کوئرستین^{۱۰} و کوئرستین^{۱۱}) هستند، فلاونوئیدها دارای بعضی فعالیت‌های ضدافسردگی و نیز ضداکسیدکنندگی هستند [۱۶]. پروسیانیدین‌ها^{۱۲}، تانن‌ها، اسانس‌ها، اسیدهای آمینه، فینیل پروپانوییدها^{۱۳}، گزانتون (بلورهای بی‌رنگ با دمای ۱۷۴ درجه سانتی‌گراد است. از اثر گرما بر فینیل سالیسیلات به دست می‌آید. از کاهش آن می‌توان گزارتن تهیه کرد. گزارتن، سر دسته رنگ‌های گروه گزارتن است. نام شیمیایی آن دی بنزو - ۴ - پیرون است) و دیگر ترکیب‌های قابل حل در آب را دارند [۷]. هم‌چنین از میان ترکیب‌های نفتودی اترون‌ها^{۱۴} ترکیب‌های هیپریسین و پزدو هیپریسین (شکل شماره ۱) مسؤول فعالیت‌های ضدافسردگی در انسان است، هم‌چنین فعالیت ضدویروسی انسانی^{۱۵} (گروهی از

ویروس‌ها که به شدت با میزان انسان تطابق یافته، به انسان، میمون و جوندگان حمله می‌کنند و یاخته‌های شاخص با انکلوژیون‌ها درشت ایجاد می‌کنند)، ضدآنفلوآنزایی و بعضی ویروس‌های قوی را نشان داده‌اند.

مکمل غذایی گیاه گل راعی که عموماً به نام St John's Wort می‌شناسند، در معالجه افسردگی ملایم و کاهش آن نقش اساسی داشته است. البته جهت درمان و با توجه به تجویز پزشک، باید مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم استاندارد را با ۰/۳ درصد هیپریسین، روزانه ۳ مرتبه به کار برده شود [۱].

این ترکیب‌ها به صورت غده‌هایی سیاه رنگ بر روی گل‌ها، پرچم‌ها، برگ‌ها و ساقه‌های گیاه مشاهده می‌شوند [۸]. ترکیب هیپریسین و پزدو هیپریسین جزء رنگ‌دانه‌های فعال نوری در گیاه هستند که از طریق اکسیداسیون فنل جلوتر از اکسید شدن هیپریسین به دست می‌آید [۵].

در نقطه‌های روشن روی برگ گیاه غده‌هایی وجود دارد که مملو از شیره قرمز رنگ مایل به قهوه‌ای است. در اروپا از این شیره به عنوان موثرترین دارو برای التیام زخم‌ها و سوختگی‌های پوستی و درمان آن‌ها، استفاده می‌کنند. Southwell برگ‌های گیاه را برای اسب مسموم کننده ذکر کرده‌اند [۱۴]. در هند از گیاه به عنوان قابض، ضدکرم معده و روده، قاعده‌آور و مدر استفاده می‌کنند. طبق نظر حکمای طب سنتی هوفاریقون یا علف چای از نظر طبیعت خیلی گرم و خشک است و معتقدند خشک‌کننده و بازکننده مخاط بینی است. خوردن آن برای کزاز و باز کردن گرفتگی‌های معده و کبد و ازدیاد ترشح ادرار نافع است. هم‌چنین قاعده‌آور و مسهل صغرا است. دم کرده آن برای میگرن و سر دردهای عصبی و تاخیر در عادات ماهیانه زنان جوان، آسم مرطوب، سرع، هستیری و تسکین اعصاب مفید است. در قدیم خیس کرده چای کوهی را برای درمان مار گزیدگی تجویز می‌کردند. هم‌اکنون گیاه را به صورت مصرف خارجی برای درمان زخم‌ها و به صورت مصرف داخلی برای سیانیک، بی‌خوابی، گرفتگی عادت ماهیانه، سردرد، سرماخوردگی، ناراحتی‌های سینه‌ای و به عنوان آرام‌بخش

¹ Chlorogenic acid

³ Hyperforin

⁵ Serotonin

⁷ Dopamine

⁹ Isoquercitrin

¹¹ Quercetin

¹³ Phenylpropanoids

¹⁵ Cytomegalovirus

² Phloroglucinols

⁴ Adhyperforin

⁶ Norepinephrine

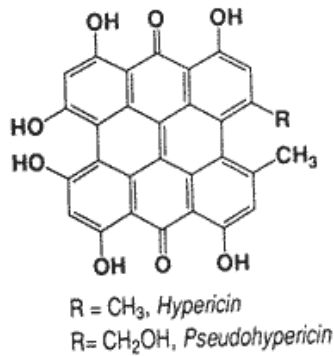
⁸ Hyperoside

¹⁰ Quercitrin

¹² Procyanidins

¹⁴ Naphthodianthrones





شکل شماره ۱- ساختمان شیمیایی هیپرسیسین و پزودوهیپرسیسین

بالا بردن تولید هیپرسیسین و پزودوهیپرسیسین شده است [۹،۱۰،۱۳،۱۵].

محدودیت در شرایط کشت می تواند در سطح سوخت و ساز و فعالیت حیاتی گونه های گل راعی تأثیرگذار باشد. در طی گزارشی توسط Gadzovska, et al. 2005 روی گونه *H. perforatum* L. با استفاده از روش کشت بافت افزایش میزان دو ترکیب هیپرسیسین و پزودوهیپرسیسین را در برداشته است که از روش دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۱ با دتکتور فلورسنس (در طول موج های ۲۳۶ نانومتر و ۵۹۲ نانومتر) و ستون C₁₈ (به طول ۱۵ سانتی متر و قطر ۴/۶ میلی متر، فاز متحرک از دو فاز A و B استفاده گردید. فاز A از حلال triethylammonium acetate و فاز B از حلال های buffer (0.01 M) در pH = ۷ و فاز B از حلال های متانول و استونیتریل (به نسبت ۵ : ۴) با شدت جریان ۱/۵ میلی لیتر در دقیقه و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ μl بود. با توجه به روش های موجود، در این بررسی از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با دتکتور UV برای اندازه گیری ترکیب های هیپرسیسین استفاده شده است.

مفید دانسته و توصیه می کنند. یکی از آثار جالب و مفید چای کوهی اثر ماده شیمیایی فعال هیپرسیسین بر ضد ویروس ایدز است [۱۲].

هیپرسیسین دارای خواص ضد افسردگی است، تغییر مونو آمین در سیستم عصبی مرکزی تأثیر می گذارد [۲]. با وجود توجه شدید محققین به بررسی ترکیب هیپرسیسین در درمان ها، اما ترکیب فعال عمده در گل راعی را پزودوهیپرسیسین ذکر کرده اند. البته میزان این ترکیب دو تا سه مرتبه بیشتر از ترکیب هیپرسیسین در گونه های گل راعی وحشی مشاهده شده است [۳]. استفاده تجاری از پزودوهیپرسیسین محدود است زیرا خواص دارویی آن هنوز به طور جامع بررسی نشده است. در درجه اول گونه های گل راعی منبع مهمی به عنوان عوامل درمانی (با توجه به میزان هیپرسیسین استخراج شده از گیاه) شناخته شده است. معمولاً تهیه داروی گیاهی از گیاه گل راعی از گیاهانی که در مزرعه کشت شده اند، است.

متأسفانه، هجوم جانوران موذی توسط باکتری، قارچ و حشره می تواند میزان ترکیب تجاری هیپرسیسین را در گیاه تغییر دهد [۷].

مناطق محدود رویش این گیاه و برداشت فصلی، باعث کاهش در میزان فعالیت بیوشیمیایی و ناپایداری در کیفیت، محصول شده است، این امر باعث شد تا تحقیق بیشتر برای تعیین روش های جانشین برای افزایش تولید ترکیب هیپرسیسین شود. البته برای صنایع داروسازی، یک راه حل می تواند از طریق ریز ازدیادی گیاه باشد. تاکنون بررسی های زیادی جهت

مواد و روش ها

جمع آوری و خشک کردن گیاه

سرشاخه های گل دار گونه های گیاه *Hypericum* از مناطق مختلف جمع آوری شده است (جدول شماره ۱).

^۱ HPLC



۱۲ درصد و با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه و مقدار نمونه تزریق شده $20 \mu\text{l}$ بود. زمان انجام آزمایش مدت ۳۰ دقیقه به طول انجامید.

تهیه استاندارد

استاندارد هیپریسین (فرمول مولکولی C30 H16 O8)، با جرم مولکولی M 504.43 به مقدار ۱۰ میلی‌گرم) از شرکت Roth (شهر Karlsruhe در کشور آلمان) خریداری شد.

رسم منحنی کالیبراسیون برای نمونه استاندارد

بررسی میزان هیپریسین با تهیه منحنی استاندارد به صورت زیر انجام شد. غلظت‌های متفاوتی از نمونه استاندارد تهیه (پنج نمونه با غلظت‌های ۲۳۲، ۱۸۶، ۱۵۵، ۱۳۳ و ۱۱۶) و به دستگاه تزریق شد. بعد با داشتن مساحت سطح زیر طیف ماده مجهول و انطباق آن با نمودار کالیبراسیون غلظت ماده مجهول به دست آمد (شکل شماره ۲).

نتایج

همان‌گونه که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌نمایید، میزان ترکیب هیپریسین در گل و برگ هشت گونه گل راعی توسط دستگاه HPLC بررسی شد.

جهت استخراج هیپریسین اقدام به حذف مواد اضافی همراه گیاه و خشک کردن نمونه‌ها به دور از نور آفتاب نمودیم.

استخراج عصاره گیاه

پس از جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه (گل و برگ) اقدام به استخراج عصاره جهت تجزیه گردید. در مرحله اول ۴ گرم گل و برگ خشک گیاه را به طور جداگانه وزن کرده در مخزن دستگاه سوکسله قرار داده و جهت حذف کلروفیل از حلال کلروفرم و در مرحله دوم، از حلال متانول استفاده نمودیم. پس از صاف کردن محلول آن‌را با متانول به حجم ۳۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم. نمونه‌ها تا قبل از تجزیه با دستگاه در شیشه‌های دودی رنگ و در یخچال نگهداری شد. جهت تزریق از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد.

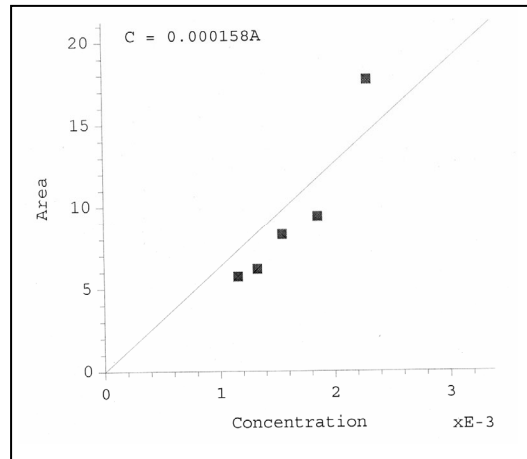
شرایط دستگاهی کروماتوگرافی مایع با عملکرد عالی (HPLC)

دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Knauer مدل Well Chrom 2000، پمپ مدل Maxi-star K-1000 و دتکتور مدل spectrophotometer K-2500 است که در ۵۹۰ نانومتر تنظیم شد. ستون مورد استفاده Erospher 100 C18 به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴ میلی‌متر، فاز متحرک متانول ۶۸ درصد، اتیل استات ۲۰ درصد و سدیم هیدرو سولفات (۰/۱ مول)

جدول شماره ۱ - جمع‌آوری گونه‌های *Hypericum* از مناطق مختلف کشور

ارتفاع	محل جمع‌آوری	تاریخ جمع‌آوری	نام علمی گونه
۱۸۰۰ متر	گچساران (دوگنبدان) به چرام	۱۳۸۶/۲/۲۶	<i>H. dogonbadanicum</i>
۱۵۵۰ متر	تاکستان به اوج	۱۳۸۶/۳/۱۷	<i>H. helianthemoides</i>
۱۵۰۰ متر	یاسوج به سمیرم بعد از پل کتا	۱۳۸۶/۳/۱۱	<i>H. hirtellum</i>
۲۳۵۰ متر	آذربایجان شرقی، مرند، زنوز، زنوزق روستای کوه کمر	۱۳۸۶/۳/۳۱	<i>H. hyssopifolium</i>
۲۰۸۰ متر	۱۴۵ کیلومتری همدان به کرمانشاه گردنه اسداباد	۱۳۸۶/۳/۱۹	<i>H. lysimachioides</i>
۱۵۰۰ متر	مریوان دریاچه زریوار (جنوب دریاچه)	۱۳۸۶/۳/۲۶	<i>H. perforatum</i>
۲۰۰۰ متر	۱۴۰ کیلومتری همدان به کرمانشاه گردنه اسداباد	۱۳۸۶/۳/۱۹	<i>H. scabrum</i>
۱۵۰۰ متر	مریوان، دریاچه زریوار جنوب دریاچه)	۱۳۸۶/۴/۱۸	<i>H. triquetrifolium</i>





شکل شماره ۲ - منحنی خط کالیبراسیون ترکیب هیپریسین

جدول شماره ۲ - میزان ترکیب هیپریسین در گل و برگ گونه‌های گل راعی به وسیله HPLC

میزان ترکیب هیپریسین به ppm		نام علمی گونه‌ها
برگ	گل	
۳۶	۳۶	<i>H. dogonbadanicum</i> Assadi
۲۲	۱۱۸	<i>H. helianthemoides</i> (Spach) Boiss.
۲۶	۱۷۸	<i>H. hirtellum</i> (Spach) Boiss.
۱۲۰	۲۲۴	<i>H. hyssopifolium</i> Chaix subsp. <i>elongatum</i> (Ledeb.) Woron.
۱۷۸	۱۱۷۷	<i>H. lysimachioides</i> Boiss. & Noë
۸۱۳	۱۹۰۰	<i>H. perforatum</i> L.
۱۰	۱۳	<i>H. scabrum</i> L.
۱۴۲۶	۱۴۶۰	<i>H. triquetrifolium</i> Turra

بحث

ترکیب‌های موجود در گیاه گل راعی به خصوص هیپریسین با شرایط مختلف آب و هوایی و به نسبت گونه متفاوت است، طی آزمایش‌های متعددی میزان هیپریسین در اندام‌های مختلف گیاه گل راعی گونه *H. perforatum* را بررسی کردند.

در طی گزارشی توسط Southwell & Campbell در سال ۱۹۹۱، به بررسی میزان تغییرات هیپریسین در *Hypericum perforatum* در استرالیا پرداخته است و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری جهت تعیین مقدار هیپریسین در گونه‌های متفاوت گونه برگ‌های پهن، برگ دارای ppm ۳۷۰ الی ۵۸۰ نسبت به گونه برگ‌های باریک که ppm ۱۰۴۰ الی ۱۶۳۰ دارای هیپریسین بود. همان‌طور بررسی‌هایی روی اندازه‌گیری میزان هیپریسین در

گیاه گل راعی از گونه‌های مهم گیاهان دارویی محسوب می‌شود، از این رو متخصصین اقدام به شناسایی و بررسی میزان بعضی از ترکیب‌های مهم در این گیاه، از جمله مهم‌ترین آن ترکیب هیپریسین که معمولاً به عنوان ترکیب‌های علامت‌گذار برای یکسان‌سازی گل راعی به کار برده می‌شود و اخیراً، فکر می‌کنند مسئول اولیه برای فعالیت‌های ضدافسردگی، فعالیت‌های ضدویروس علیه ویروس انسانی Cytomegalovirus و آنفلوانزا و دیگر ویروس‌های قوی نشان داده است [۴]. ترکیب هیپریسین از گونه *Hypericum perforatum* توسط افراد و روش‌های مختلف استخراج و اندازه‌گیری شده است. نظر به اینکه میزان



(گل ppm ۱۴۶۰، برگ ۱۴۲۶ و ساقه ۱۷) مقدار ترکیب هیپریسین در برگ بیشتر از گونه *H. perforatum* است. گونه‌های مورد آزمایش از منابع طبیعی جمع‌آوری شده‌اند، در صورتی که برای تهیه داروی گیاهی معمولاً از گیاهانی که در مزرعه رشد داده شده‌اند، استفاده می‌نمایند. اگر نمونه‌های جمع‌آوری شده در یک محیط کشت شده و هم‌زمان برداشت شده و اندازه‌گیری شوند، شاید بهتر بشود داوری نمود.

در طی گزارشی توسط Gadzovska و همکاران روی گونه *H. perforatum* L. با استفاده از روش کشت بافت افزایش میزان دو ترکیب هیپریسین و پزودو هیپریسین را در برداشته است [۶]، البته در این تحقیق میزان ترکیب هیپریسین در کالوس تولید شده متغیر نبوده ولی تاثیر روی ترکیب پزودوهیپریسین را نشان داده است. میزان ترکیب هیپریسین غیر کشت شده را بین ۲۵ الی ۵۰ میکروگرم بر گرم بر اساس وزن خشک و میزان این ترکیب در نمونه کشت شده را بین ۳۰ الی ۱۰۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک اعلام نمود.

تشکر و قدردانی

از موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و همکاران بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی که نسبت به ارسال نمونه‌های گیاهی و همکاری در فعالیت‌های آزمایشگاهی همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نماییم.

قسمت‌های مختلف گیاه، صورت گرفته با دقت بیشتری گیاه به تنهایی (گونه‌ای از باریک برگان) را بررسی می‌کند و به صورت جداگانه هر قسمت گیاه تجزیه می‌شود، معمولاً مقدار هیپریسین به ترتیب در ساقه اصلی (۴۰ ppm)، ساقه‌های جانبی (۱۲۰ ppm) با برگ‌های زیرین (۲۵۰ ppm)، برگ‌های بالا (۳۸۰ ppm)، کاسه گل‌ها (۷۳۰ ppm) و غنچه‌ها و گل‌ها (۲۱۵۰ ppm) افزایش نشان داده است [۱۴].

با توجه به اهمیت گیاه گل راعی و ترکیب‌های موثر در اندام‌های مختلف آن، محققین را جهت تولید انبوه و فرمولاسیون این ترکیب جهت درمان بیماران افسرده و داروی آرام‌بخش، تحقیقات وسیعی را در زمینه‌های مختلف از جمله ژنتیک، بیوتکنولوژی و زراعت (از جنبه کشاورزی) و از لحاظ تعیین روش‌های مناسب استخراج در حد انبوه و یا تجاری انجام داده‌اند [۱۱].

میزان این ترکیب در اندام‌های گیاه متفاوت است [۱]، بنابراین انجام آزمایش‌هایی جهت بررسی میزان ماده موثره از جمله ترکیب هیپریسین در گونه‌های گل راعی که در مناطق مختلف استان‌ها رویش دارند، از ضروریات است. در این تحقیق ما را بر آن داشت تا نسبت به میزان ترکیب هیپریسین در گونه‌های مختلف *Hypericum* اقدام نماییم.

همان‌گونه که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌نمایید، میزان ترکیب هیپریسین در گل و برگ گونه گونه *H. perforatum* (گل ppm ۱۹۰۰ و برگ ۸۱۳) است و تمام مقالات تا به حال نیز روی این گونه گزارش نموده‌اند، در صورتی که در گونه *H. triquetrifolium*

منابع

1. Barnes J, Anderson LA, Phillipson D. St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *J. Pharm. Pharmacol.* 2001; 53: 583 - 600.
2. Briskin D. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant bio-chemistry and physiology to human health, *Plant Physiol.* 2000; 124: 507 - 14.
3. Cameron DW, Raverty WD, Pseudohypericin and other phenan-throperilene quinones, *Aust. J. Chem.* 1976; 29: 1523 - 33.
4. Chatterjee SS, Bhattacharya SK, Wonnemann M. Hyperforin as a possible antidepressant



- component of hypericum extracts. *Life Sci.* 1998; 63: 499 - 510.
5. Falk H. From the photosensitizer hypericin to the photoreceptor stentorin — the chemistry of phenanthroperylene quinines, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1999; 38, 3116 – 36.
6. Gadzovska S, Maury S, Ounnar S, Righezza M, Kascakova S, Refregiers M, Spasenoski M, Joseph C, Hagege D. Identification and quantification of hypericin and pseudohypericin in different *Hypericum perforatum* L. in vitro cultures., *Plant Physiology and Biochemistry* 2005; 43: 591 - 601.
7. Greeson MJ, Sanford B, Monti AD. St. John's wort (*Hypericum perforatum*), a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature, *Psychopharmacol.* 2001; 153: 402 – 14.
8. Jensen KIN, Gaul SO, Specht EG, Doohan DJ. Hypericin con-tent of Nova Scotia biotypes of *Hypericum perforatum* L., *Can. J. Plant Sci.* 1995; 75: 923 – 6.
9. Kirakosyan A, Hayashi H, Inoue K, Charchoglyan A, Varda-petyan H, Stimulation of the production of hypericins by mannan in *Hypericum perforatum* shoot cultures, *Phytochem.* 2000; 53: 345– 8.
10. Kirakosyan A, Vardapetyan H, Charchoglyan A, Yamamoto H, Hayashi H, Inoue K, The effect of cork pieces on pseudohypericin production in cells of *Hypericum perforatum* shoots, *Russ. J. Plant Physiol.* 2001; 48, 816 – 9.
11. Kopleman SH, Augsburg LL, NguyenPho A, Zito WS, Muller FX. Selected Physical and Chemical Properties of Commercial *Hypericum perforatum* Extracts Relevant for Formulated Product Quality and Performance, *AAPS Pharm. Sci.* 2001; 3 (4): article 26.
12. Meruelo D, Lavie G, Lavie D, Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity and effective doses, aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988; 85: pp: 5230 – 4.
13. Sirvent T, Gibson D. Induction of hypericins and hyperforin in *Hypericum perforatum* L. in response to biotic and chemical elicitors, *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2002; 60: 311 – 20.
14. Southwell IA, Campbel MH. Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* in Australia, *Phytochemistry* 1991; 30 (2): 475 - 8.
15. Walker ST, Pal Bais H, Vivanco MJ. Jasmonic acid-induced hyperi-cin production in cell suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort), *Phytochem.* 2002; 60: 289 – 93.
16. Butterweck V, Jurgenliemk G, Nahrstedt A, Winterhoff H. Flavonoids from *Hypericum peforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med.* 2000; 66 (1): 3 - 6.

