DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2014.5261

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۰، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۸-۱۰ (۱۳۹۲)

تعیین میزان هایپریسین در ۹ گونه *Hypericum*

کامکار جایمند[۱*]، محمدباقر رضایی[۲]، زهرا بهراد[۳]، مهدی میرزا[٤]، ولی‌الله مظفریان[٥]، رحمان آزادی[٦]، محمود نادری[۳]، مصطفی گلی‌پور[۷]، عاطفه بهمن‌زادگان[۸]، سعیده مشکی‌زاده[۷] و شاهرخ کریمی[۷]

۱*- نویسنده مسئول، دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
پست الکترونیک: Jaimand@rifr-ac.ir
۲- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۳- کارشناس ارشد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
٤- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
٥- دانشیار، بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
٦- مربی پژوهشی، بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۷- کارشناس، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۸- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱ تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۱

چکیده

گونه *Hypericum* از جنس‌های مهم گیاهان دارویی محسوب می‌شود. در حال حاضر در ایران ۱۷ گونه گیاه علفی، چندساله و درختچه‌ای هیپریکوم (گل‌راعی) وجود دارد که سه گونه آن انحصاری ایران هستند. این تحقیق جهت بررسی میزان ترکیب هیپریسین در ۹ گونه گل‌راعی انجام شد. پس از جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه (جدا کردن گل و برگ) اقدام به تهیه عصاره آن در دو مرحله با حلال‌های کلروفرم و متانول به‌وسیله دستگاه سوکسله گردید و بعد مواد استخراجی توسط دستگاه HPLC مورد بررسی قرار گرفتند. فاز متحرک شامل متانول ٦٨٪، اتیل‌استات ۲۰٪ و سدیم هیدروسولفات (۰/۱ مول) ۱۲٪ و فاز ثابت، C_{18} بود. دتکتور مورد استفاده UV بود که در ۵۹۰ نانومتر تنظیم گردید. اندامهای مختلف گونه *H. androsaemum* L. به‌طورکلی فاقد ترکیب هیپریسین بودند. میزان ترکیب هیپریسین در عصاره گل گونه *H. apricum* Kar. & Kir. ۰/۰٦۱٪ و در عصاره برگ آن ۰/۰۰۵٪ بود. در عصاره گل *H. armenum* Jaub. & Spach، ۰/۰۰۳٪ هیپریسین وجود داشت. برای گونه *H. asperulum* Jaub. & Spach، میزان هیپریسین در عصاره گل ۰/۰۲۵٪، برگ ۰/۰۰٤٪ و ساقه ۰/۰۰۳٪ بود. در عصاره گلهای گونه‌های *H. hirsutum* L. و *H. linarioides* Boss. ۰/۰۰۷٪ و *H. vermiculare* Boiss. & Hausskn. ۰/۰۰۵٪ هیپریسین وجود داشت. گونه *H. tetrapterum* Fries در عصاره گل ۰/۰۸۳٪، برگ ۰/۰۱٤٪ و ساقه ۰/۰۰۱٪ هیپریسین داشت و گونه *H. perforatum* L. در عصاره گل حاوی ۰/۱۲٤٪، برگ ۰/۰۲۸٪ و ساقه ۰/۰۰۳٪ هیپریسن بود.

واژه‌های کلیدی: گل‌راعی (*Hypericum*)، هیپریسین، HPLC.

مقدمه

از دهه‌های گذشته، علاقه به ترکیب‌های گیاهان دارویی به‌عنوان داروی گیاهی مورد توجه قرار گرفته‌است. در میان این گیاهان، گل‌راعی به علت داشتن متابولیت‌های ثانویه باارزش از اهمیت خاصی برخوردار بوده است. گونه‌های گل‌راعی دارای ترکیب‌های متعددی ازجمله اسیدهای فنلی [(اسید کلروژنیک)، فلوروگلوسینول‌ها (phloroglucinols) (هیپرفورین (hyperforin) و آدهیپرفورین (adhyperforin)] هستند. ترکیب هیپرفورین برای پیشگیری از فرستنده‌های عصبی سروتونین (Serotonin)، نورپین‌فرین (norepinephrine) و دوپامین (dopamine) می‌باشد (Chatterjee *et al.*, 1998). فلاونوییدهای موجود در این گونه‌ها روتین، هیپروسید، ایزوکوئیرسیترین، کوئرسیترین و کوئرستین هستند. فلاونوییدها دارای بعضی فعالیت‌های ضدافسردگی و نیز ضداکسیدکنندگی می‌باشند (Butterweck *et al.*, 2000). از میان ترکیب‌های نافتودی‌آنترون‌ها (naphtodianthrones) ترکیب‌های هیپریسین و پزدوهیپریسین مسئول فعالیت‌های ضدافسردگی در انسان می‌باشند. همچنین فعالیت ضدویروسی انسانی (Cytomegalovirus)، ضدآنفلوانزایی و بعضی ویروس‌های قوی را نشان داده‌اند.

مکمل غذایی گیاه گل‌راعی که عموماً به نام St John's Wort شناخته می‌شود، در معالجه افسردگی ملایم و کاهش آن نقش اساسی داشته‌است. البته جهت درمان و با توجه به تجویز پزشک، باید مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم استاندارد را با ۰/۳٪ هیپریسین، روزانه ۳ مرتبه مصرف شود (Barnes *et al.*, 2001).

این ترکیب ها به‌صورت غده‌هایی سیاه رنگ بر روی گل‌ها، پرچم‌ها، برگ‌ها و ساقه‌های گیاه مشاهده می‌شوند (Jensen *et al.*, 1995). ترکیب هیپریسین و پزدوهیپریسین جزء رنگدانه‌های فعال نوری در گیاه هستند که از طریق اکسیداسیون فنل جلوتر از اکسید شدن هیپریسین بدست می‌آید (Falk, 1999).

یکی از آثار جالب و مفید چای کوهی اثر ماده شیمیایی فعال هیپرسین بر ضدویروس ایدز است (Merulo *et al.*, 1988). هیپریسین دارای خواص ضدافسردگی است، تغییر مونوآمین در سیستم عصبی مرکزی تأثیر می‌گذارد (Briskin, 2000). با وجود توجه شدید محققان به بررسی ترکیب هیپریسین در درمان بیماریها، ترکیب فعال عمده در گل‌راعی پزودوهیپریسین ذکر شده‌است. البته میزان این ترکیب دو تا سه مرتبه بیشتر از ترکیب هیپریسین در گونه های گل‌راعی وحشی مشاهده شده‌است (Cameron & Raverty, 1976). استفاده تجاری از پزدوهیپریسین محدود است، زیرا خواص دارویی آن هنوز به‌طور جامع مورد مطالعه قرار نگرفته‌است.

متأسفانه، هجوم جانوران موذی توسط باکتری، قارچ و حشره می‌تواند میزان ترکیب هیپریسین را در گیاه تغییر دهد (Greeson *et al.*, 2001). مناطق محدود رویش این گیاه و برداشت فصلی، باعث کاهش در میزان فعالیت بیوشیمیایی و ناپایداری در کیفیت محصول می‌شود. این امر باعث شده تا تحقیق بیشتر برای تعیین روشهای جانشین برای افزایش تولید ترکیب هیپریسین شود. البته برای صنایع داروسازی، یک راه حل می‌تواند از طریق ریزازدیادی گیاه باشد. تاکنون مطالعات زیادی برای بالابردن تولید هیپریسین و پزدوهیپریسین شده‌است (Kirakosyan *et al.*, 2000؛ Kirakosyan *et al.*, 2001؛ Sirvent & Gibson, 2002؛ Walker *et al.*, 2002).

محدودیت در شرایط کشت می‌تواند در سطح سوخت و ساز و فعالیت حیاتی گونه‌های گل‌راعی تأثیرگذار باشد.

در طی گزارشی توسط Gadzovska و همکاران (۲۰۰۵)، روی گونه *H. perforatum* L. با استفاده از روش کشت بافت میزان دو ترکیب هیپریسین و پزودوهیپریسین افزایش یافته است که از روش دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با دتکتور فلورسنس (در طول موج‌های ۲۳۶ نانومتر و ۵۹۲ نانومتر) و ستون C_{18} استفاده شده بود (Gadzovska *et al*., 2005).

لباسچی و شریفی عاشورآبادی (۱۳۸۰) در بررسی تغییرات میزان ترکیب هیپریسین در رویشگاه‌های مختلف گل‌راعی اعلام کردند که در بین رویشگاه‌های مورد بررسی، گرگان و گیلان در سال اول، به ترتیب با ۰/۲۷۳٪ و ۰/۲۵۸٪ هیپریسین و گیلان، گرگان و نوشهر در سال دوم، به ترتیب با ۲/۲۲۳٪، ۰/۲۲۲٪ و ۰/۲۱۲٪ با خلخال ۰/۱۹٤٪ و ۰/۲۷۸٪ تفاوت معنی‌داری نشان دادند. بنابراین چنین به نظر می‌رسد که در مناطقی با ارتفاع ۲۵۰ تا ٤۰۰ متر از سطح دریا و بارندگی ۵۰۰ تا ۹۰۰ میلی‌متر و خاکی با مواد آلی و معدنی کافی، توان بالقوه تولید هیپریسین بالا باشد.

رضایی و همکاران (۱۳۸۰) میزان ترکیب هایپریسین در *H. perforatum* جمع‌آوری شده از همدان و نوشهر را به ترتیب ۰/۱۷۵٪ و ۰/۱٤۲٪ گزارش کردند.

نقدی‌بادی و همکاران (۱۳۸۳) به بررسی تغییرات عملکرد کمّی و میزان هیپریسین توده‌های مختلف *H. perforatum* پرداختند. تحقیقات آنها نشان داد که ژنتیک (توده) بر عملکرد وزن تر ($p<$ ۰/۰۵)، ماده خشک، ارتفاع بوته و قطر بوته ($p<$ ۰/۰۱) از نظر آماری تأثیر معنی‌داری داشت ولی این تأثیر روی میزان هیپریسین معنی دار نبود. البته میزان هیپریسین تحت تأثیر سال یا شرایط محیطی ($p<$ ۰/۰۱) قرار گرفت. بنابراین ژنتیک و شرایط محیطی به‌ترتیب نقش اصلی را در تولید اندام دارویی و کیفیت این گیاه (میزان هیپریسین) دارند و دو فاکتور کلیدی در تولید اقتصادی آن بشمار می‌روند.

میزان تغییرات هیپریسین در *H. perforatum* در استرالیا نیز بررسی شده است. گونه برگ پهن، دارای ۰/۰۳۷٪ تا ۰/۰۵۸٪ و گونه برگ باریک دارای ۰/۱۰٤٪ تا ۰/۱٦۳٪ هیپریسین بود. همچنین مقدار هیپریسین در ساقه اصلی ۰/۰۰٤٪، ساقه‌های جانبی ۰/۰۱۲٪ با برگ‌های زیرین ۰/۰۲۵٪، برگ‌های بالا ۰/۰۳۸٪، کاسه گل‌ها ۰/۰۷۳٪ و غنچه‌ها و گل‌ها ۰/۲۱۵٪ تفاوت داشته است (Southwell & Campbel, 1991).

نتایج تحقیقات قبلی در خصوص میزان هیپریسین در برگ و گل هشت گونه گل راعی به قرار زیر است: گونه *H. dogonbadanicum* (انحصاری ایران) (گل ۰/۰۰٤٪ و برگ ۰/۰۰٤٪)، گونه *H. helianthemoides* (گل ۰/۰۱۲٪ و برگ ۰/۰۰۲٪)، گونه *H. hirtellum* (گل ۰/۰۱۸٪ و برگ ۰/۰۰۳٪)، گونه *H. hyssopifolium* (گل ۰/۰۲۲٪ و برگ ۰/۰۱۲٪)، گونه *H. lysimachioides* (گل ۰/۰۱۸٪ و برگ ۰/۰۱۸٪)، گونه *H. perforatum* (گل ۰/۱۹٪ و برگ ۰/۰۸۱٪)، گونه *H. scabrum* (گل ۰/۰۰۱٪ و برگ ۰/۰۰۱٪) و گونه *H. triquetrifolium* (گل ۰/۱٤٦٪، برگ ۰/۱٤۳٪ و ساقه ۰/۰۰۲٪) (جایمند و همکاران، ۱۳۸٦).

هدف تحقیق حاضر، بررسی میزان ترکیب هیپریسین در ۹ گونه دیگر از جنس هیپریکوم بوده است. از آنجا که تحقیقات عمدتاً بر روی گونه *H. perforatum* انجام شده‌است، بنابراین در این تحقیق این گونه به‌عنوان مرجع برای مقایسه آورده شده‌است.

مواد و روشها

جمع‌آوری و خشک کردن گیاه

سرشاخه‌های گلدار گونه‌های *Hypericum*، از مناطق مختلف جمع آوری گردیده‌است. در جدول ۱ محل جمع آوری، تاریخ جمع آوری و ارتفاع محل آورده شده‌است. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه پاک کردن گیاه و خشک کردن نمونه‌ها در سایه انجام شد.

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

نام علمی گونه	تاریخ جمع‌آوری	محل جمع‌آوری	ارتفاع
H. androsaemum	۱۳۹۰/۰٤/۲۰	گیلان: سیکاهل به دیلمان	۸۰۰ متر
H. apricum	۱۳۹۰/۰٤/۰۱	آذربایجان شرقی: اهر ۱۵ کیلومتر به تبریز	۱٦۰۰ متر
H. armenum	۱۳۹۰/۰٤/۲۱	سمنان: هیکو	۲۲۷۵ متر
H. asperulum	۱۳۹۰/۰٤/۰٦	سنندج: ارتفاعات آبیدر بالای روستای نوره	۲۵۰۰ متر
H. hirsutum	۱۳۹۰/۰٤/۰۱	ارسباران: کلیبر به کلاله	۱۷۲۰ متر
H. linarioides	۱۳۹۰/۰٤/۰۱	ارسباران	۱۷٦۰ متر
H. perforatum	۱۳۹۰/۰۵/۳۱	ارومیه- بعد از روستای بند نرسیده به سد شهر چای	۱۵۰۷ متر
H. perforatum	۱۳۹۰/۰۳/۱۰	استان فارس- داراب- لایزنگان	
H. tetrapterum	۱۳۹۰/۰۵/۱۹	نوشهر- خیررود کنار	۱۸۰ متر
H. tetrapterum	۱۳۹۰/۰۵/۱۹	نوشهر- خیررود کنار	۱۸۰ متر
H. vermiculare	۱۳۹۰/۰٤/۰۲	مسیر جلفا به هادی شهر	۱۳۲۰ متر
H. vermiculare	۱۳۹۰/۰٤/۲۸	از سنندج بین بسطام و دو آب جاده مریوان به بانه	۱٦۲۰ متر

استخراج هیپریسین از گیاه

پس از جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه (جدا کردن گل و برگ)، اقدام به استخراج ترکیب‌های آن جهت تجزیه گردید. در مرحله اول ۱ گرم گل و برگ خشک گیاه را به‌طور جداگانه وزن کرده و در مخزن دستگاه سوکسله قرار داده و جهت حذف کلروفیل از حلال کلروفرم و در مرحله دوم از حلال متانول استفاده گردید. پس از صاف کردن محلول آن را با متانول به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانده و عصاره در شیشه‌های تیره رنگ و در یخچال نگهداری شد. برای تجزیه عصاره از دستگاه HPLC استفاده گردید.

شرایط دستگاهی HPLC

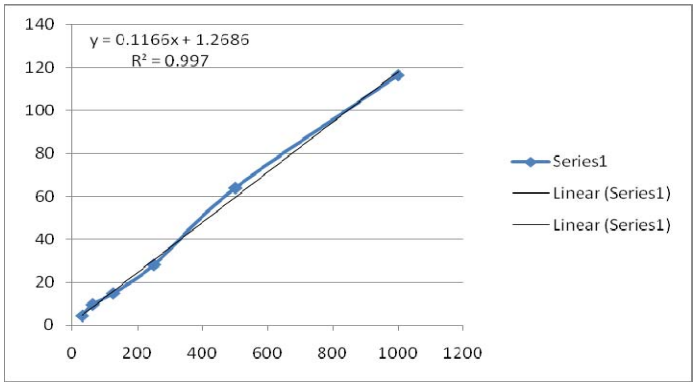
دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Knauer مدل Well Chrom 2000، پمپ مدل Maxi-star K-1000 و دتکتور مدل spectrophotometer K-2500 بود که در ۵۹۰ نانومتر تنظیم گردید. ستون مورد استفاده Erospher C_{18} 100 به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ٤ میلی‌متر، فاز متحرک متانول ٦۸٪، اتیل‌استات ۲۰٪ و سدیم هیدروسولفات (۰/۱ مول) ۱۲٪، و با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰µ بود. زمان انجام آزمایش مدت ۳۰ دقیقه به طول انجامید.

تهیه استاندارد

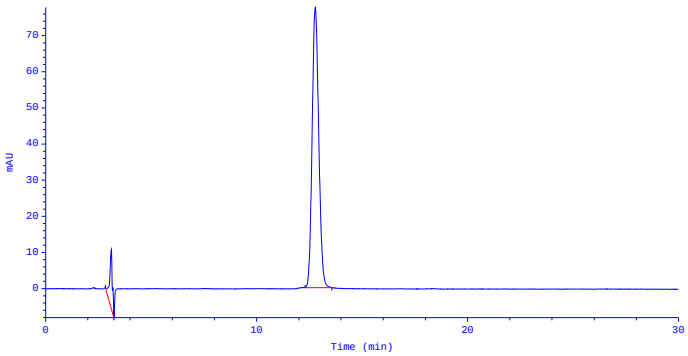
استاندارد هیپریسین (فرمول مولکولی $C_{30}H_{16}O_8$، با جرم مولکولی $gmol^{-1}$ ۵۰٤/٤۳ به مقدار ۱۰ میلی‌گرم) از شرکت Roth (شهر Karlsruhe در کشور آلمان) خریداری گردید.

رسم منحنی کالیبراسیون برای نمونه استاندارد

بررسی میزان هیپریسین با تهیه منحنی استاندارد به‌صورت زیر انجام شد. غلظت‌های متفاوتی از نمونه استاندارد (ppm ۲۰۰۰،۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ٦۲) در متانول تهیه و به دستگاه تزریق شد. بعد با محاسبه مساحت سطح زیر طیف ماده مجهول و انطباق آن با نمودار کالیبراسیون غلظت ماده مجهول بدست آمد (شکل ۱).



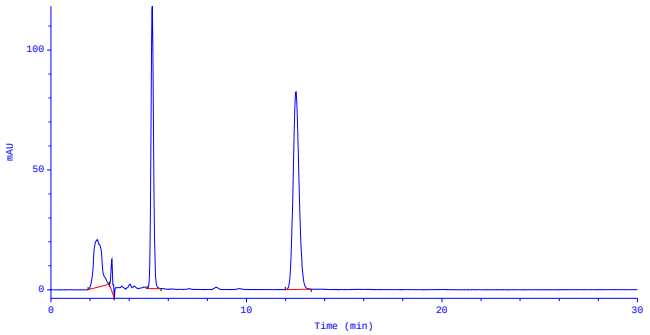
شکل ۱- منحنی خط کالیبراسیون ترکیب هیپریسین



Hypericine Standard 250 ppm

Ret. Time [min]	Start [min]	End [min]	compound	Amount	Units	Area [mAU* min]	Height [mAU]
12.783	12.30	13.57	Hypericine	236.751	ppm	28.1089	77.566

شکل ۲- کروماتوگرام و جدول استاندارد هیپریسین



P9005480-*Hypericum asperulum* (Flower)

Ret. Time [min]	Start [min]	End [min]	compound	Amount	Units	Area	Height
12.533	11.98	13.32	Hypericine	245.394	ppm	29.1351	82.3502

شکل ۳- کروماتوگرام و جدول نمونه گل‌راعی گونه *H. asperulum* (Flower)

نتایج

میزان ترکیب هیپریسین پس از استخراج در دو مرحله با حلالهای کلروفرم و متانول بوسیله دستگاه سوکسله و بعد اندازه‌گیری مواد استخراجی توسط دستگاه HPLC بدست آمد که در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- میزان ترکیب هیپریسین در گل، برگ و ساقه گل‌راعی به‌وسیله HPLC

نام منطقه	نام علمی گونه‌ها	میزان ترکیب هیپریسین به ٪		
		گل	برگ	ساقه
گیلان: سیاهکل به دیلمان	*Hypericum androsaemum* L.	–	–	–
آذربایجان شرقی: تبریز به اهر، ۱۵ کیلومتر به اهر	*Hypericum apricum*	۰/۰۶۱	۰/۰۰۵	–
سمنان: هیکو	*Hypericum armenum*	۰/۰۳	–	–
سنندج: ارتفاعات آبیدر بالای روستای نوره	*Hypericum asperulum*	۰/۰۲۵	۰/۰۰٤	۰/۰۰۳
ارسباران: کلیبر به کلاله	*Hypericum hirsutum* L	۰/۰۰۷	–	–
ارسباران	*Hypericum linarioides*	۰/۰۰۷	–	–
ارومیه- بعد از روستای بند نرسیده به سد شهر چای	*Hypericum perforatum*	۰/۱۲٤	۰/۰۲۸	۰/۰۰۳
استان فارس- داراب- لایزنگان	*Hypericum perforatum*	۰/۱۳۲	۰/۰۱۳	–
نوشهر- خیررود کنار	*Hypericum tetrapterum*	۰/۰۱٦	۰/۰۱۳	–
نوشهر- خیررود کنار	*Hypericum tetrapterum*	۰/۰۰۸	–	–
مسیر جلفا به هادی شهر	*Hypericum vermiculare*	۰/۰۰۵	–	–
از سنندج بین بسطام و دو آب جاده مریوان به بانه	*Hypericum vermiculare*	۰/۰۰۲	–	–

بحث

بیشتر تحقیقات قبلی روی میزان ترکیب‌های هیپریسین و پزدوهیپریسین در گونه *H. perforatum* انجام شده‌است. نتایج این تحقیق نشان داد که اندامهای مختلف گونه *H. androsaemum* L. به‌طور کلی فاقد ترکیب هیپریسین بودند. میزان ترکیب هیپریسین در عصاره گل گونه *H. apricum* ۰/۰٦۱٪ و در عصاره برگ آن ۰/۰۰۵٪ بود. در عصاره گل *H. armenum* ۰/۰۰۳٪ هیپریسین وجود داشت. برای گونه *H. asperulum*، میزان هیپریسین در عصاره گل ۰/۰۲۵٪، برگ ۰/۰۰٤٪ و ساقه ۰/۰۰۳٪ بود. در عصاره گلهای گونه‌های *H. hirsutum* L. و *H. linarioides* ۰/۰۰۷٪ و *H. vermiculare* ۰/۰۰۵٪ هیپریسین وجود داشت. گونه *H. tetrapterum* در عصاره گل ۰/۰۸۳٪، برگ ۰/۰۱٤٪ و ساقه ۰/۰۰۱٪ هیپریسین داشت و گونه *H. perforatum* در عصاره گل حاوی ۰/۱۲٤٪، برگ ۰/۰۲۸٪ و ساقه ۰/۰۰۳٪ هیپریسین بود (جدول ۲).

قبلاً میزان ترکیب هیپریسین در برگ و گل ۸ گونه گل‌راعی اندازه‌گیری شده که نتایج به صورت زیر بوده است: گونه *H. dogonbadanicum* (انحصاری ایران) (گل ۰/۰۰٤٪ و برگ ۰/۰۰٤٪)، گونه *H. helianthemoides* (گل ۰/۰۱۲٪ و برگ ۰/۰۰۲٪)، گونه *H. hirtellum* (گل ۰/۰۱۸٪ و برگ ۰/۰۰۳٪)، گونه *H. hyssopifolium* (گل ۰/۰۲۲٪ و برگ ۰/۰۱۲٪)، گونه *H. lysimachioides* (گل ۰/۰۱۸٪ و برگ ۰/۰۱۸٪)، گونه *H. perforatum* (گل ۰/۱۹٪ و برگ ۰/۰۸۱٪)، گونه *H. scabrum* (گل ۰/۰۰۱٪ و برگ ۰/۰۰۱٪) و گونه *H. triquetrifolium* (گل ۰/۱٤٦٪، برگ ۰/۱٤۳٪ و ساقه ۰/۰۰۲٪) (جایمند و همکاران، ۱۳۸٦).

ترکیب هیپریسین معمولاً به‌عنوان یک ترکیب علامت‌گذار برای یکسان‌سازی گل‌راعی بکار برده می‌شود و اخیراً، گزارش شده که مسئول اولیه برای فعالیت‌های ضدافسردگی، فعالیت‌های ضدویروس بر علیه ویروس انسانی Cytomegalovirus، آنفلوانزا و دیگر ویروس‌های قوی است (Chatterjee *et al.*, 1998). ترکیب هیپریسین از گونه *H. perforatum* با روشهای مختلف مورد استخراج و اندازه‌گیری قرار گرفته است. نظر به اینکه میزان ترکیب‌های موجود در گیاه گل‌راعی به خصوص هیپریسین با شرایط مختلف آب و هوایی و به نسبت گونه متفاوت می‌باشد، طی آزمایش‌های متعددی میزان هیپریسین در اندام‌های مختلف گیاه گل‌راعی مورد بررسی قرار گرفته است.

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌نمایید نتایج بررسی میزان ترکیب هیپریسین در گونه *H. perforatum* از دو منطقه متفاوت ارومیه و داراب به‌ترتیب (گل ۰/۱۲٤٪، برگ ۰/۰۲۸٪ و ساقه ۰/۰۰۳٪) و (گل ۰/۱۳۲٪، برگ ۰/۰۰۸٪ و ساقه ۰/۰۰۱٪) بدست آمدند. همچنین گونه *H. tetrapterum* از دو نقطه متفاوت خیررودکنار نوشهر جمع‌آوری گردید میزان هیپریسین در یک نمونه (گل ۰/۰۱٦٪، برگ ۰/۰۱۳٪) با نمونه دیگر (گل ۰/۰۰۸٪، برگ ۰/۰۱٤٪ و ساقه ۰/۰۰۱٪) متفاوت بود که می‌تواند به نوع خاک بستگی داشته باشد. همین‌طور میزان هیپریسین در گل‌های دو گونه متفاوت *H. hirsutum* و *H. linarioides* از منطقه ارسباران مشابه (۰/۰۰۷٪) بدست آمد. با توجه به نتایج بدست‌آمده بهترین گونه‌ای که می‌تواند با *H. perforatum* رقابت کند، گونه *H. triquetrifolium* می‌باشد. میزان هیپریسین در گل این گونه ۰/۱٤٦٪، برگ ۰/۱٤۳٪ و ساقه ۰/۰۰۲٪ بود. اگر نمونه‌های جمع‌آوری شده در یک محیط کشت شده و

همزمان برداشت شده باشند و مورد اندازه‌گیری قرار گیرند، شاید بهتر بتوان داوری نمود.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم مؤسسه 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.

منابع مورد استفاده

- جایمند، ک.، رضایی، م.ب.، مظفریان، و.ا.، آزادی، ر.، نادری حاجی باقرکندی، م.، مشکی‌زاده، س. و گلی‌پور، م.، ۱۳۸٦. اندازه‌گیری میزان ترکیب هیپریسین در برگ و گل ۸ گونه *Hypericum*. گیاهان دارویی، ۲۵(۷): ۵۵-٤۹.
- رضایی، م.ب.، جایمند، ک.، نوروزی، ح. و نادری، م.، ۱۳۸۰. بررسی میزان ترکیب هایپریسین در گونه‌های گل‌راعی. پژوهش و سازندگی (در منابع طبیعی)، ١٤(۲): ۹۷-۹٤.
- لباسچی، م.ح.، و شریفی عاشورآبادی، ا.، ۱۳۸۰. تغییرات هیپریسین در رویشگاه‌های مختلف گل‌راعی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۱: ۱۰۱-۸۷
- نقدی بادی، ح. ع.، ضیایی، س.ع.، میرجلیلی، م.ح.، اهوازی، م.، خلیقی سیگارودی، ف.، حبیبی خانیانی، ب. و فراهانی، ا.، ۱۳۸۳. تغییرات عملکرد کمّی و میزان هیپریسین توده‌های مختلف گیاه دارویی هوفاریقون. گیاهان دارویی، ۱۱(۳): ٦۷-۵۹.
- Barnes, J., Anderson, L.A. and Phillipson, D., 2001. St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 53(5):583-600.
- Briskin, D.P., 2000. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. Plant Physiology, 124(2): 507-514.
- Butterweck, V., Jurgenliemk, G., Nahrstedt, A. and Winterhoff, H., 2000. Flavonoids from hypericum show antidepressant activity in the forced swimming test. Planta Medica, 66: 3-6.
- Cameron, D.W. and Raverty, W.D., 1976. Pseudohypericin and other phenan-throperilene quinones. Australian Journal of Chemistry, 29: 1523-1533.
- Chatterjee, S.S., Bhattacharya, S.K., Wonnemann, M., Singer, A. and Müller, W.E., 1998. Hyperforin as a possible antidepressant component of hypericum extracts. Life Sciences, 63(6): 499-510.
- Falk, H., 1999. From the photosensitizer hypericin to the photoreceptor stentorin-the chemistry of phenanthroperylene quinines. Angewandte Chemie International Edition, 38(21): 3116-3136.
- Gadzovska, S., Maury, S., Ounnar, S., Righezza, M., Kascakova, S., Refregiers, M., Spasenoski, M., Joseph, C. and Hagege, D., 2005. Identification and quantification of hypericin and pseudohypericin in different *Hypericum perforatum* L. *in vitro* cultures., Plant Physiology and Biochemistry, 43(6): 591-601.
- Greeson, J.M., Sanford, B. and Monti, A.D., 2001. St. John's wort *(Hypericum perforatu*m), a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. Psychopharmacology, 153(4): 402-414.
- Jensen, K.I.N., Gaul, S.O., Specht, E.G. and Doohan, D.J., 1995. Hypericin content of Nova Scotia biotypes of *Hypericum perforatum* L. Canadian Journal of Plant Science, 75(4): 923-926.
- Kirakosyan, A., Hayashi, H., Inoue, K., Charchoglyan, A. and Varda-petyan, H., 2000. Stimulation of the production of hypericins by mannan in *Hypericum perforatum* shoot cultures. Phytochemistry, 53(2): 345-348.
- Kirakosyan, A.B., Vardapetyan, R.R., Charchoglyan, A.G., Yamamoto, H., Hayashi, H. and Inoue, K., 2001. The effect of cork pieces on pseudohypericin production in cells of *Hypericum perforatum* shoots. Russian Journal of Plant Physiology, 48(6): 816-819.
- Meruelo, D., Lavie, G. and Lavie, D., 1988. Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity and effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. Proceedings of the National Academy of Sciences, 85(14): 5230-5234.
- Sirvent, T. and Gibson, D., 2002. Induction of hypericins and hyperforin in *Hypericum perforatum* L. in response to biotic and chemical elicitors. Physiological and Molecular Plant Pathology, 60(6): 311-320.
- Southwell, J.A. and Campbel, M.H., 1991. Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* L. in Australia. Phytochemistry, 30: 475-478.
- Walker, T.S., Bais, H.P. and Vivanco, M.J., 2002. Jasmonic acid-induced hyperi-cin production in cell suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). Phytochemistry, 60(3): 289-293.

Determination of Hypericine content in nine species of *Hypericum*

K. Jaimand[1*], M.B. Rezaee[2], Z. Behrad[2], M. Mirza[2], V. Mozaffarian[2], R. Azady[2], M. Naderi[2], M. Golipur[2], A. Bahmanzadegan[3], S. Meshkizadeh[2] and Sh. Karimi[2]

1*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, E-mail : Jaimand@rifr-ac.ir
2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
3- Fars Research Center for Agriculture and Naturual Resources, Shiraz, Iran

Received: May 2012 Revised: August 2012 Accepted: December 2012

Abstract

Hypericum genus is one of the most important medicinal plants in Iran. Currently in Iran, there are 17 herbaceous, perennial and shrub species of Hypericum of which three species are endemic to Iran. This research was aimed to investigate Hypericine content in nine species of *Hypericum*. For Hypericine content 1 gram of plant was extracted in two steps, chloroform extraction then methanol extraction using a Soxhlet device. Hypericin content was measured by HPLC, using the following condition, mobile phase: (methanol 68%, ethyl acetate 20% and sodium hydrosulphate (0.1 M) 12%) and stationary phase C_{18}, and UV detector: set on 590 nm. Generally, no hypericin was detected in different organs of *H. androsaemum* L. Hypericine content detected in flowers, leaves and stems were: *H. apricum* Kar. & Kir. (in flowers 0.061% and leaves 0.005%), *H. armenum* Jaub. & Spach (flower 0.003%), *H. asperulum* Jaub. & Spach (in flower 0.025%, leaves 0.004% and stems 0.003%), in *H. hirsutum* L. (flower 0.007%), in *H. linarioides* Boss. (flower 0.007%), in *H. tetrapterum* Fries (flowers 0.008%, leaves 0.014%, and stem 0.001%), and *H.vermiculare* Boiss. & Hausskn. (flowers 0.005%), in *H. perforatum* L. (flowers 0.124%, leaf 0.028% , stem 0.003).

Key words: *Hypericum*, Hypericine, HPLC.