

El hipérico: una fuente de compuestos bioactivos con un amplio espectro de acción

Recibido el 13 de noviembre de 2006

BEATRIZ MARTÍNEZ POVEDA¹, MARÍA ISABEL AMORES-SÁNCHEZ², ANA RODRÍGUEZ QUESADA¹, MIGUEL ÁNGEL MEDINA^{1*}

¹*Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga.*

²*Centro de Salud Estación de Cártama, Avenida Manuel de Falla, s/n. Estación de Cártama, Cártama (Málaga)*

RESUMEN

El hipérico es una planta herbácea cuyos extractos han sido usados tradicionalmente para el tratamiento de muy diversas afecciones. Recientemente, se ha demostrado que los extractos de hipérico son efectivos para el tratamiento de la depresión leve a moderada. El hipérico es fuente de gran diversidad de compuestos bioactivos, siendo la hiperforina el principal causante de sus efectos antidepresivos. Otro compuesto característico del hipérico, la hipericina, es el más potente fotoactivador natural descrito. El renovado interés en el hipérico como fuente de compuestos con potencial aplicación farmacológica ha permitido caracterizar nuevos y prometedores efectos de la hiperforina y la hipericina, en particular como antitumorales y antiangiogénicos. Este trabajo revisa la etnobotánica del hipérico, con sus usos tradicionales y clínicos actuales, así como resume el estado actual del conocimiento acerca de los efectos biológicos de sus dos compuestos más característicos, la hipericina y la hiperforina.

* Contacto: Doctor Miguel Ángel Medina, Departamento de Biología Molecular y Bioquímica. Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. 29071-Málaga (España). Teléfono: +34 952 13 71 32. Correo electrónico: medina@uma.es

Palabras clave: Hierba de San Juan.—Hipericina.—Hyperforina.—Angiogénesis.—Fotoactivador.—Antidepresivo.—Antitumoral.

ABSTRACT

Hypericum: a source of bioactive compounds with a wide range of action

St. John's wort is a herbaceous plant, which extracts have been traditionally used for the treatment of a high number of pathological conditions. Recently, it has been shown that St. John's wort extracts are effective for the treatment of mild-to-moderate depression. St. John's wort is a source of a great diversity of bioactive compounds, hyperforin being the main responsible for the described antidepressant effects. Another characteristic compound is hypericin, the most potent natural photoactivator described so far. The renewed interest for St. John's wort as a source of compounds with potential pharmacological applications has allowed to characterize new and promising effects of hyperforin and hypericin, mainly as antitumoral and antiangiogenic compounds. This work reviews St. John's wort ethnobotanics, along with its traditional and current clinical uses, as well as the current state-of-the-art of the biological effects of both hypericin and hyperforin.

Key words: St. John's wort.—Hypericin.—Hyperforin.—Angiogenesis.—Photoactivator.—Antidepressive.—Antitumoral.

ETNOBOTÁNICA DEL HIPÉRICO: DATOS BOTÁNICOS, USOS TRADICIONALES Y CLÍNICOS ACTUALES

El hipérico o hierba de San Juan (*Hypericum perforatum* L.) es una planta herbácea perenne con una amplia distribución en Europa, Asia occidental, norte de África y Norteamérica (Figura 1). Se han descrito más de 400 especies de plantas pertenecientes al género *Hypericum*, que a su vez pertenece a la familia de las Clusiáceas (también denominadas Hipericáceas y Gutíferas). La planta del hipérico puede alcanzar un porte de hasta 60 cm. Sus hojas presentan unos «puntos pelúcidos» fácilmente observables al verlas al trasluz. Estos «puntos» no son realmente agujeros en las hojas sino unas «glándulas aceitosas» constituidas por una fina capa de resinas y aceites esenciales incoloros. Las flores son de color amarillo dorado, se disponen en corimbo terminal y presentan cinco sépalos en su cáliz y cinco pétalos (de longitud doble que la de los sépalos) en su corola. Los pétalos están salpicados de puntitos negros que cuando se frotran entre los

dedos los dejan teñidos de rojo. Es ese líquido rojo el que contiene los principales compuestos biológicamente activos.



FIGURA 1. El hipérico o hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*).

Una de las primeras citas del hipérico se remonta al año 79 a.C., cuando Plinio el Viejo comenta que los antiguos griegos y romanos solían colocar ramas de esta planta en su hogares encima de estatuas o imágenes (de ahí el nombre *hipérico*, del prefijo *hiper*, que en griego quiere decir «encima de» y la terminación *eikon*, de la palabra griega icono, imagen), en la creencia de que los poderes místicos de la planta los protegerían de los espíritus diabólicos (1). El nombre vulgar de «hierba de San Juan» se relaciona con el hecho de que la floración suele tener lugar hacia finales de junio, en torno al solsticio de verano. Según una antigua leyenda europea, heredera del uso tradicional mencionado por Plinio, el día de San Juan había que colgar ramas de hipérico en todas las puertas de casas y establos para protegerlos de los demonios y sus hechizos, así como de las

enfermedades y toda clase de males a las personas y sus ganados. En el siglo XIII, el hipérico es mencionado en la relación de plantas medicinales de la Escuela Médica de Salerno como *Herba demonis fuga* («la hierba que pone en fuga al diablo») y todavía a comienzos del siglo XVII los monjes franciscanos la usaban como *Fuga Daemonum* (2).

Aparte de estos usos «mágicos», el hipérico se ha empleado tradicionalmente, tanto en uso externo como interno, con muy diversas aplicaciones terapéuticas, incluidos su uso como promotor del sellado de heridas y diurético, así como en el tratamiento de condiciones neurálgicas, ciática y de mordeduras de reptiles venenosos. El empleo de sus flores para estos usos ya fue documentado por los antiguos médicos griegos Hipócrates (460-377 a.C.), Teofrasto (372-287 a.C.), Dioscórides (primer siglo de nuestra era) y Galeno (131-201). En su monumental «Plantas medicinales. El Dioscórides renovado», Font Quer comenta que «*las virtudes atribuidas al hipérico son innumerables*». Entre ellas, destaca que «*goza la primera preferencia entre las plantas vulnerarias, por cuya razón su principal uso es para mundificar y consolidar las heridas y ulceraciones, sean internas o externas, y por esto la llaman hierba militar*» (3). Andrés de Laguna, en sus comentarios, dice que «*el hipérico es planta muy conocida por toda España, a do suelen llamarla comúnmente corazoncillo, porque hace las hojas a manera de corazones pequeños. Llámase también perforata por las boticas a causa que sus hojas tienen infinitos agujeritos por los cuales se translucen, como las telarañas*» (4). Font Quer señala que «*precisamente el empleo del hipérico como vulnerario parece que, por lo menos, se acrecentó en los albores del Renacimiento, cuando privaba la teoría de los signos, y hay quien lo atribuye a las señales de sus hojas, “perforadas” y, sin embargo, perfectamente “cicatrizadas”*» (3). En la «Cartilla Rústica» de Diego de Torres (5), aparece una fórmula para preparación del aceite de esta planta. En 1525, el médico suizo Paracelso establece su uso para el tratamiento de la depresión, la melancolía y la sobreexcitabilidad. Desde entonces ha sido usado en la medicina europea (sobre todo, centro-europea) tradicional para tratar neuralgias, ansiedad, neurosis y depresión. Además de su empleo en desórdenes psiquiátricos, en los últimos dos siglos se ha venido usando externamente para tratar heridas, magulladuras y esguinces, e internamente para combatir in-

fecciones víricas y bacterianas, úlceras pépticas, y enfermedades inflamatorias y de las vías respiratorias (2, 6-8).

El cada vez más popular uso en Alemania del hipérico para combatir la fatiga, el malestar y la depresión ha conducido a su estudio clínico empleando métodos científicos y objetivos desde finales de los años setenta del pasado siglo (2). Para el tratamiento de la depresión suelen emplearse extractos alcohólicos estandarizados (60% etanol o bien 80% metanol), preparados a partir de las partes aéreas de la planta secadas inmediatamente después de su recolección (en Europa, durante el período de florecimiento o justo antes del mismo) y se formulan en pastillas, cápsulas y jarabes para su administración oral (7). Los múltiples ensayos clínicos ya efectuados con diversos extractos llevan a la conclusión de que el hipérico, no siendo muy útil para el tratamiento de la depresión severa, es —en cambio— eficaz en el tratamiento de la depresión leve y moderada (2, 6-8).

En 1984, la Comisión E alemana aprobó el uso del hipérico para el tratamiento de estados de ánimo depresivos, perturbaciones psicovegetativas, estados de ansiedad e inquietud nerviosa. Desde entonces, otros varios países han aprobado la venta de preparados del hipérico como «suplemento dietético» y reconocen que el hipérico es un antidepresivo efectivo en el tratamiento de la depresión leve y moderada (2, 6). Por primera vez, en 1999 se introdujo una monografía sobre el hipérico en la *European Pharmacopoeia* (9). Como en Europa, también en Estados Unidos los preparados de hipérico, como la mayoría de las hierbas, se venden libremente con mínima regulación por parte de la *Food and Drug Administration* (FDA), de acuerdo con el Acta de Salud y Educación sobre Suplementos Dietéticos de 1994. Desde entonces, su uso se ha incrementado exponencialmente. En Estados Unidos, las ventas anuales pasaron de 20 millones de dólares en 1995 a 200 millones de dólares en 1997 y más de 400 millones de dólares en 1998 (6). En Europa, en 1999 las ventas superaron los 6.000 millones de dólares. En Alemania, su principal mercado, el hipérico se prescribe unas 20 veces más que la fluoxetina, siendo uno de los antidepresivos más populares (8).

EMPLEO DE EXTRACTOS DE HIPÉRICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA DEPRESIÓN LEVE A MODERADA

Los extractos alcohólicos empleados como antidepresivos pueden contener un 0,1-0,3% de hipericina, un 2-4% de flavonoides y hasta un 6% de hiperforina (10). El número de extractos disponibles en el mercado es creciente. Independientemente de los extractos usados para ensayos clínicos, diversos análisis y metaanálisis coinciden en unas conclusiones que dejan poco lugar para la duda: el hipérico es superior al placebo y tan efectivo como algunos de los antidepresivos tricíclicos (imipramina) e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (fluoxetina) más representativos, en el tratamiento de la depresión leve y moderada (2, 7). Además, hay datos que apuntan a que el hipérico puede evitar la ansiedad asociada a la depresión más eficazmente que la imipramina (11). Los datos disponibles procedentes de todos los estudios clínicos muestran que el hipérico es bien tolerado y remarcablemente seguro, sin efectos adversos serios y con escasa incidencia de efectos secundarios leves (7). Estos datos son muy diferentes y mejores que los obtenidos con la mayoría de los otros antidepresivos.

Las interacciones del hipérico con otros fármacos descritas hasta la actualidad no son muy numerosas; se han documentado bien las interacciones con ciclosporina, anticonceptivos orales y otros antidepresivos, entre otros. Estos simples datos deberían bastar para que el hipérico dejara de ser considerado como un simple suplemento saludable de la dieta. Los pacientes, muy particularmente en Alemania, tienden a aceptar mejor los tratamientos con hierbas medicinales que con «drogas químicas» en la creencia de que «natural» es equivalente a «inocuo». Esto no es así y la fitoterapia debería ser una parte regular más de la medicina convencional, sometida a criterios equivalentes de regulación y estandarización. Este hecho es muy importante, ya que la actual falta de regulación y estandarización de las preparaciones de hipérico disponibles comercialmente continúa siendo una importante barrera para recomendar más extensamente su uso a los pacientes depresivos (2, 6).

Los aspectos económicos no deberían ser tampoco olvidados. Se estima que el coste diario de un tratamiento con hipérico es un 50% menor que el de un tratamiento con antidepresivos tradicionales y

hasta tres veces menor que el de un tratamiento con antidepresivos de última generación (2). Esto supone, desde un punto de vista farmacoeconómico, un ahorro muy considerable para muchos países.

COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL HIPÉRICO

El hipérico contiene al menos diez clases de compuestos detectables biológicamente activos, resumidos en la Tabla 1. Estos compuestos varían en concentración incluso entre ejemplares distintos de plantas. Varias razones explican esta alta variabilidad: variaciones genéticas intraespecíficas, condiciones del entorno ecológico donde crecen, momento de recolección, preparación y procesamiento del material y exposición a la luz. A pesar de ello, los compuestos bioactivos representan aproximadamente el 20% de un extracto de la planta, según se ha verificado usando técnicas bioanalíticas estándares (8).

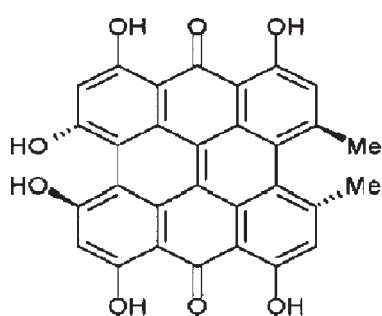
A continuación se describirán algunas de las más destacadas características de dos de los principales componentes bioactivos aislados de los extractos de hipérico, los más propiamente característicos de esta planta: la hipericina (una naftodiantrona) y la hiperforina (un derivado de floroglucinol) (ver fórmulas en Figura 2).

Hipericina

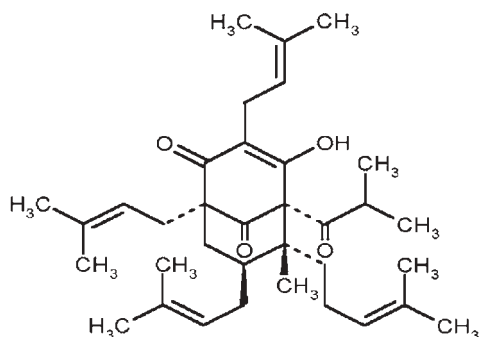
Muchos datos indican que la hipericina no presenta un papel importante en el efecto antidepresivo del hipérico (7, 8). No obstante, un estudio relativamente reciente parece haber demostrado que la hipericina presenta una significativa afinidad hacia los receptores σ -opioides (12).

La hipericina es probablemente el más potente fotosensibilizador natural conocido. Se entiende como *fotosensibilizador* un compuesto que, en presencia de oxígeno y mediante estimulación lumínica, genera radicales superóxido (reacción de tipo I), que —a su vez— puede formar radicales peróxido e hidroxilo, así como moléculas de oxígeno singlete, $^1\text{O}_2$ (reacción tipo II). La *terapia fotodinámica* antitumoral consiste en la administración sistémica de un fotosensibilizador y la irradiación dirigida de luz visible focalizada en la lesión

tumoral. La generación local de especies reactivas de oxígeno por las reacciones de fotosensibilización de tipo I y/o II daña las células tumorales. Además de la muerte directa de las células tumorales, la terapia fotodinámica produce profundos cambios en la vasculatura tumoral y puede producir una respuesta inflamatoria. Probablemente, todos estos efectos cooperan sinérgicamente en la erradicación del tumor. Dados su carácter fuertemente fotosensibilizador y su escasa toxicidad en oscuridad, la hipericina es un compuesto de elección para la fototerapia dinámica: La fotosensibilización de células en presencia de hipericina desencadena la respuesta de diversas rutas de bioseñalización, que conducen a distintas respuestas celulares (supervivencia, apoptosis o necrosis) en función del nivel de estrés oxidativo producido, que —a su vez— depende de la dosis de irradiación y de la concentración de hipericina utilizadas (13).



HIPERICINA



HIPERFORINA

FIGURA 2. Estructuras químicas de la hipericina y la hiperforina.

Sin embargo, parece que diversos efectos de la hipericina se producen en la oscuridad, bajo condiciones en las que el compuesto no se ha fotoactivado. Entre estos efectos biológicos independientes de fotoactivación se incluyen la inhibición catalítica de la actividad DNA topoisomerasa II humana, así como actividades antivirales y antitumorales (14-17).

Tabla 1. *Compuestos biológicamente activos detectables en el hipérico. Adaptado de Greeson et al., 2001 (8). *Código de una letra de aminoácidos proteinogénicos: C, cisteína; D, glutamato; K, lisina; L, leucina; P, prolina; T, treonina; N.D., no determinado*

Clase bioquímica	% en planta fresca	Compuesto activo	% en planta fresca
Naftodiantronas	0,3-3,0	Hipericina	0,09
		Pseudohipericina	0,23
Floroglucinoses	2-5	Hiperforina	2,0-4,5
		Adhiperforina	0,2-1,8
Flavonoides	12 (hojas), 7 (tallos), 2-4 (yemas)	Quercetina	2,0
		Hiperósido	0,7
		Quercitrina	0,5
		Isoquercitrina	0,3
		Rutina	0,3
		Amentoflavona	0,01-0,05
Procianidinas	12 (partes aéreas), 8 (flores y yemas)	Biapigenina	0,10-0,50
		Procianidina	N.D.
		Catequina	N.D.
		Epicatequina (polímero)	N.D.
Taninos	6-15	Ácido tánico	N.D.
Aceites esenciales	0,06-1,00	Terpenos, alcoholes	
Aminoácidos	0,01	GABA, ornitina, C, D, K, L, P, T*	
Fenilpropanos	0,1	Ácidos cafeico y clorogénico	
Xantonas	<0,01	Noratiriol, quielcorina	
Otros (hidrosolubles)	0,5	Ácidos orgánicos, péptidos, sacáridos	

Hiperforina

La hiperforina parece ser uno de los principales compuestos causantes de los efectos antidepresivos del hipérico. Además, es un

compuesto excepcional, pues es el único antidepresivo que exhibe un efecto inhibitor de amplio espectro en la recaptación de neurotransmisores, inhibiendo con similar potencia los procesos de recaptación de serotonina, noradrenalina y dopamina. Es más, a diferencia de otros fármacos antidepresivos, también inhibe la recaptación de los aminoácidos neurotransmisores GABA y glutamato. Estos efectos conducen a una elevación en los niveles extraneuronales de los neurotransmisores mencionados (6). Como la fuerza conductora de todos los transportadores de estos neurotransmisores es el gradiente de iones sodio (18), estos efectos de amplio espectro podrían conseguirse aumentando la concentración intracelular de iones sodio. En efecto, la hiperforina aumenta los niveles intracelulares de iones sodio libres, un efecto que puede deberse bien a una activación de la proteína intercambiadora de iones sodio y protones presente en las membranas plasmáticas de las neuronas (lo cual produciría un aumento del transporte de sodio hacia el interior de la neurona) y/o a un bloqueo de los canales de sodio sensibles a amiloride (lo cual reduciría la expulsión de iones sodio del interior de la neurona). Además, la hiperforina también inhibe las respuestas mediadas por receptores GABA, NMDA y AMPA y promueve la apertura de canales de calcio presinápticos, estimulando así la liberación de neurotransmisores desde los sinaptosomas al espacio intersináptico (6, 19, 20). Todos estos datos parecen indicar que la actividad antidepresiva de la hiperforina es debida a un mecanismo de acción novedoso, independiente de interacciones específicas con las propias proteínas transportadoras implicadas en la recaptación de neurotransmisores (20, 21). Más bien, el nuevo mecanismo de acción representado por los efectos de la hiperforina sería la consecuencia de sus efectos sobre la homeostasis iónica en el sinaptosoma. Además, también se ha demostrado que la hiperforina aumenta los valores de pH citosólico y modifica diferentes parámetros de los que depende la fluidez de las membranas neuronales (20, 22, 23); estas modificaciones, a su vez, pueden producir efectos sobre distintos mecanismos de conductividad iónica, que podrían también contribuir a sus propiedades farmacológicas (23-27). Aunque con lo dicho parece quedar claro que la hiperforina es una de las principales causantes de los efectos antidepresivos del hipérico a través de los movimientos iónicos que promueve y las consecuencias de los mismos, otros compuestos y otras acciones también podrían contribuir a la eficien-

cia clínica del hipérico. Aparte de la hiperforina, recientemente se ha comprobado que otros dos tipos de compuestos, la adhiperforina y las procianidinas, presentan un perfil de amplio espectro inhibitorio de la recaptación de neurotransmisores.

Por otra parte, en los últimos años se ha avanzado mucho en la caracterización de otras actividades de la hiperforina con potencial interés farmacológico y biomédico. Su espectro de acción incluye efectos neurológicos, antibacterianos, antitumorales y moduladores de la inflamación, tal como recoge una reciente revisión sistemática sobre el tema elaborada por nuestro grupo (28). Cabe destacar que los efectos antitumorales de la hiperforina descritos hasta la fecha son múltiples, e incluyen efectos anticarcinogénicos, antiproliferativos, proapoptóticos, antiinvasivos y antimetastáticos.

LA HIPERICINA Y LA HIPERFORINA COMO DOS NUEVOS COMPUESTOS ANTIANGIOGÉNICOS

A pesar de que varios de los usos del hipérico en la farmacopea tradicional están relacionados con procesos dependientes de angiogénesis, hasta fechas muy recientes no había ningún estudio publicado que analizara sistemáticamente los potenciales efectos de hipericina e hiperforina sobre la angiogénesis. Tal tarea era abordable por nuestro grupo, dado que desde hace doce años disponemos de la experiencia para analizar la capacidad moduladora del balance proteolítico en la matriz extracelular, uno de los pasos claves de la angiogénesis (29-31) y desde hace seis años disponemos de una amplia batería de ensayos *in vivo* e *in vitro* para la caracterización de los efectos de nuevos moduladores de angiogénesis (32-34).

Nuestros resultados recientemente publicados identifican inambiguamente la hiperforina y la hipericina (no fotoactivada) como dos nuevos compuestos naturales antiangiogénicos, caracterizan los efectos específicos de cada uno sobre los distintos pasos claves de la angiogénesis y amplían el espectro de acción farmacológica del hipérico como planta medicinal. La prioridad de estos hallazgos nos corresponde, ya que estos resultados dieron lugar a dos artículos de investigación original publicados en 2005, que fueron la primera caracterización sistemática de los efectos antiangiogénicos de hiperfo-

rina e hipericina (en oscuridad), respectivamente (35, 36). Así, nosotros hemos demostrado por primera vez que la hipericina no fotoactivada es capaz de inhibir la proliferación de células endoteliales, la formación de estructuras tubulares sobre Matrigel, su capacidad migratoria e invasiva y su producción de la serín-proteasa uroquinasa (36). Prácticamente al mismo tiempo que nuestro trabajo, se aceptó para su publicación un trabajo independiente de otro grupo de investigación que, con modelos y aproximaciones experimentales distintos también demuestran que la hipericina tiene efectos antiangiogénicos con potenciales aplicaciones para el tratamiento de enfermedades oftálmicas dependientes de angiogénesis (37). Por otra parte, también hemos sido los primeros en demostrar que la hiperforina inhibe la angiogénesis *in vivo* y que es capaz de inhibir diversos pasos claves del proceso angiogénico, incluyendo la proliferación, diferenciación y capacidad invasiva de las células endoteliales, así como su capacidad de degradar matrices extracelulares mediante la liberación de MMP-2 (metaloproteinasa de matriz extracelular 2) y uroquinasa (35). Posteriormente, en un trabajo acerca del efecto inhibitorio de la hiperforina sobre la secreción de MMP-9 (metaloproteinasa de matriz extracelular 9) por células leucémicas (38), los autores se atreven a reclamar que ellos son los primeros en comprobar el efecto inhibitorio de la hiperforina sobre tres pasos claves de la angiogénesis, sin hacer mención a nuestro trabajo previo, a pesar de encontrarse disponible desde medio año antes de la fecha de aceptación de su estudio. Un tercer grupo independiente también ha publicado posteriormente a nosotros otro trabajo que confirma que la hiperforina actúa como un inhibidor de angiogénesis (39).

La Figura 3 resume los diversos efectos inhibidores de estos dos compuestos bioactivos del hipérico sobre pasos claves del proceso angiogénico.

Dado que las enfermedades neoplásicas dependen de la angiogénesis para su progresión y metástasis y puesto que se ha descrito gran cantidad y diversidad de otras patologías dependientes de angiogénesis, nuestros trabajos abren vías al potencial uso farmacológico de estos compuestos en el tratamiento de dichas enfermedades. Caben esperar más sorpresas del estudio científico de sus compuestos bioactivos en el futuro cercano.

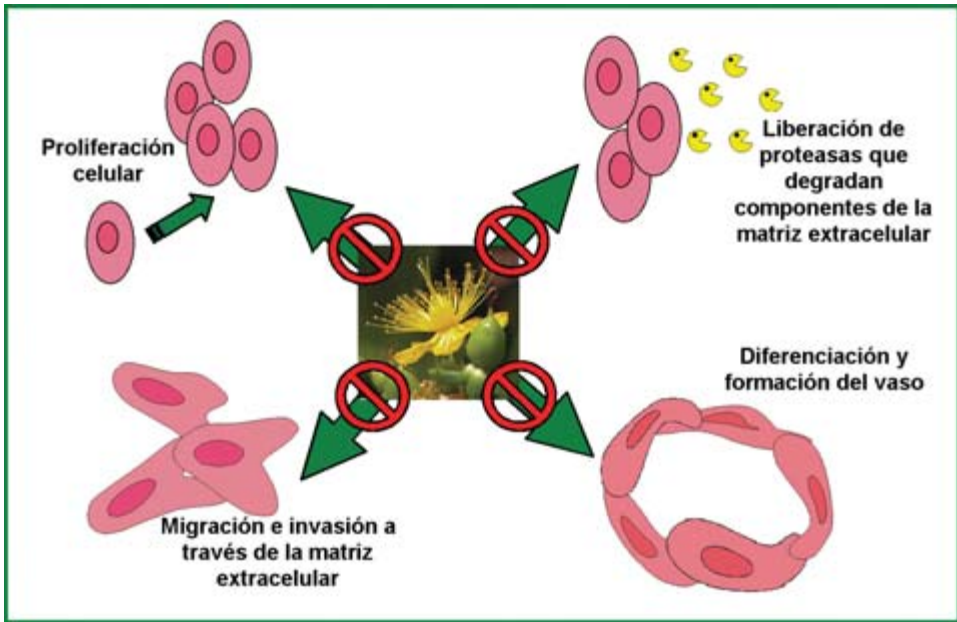


FIGURA 3. *Efectos inhibitorios de los compuestos hipericina e hiperforina, característicos del hipérico, sobre pasos claves del proceso angiogénico.*

AGRADECIMIENTOS

Nuestro trabajo experimental se financia con fondos de los proyectos CTQ2006-15279-C03-03/BQU, SAF2005-01812 y PTR95-0904 (MEC) y del grupo consolidado de investigación CVI-267 (Junta de Andalucía).

BIBLIOGRAFÍA

- (1) MILLER, L. G. (1998): Herbal medicine. Selected clinical considerations focusing on known or potential drug-herb interactions. *Arch. Intern. Med.* 158: 2200-2211.
- (2) GUPTA, R. K. and MOLLER, H. J. (2003): St. John's Wort. An option for the primary care treatment of depressive patients? *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 253: 140-148.
- (3) FONT-QUER, P. (1961): Plantas medicinales. El Dioscórides renovado. Península, Madrid.

- (4) LAGUNA, A. (1570): Pedacio Dioscórides Anazarbeo, acerca de la materia medicinal y de los venenos mortíferos. Salamanca.
- (5) TORRES, D. (1727): Cartilla rústica, physica visible y astrología innegable: lecciones de agricultura y juicios pastoriles para hacer docto al rústico. Madrid.
- (6) BILIA, A. R.; GALLORI, S. and VINCIERI, F. F. (2002): St. John's wort and depression: efficacy, safety and tolerability-an update. *Life Sci.* 70: 3077-3096.
- (7) DI CARLO, G.; BORRELLI, F.; ERNST E. and IZZO, A. A. (2001): St John's wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 292-297.
- (8) GREESON, J. M.; SANFORD B. and MONTI, D. A. (2001): St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacol.* 153: 402-414.
- (9) MULTIPLES AUTORES (2000): European Pharmacopoeia, 3.^a ed., Supp. 2001, S972. Council of Europe. Strasbourg, Francia.
- (10) VITIELLO, B. (1999): *Hypericum perforatum* extracts as potential antidepressants. *J. Pharm. Pharmacol.* 51: 513-517.
- (11) WOELK, H. (2000): Comparison of St John's wort and imipramine for treating depression: randomised controlled trial. *BMJ* 321: 536-539.
- (12) RAFFA, R. B. (1998): Screen of receptor and uptake site activity of hypericin component of St. John's wort reveals sigma receptor bonding. *Life Sci.* 62: 265-270.
- (13) AGOSTINIS, P.; VANTIEGHEM, A.; MERLEVEDE, W. and DE WITTE, P. A. M. (2002): Hypericin in cancer treatment: more light on the way. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 34: 221-241.
- (14) PEEBLES, K. A.; BAKER, R. K.; KURZ, E. U.; SCHNEIDER, B. J. and KROLL, D. J. (2001): Catalytic inhibition of human DNA topoisomerase IIa by hypericin, a naphthodianthrone from St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Biochem. Pharmacol.* 62: 1059-1070.
- (15) MERUELO, D.; LAVIE, G. and LAVIE, D. (1988): Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5230-5234.
- (16) TANG, J.; COLACINO, J. M.; LARSEN, S. H. and SPITZER, W. (1990): Virucidal activity of hypericin against enveloped and non-enveloped DNA and RNA viruses. *Antivir. Res.* 13: 313-326.
- (17) BLANK, M.; MANDEL, M.; HAZAN, S.; KEISARI, Y. and LAVIE, G. (2001): Anti-cancer activities of hypericin in the dark. *Photochem. Photobiol.* 74: 120-125.
- (18) MALANDRO, M. S. and KILBERG, M. S. (1996): Molecular biology of mammalian amino acid transporters. *Annu. Rev. Biochem.* 65: 605-636.
- (19) CHATTERJEE, S. S.; BIBER, A. and WEIBEZAHN, C. (2001): Stimulation of glutamate, aspartate and gamma-aminobutyric acid release from synaptosomes by hyperforin. *Pharmacopsychiatry* 34: S11-S19.
- (20) MULLER, W. E.; SINGER, A. and WONNEMANN, M. (2001): Hyperforin-antidepressant activity by a novel mechanism of action. *Pharmacopsychiatry* 34: S98-S102.

- (21) SINGER, A.; WONNEMANN, M. and MULLER, W. E. (1999): Hyperforin, a major antidepressant constituent of St. John's Wort, inhibits serotonin uptake by elevating free intracellular Na⁺. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290: 1363-1368.
- (22) KRISHTAL, O.; LOZOVAYA, N.; FISUNOV, A.; TSINTSADZE, T.; PANKRATOV, Y.; KOPANITSA, M. and CHATTERJEE, S. S. (2001): Modulation of ion channels in rat neurons by the constituents of *Hypericum perforatum*. *Pharmacopsychiatry* 34: S74-S82.
- (23) ECKERT, G. P.; KELLER, J. H.; JOURDAN, C.; KARAS, M.; VOLMER, D. A.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M. and MULLER, W. E. (2004): Hyperforin modifies neuronal membrane properties in vivo. *Neurosci. Lett.* 367: 139-143.
- (24) MARSH, W. L. and DAVIES, J. A. (2002): The involvement of sodium and calcium ions in the release of amino acid neurotransmitters from mouse cortical slices elicited by hyperforin. *Life Sci.* 71: 2645-2655.
- (25) ROZ, N. and REHAVI, M. (2003): Hyperforin inhibits vesicular uptake of monoamines by dissipating pH gradient across synaptic vesicle membrane. *Life Sci.* 73: 461-470.
- (26) ROZ, N. and REHAVI, M. (2004): Hyperforin depletes synaptic vesicles content and induces compartmental redistribution of nerve ending monoamines. *Life Sci.* 75: 2841-2850.
- (27) KIEWERT, C.; BUCHHOLZER, M. L.; HARTMANN, J.; CHATTERJEE, S. S. and KLEIN, J. (2004): Stimulation of hippocampal acetylcholine release by hyperforin, a constituent of St. John's Wort. *Neurosci. Lett.* 364: 195-198.
- (28) MEDINA M. A.; MARTÍNEZ-POVEDA, B.; AMORES-SÁNCHEZ, M. I. and QUESADA, A. R. (2006): Hyperforin: more than an antidepressant bioactive compound? *Life Sci.* 79: 105-111.
- (29) GARCÍA DE VEAS, R.; SCHWEIGERER, L. and MEDINA, M. A. (1995): Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in paediatric tumour cells. Effects of tumour cell proliferation modulators on gelatinolytic activity. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 121: 275-278.
- (30) GARCÍA DE VEAS, R.; SCHWEIGERER, L. and MEDINA, M. A. (1998): Modulation of the proteolytic balance plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor by enhanced N-myc oncogene expression or application of genistein. *Eur. J. Cancer* 34: 1736-1740.
- (31) FAJARDO, I.; QUESADA, A. R.; NÚÑEZ DE CASTRO, I.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F. and MEDINA, M. A. (1999): A comparative study of the effects of genistein and 2-methoxyestradiol on the proteolytic balance and tumour cell proliferation. *Br. J. Cancer* 80: 17-24.
- (32) RODRÍGUEZ-NIETO, S.; GONZÁLEZ-IRIARTE, M.; CARMONA, R.; MUÑOZ-CHÁPULI, R.; MEDINA, M. A. and QUESADA, A. R. (2001): Antiangiogenic activity of aeroplysinin-1, a brominated compound isolated from a marine sponge. *FASEB J.* 10.1096/fj.01-0427fje.
- (33) CASTRO, M. A.; GONZÁLEZ-IRIARTE, M.; BARRERO, A. F.; SALVADOR-TORMO, N.; MUÑOZ-CHÁPULI, R.; MEDINA, M. A. and QUESADA, A. R. (2004): Study of puerpene and related compounds as inhibitors of angiogenesis. *Int. J. Cancer* 110: 31-38.

- (34) CÁRDENAS, C.; QUESADA, A. R. and MEDINA, M. A. (2004): Effects of ursolic acid on diferent steps of the angiogenic process. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320: 402-408.
- (35) MARTÍNEZ-POVEDA, B.; QUESADA, A. R. and MEDINA, M. A. (2005): Hyperforin, a bio-active compound of St. John's wort, is a new inhibitor of angiogenesis targeting several key steps of the process. *Int. J. Cancer* 117: 775-780.
- (36) MARTÍNEZ-POVEDA, B.; QUESADA, A. R. and MEDINA, M. A. (2005): Hypericin in the dark inhibits key steps of angiogenesis in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* 516: 97-103.
- (37) LAVIE, G.; MANDEL, M.; HAZAN, S.; BARLIYA, T.; BLANK, M.; GRUNBAUM, A.; MERUELO, D. and SOLOMON, A. (2005): Anti-angiogenic activities of hypericin in vivo: Potential for ophthalmologic applications. *Angiogenesis* 8: 35-42.
- (38) QUINEY, C.; BILLARD, C.; MIRSHANI, P.; FOURNERON, J. D. and KOLB, J. P. (2006): Hyperforin inhibits MMP-9 secretion by B-CLL cells and microtubule formation by endothelial cells. *Leukemia* 20: 583-589.
- (39) SCHEMPP, C. M.; KISS, J.; KIRKIN, V.; AVERBECK, M.; SIMON-HAARHAUS, B.; KREMER, B.; TERMEER, C. C.; SLEEMAN, J. and SIMON, J. C. (2005): Hyperforin acts as an angiogenesis inhibitor. *Planta Med.* 71: 999-1004.