

## QUIMIOTAXONOMIA DO GÉNERO *HYPERICUM* L. EM PORTUGAL CONTINENTAL

Teresa Nogueira,<sup>1</sup> Fernanda Duarte,<sup>1</sup> Regina Tavares,<sup>1</sup> M. J. Marcelo Curto,<sup>1</sup> Carlo Bicchi,<sup>2</sup> Patrizia Rubiolo,<sup>2</sup> Jorge Capelo<sup>3</sup> & Mário Lousã<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ineti / Dtiq - Estrada do Paço do Lumiar, 1649-038 Lisboa, Portugal; <sup>2</sup> Udst / Dstf - Via P. Giuria, 9 - 10125 Torino, Italia; <sup>3</sup> Inia / Efn / Dcrn - Tapada da Ajuda, 1350 Lisboa Codex, Portugal; <sup>4</sup> Isa / Dppf - Tapada da Ajuda, 1399 Lisboa Codex, Portugal

Nogueira, T.; Duarte, F.; Tavares, R.; Marcelo Curto, M.J.; Bicchi, C.; Rubiolo, P.; Capelo, J. & Lousã, M. (2000). Quimiotaonomia do género *Hypericum* L. em Portugal continental. *Portugaliae Acta Biol.* 19: 21-30.

Tem vindo a aumentar o interesse terapêutico pela utilização de táxones do género *Hypericum* L. (família *Guttiferae*). É conhecida a actividade farmacológica destas plantas desde a medicina tradicional aos mais recentes testes antidepressivos, sendo ultimamente o *Hypericum perforatum* L. designado por "Prozac natural do século XXI".

Na sequência de trabalhos que se têm vindo a realizar no género *Hypericum* L., apresenta-se um estudo quimiotaonómico comparativo de treze táxones portugueses continentais (populações espontâneas e cultivadas). Este estudo baseou-se em caracteres taxonómicos - morfológicos e de composição química dos óleos essenciais das seguintes espécies: *Hypericum androsaemum* L. ("hipericão-do-Gerês"), *H. pulchrum* L., *H. montanum* L., *H. tomentosum* L., *H. pubescens* Boiss., *H. elodes* L., *H. perfoliatum* L., *H. linarifolium* Vahl., *H. humifusum* L., *H. undulatum* Schousb. ex. Willd ("hipericão-Kneip"), *H. perforatum* L. ("milfurada, erva-de-S.João"), *H. calycinum* L. e *H. hircinum* L. subsp. *majus* (Aiton) N. Robson.

A caracterização química dos óleos essenciais foi feita por cromatografia gás-líquido e cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa. Os resultados foram tratados por métodos estatísticos multivariados (taxonomia numérica).

Verificam-se diferenças significativas nos componentes maioritários dos óleos essenciais de *H. androsaemum* relativamente aos das restantes espécies. Dentro do grupo de

táxones, excepto o *H. androsaemum*, nota-se alguma diversidade de composição dos respectivos óleos essenciais correlacionada com caracteres taxonómicos.

Palavras-chave: *Hypericum* L. sp. pl.; *Guttiferae*; óleos essenciais; análise multivariada.

Nogueira, T.; Duarte, F.; Tavares, R.; Marcelo Curto, M.J.; Bicchi, C.; Rubiolo, P.; Capelo, J. & Lousã, M. (2000). Chemotaxonomy of the *Hypericum* L. genus in continental Portugal. *Portugaliae Acta Biol.* **19**: 21-30.

The interest in therapeutical uses of *taxa* of the *Hypericum* L. genus (*Guttiferae*), has been increasing in recent years. Pharmacological activity of these plants is known from both folk medicine and scientific research. Namely, recent studies report evidence of antidepressant activity in *Hypericum perforatum* L., which gave rise to the expression "21 th century natural Prozac" in the media.

Following previous phytochemical studies in the genus *Hypericum* L., a comparative chemotaxonomical study of thirteen *taxa* from continental Portugal (spontaneous and cultivated populations) is presented. This study relies on taxonomical characters - morphological features and chemical composition of essential oils - of the following species *Hypericum androsaemum* L., *H. pulchrum* L., *H. montanum* L., *H. tomentosum* L., *H. pubescens* Boiss., *H. elodes* L., *H. perforatum* L., *H. linarifolium* Vahl., *H. humifusum* L., *H. undulatum* Schousb. ex. Willd., *H. perforatum* L. ("St. John's wort"), *H. calycinum* L. and *H. hircinum* L. subsp. *majus* (Aiton) N. Robson.

The chemical characterization of essential oils was carried out by gas chromatography (GC) and GC coupled to mass spectrometry. The results were treated by multivariate statistics (numerical taxonomy).

Significant differences in the major components of *H. androsaemum* essential oils, comparing to other *taxa*, were found. The group including all *taxa* but *H. androsaemum* reveals some compositional diversity of essential oils well correlated with morphological taxonomical characters.

Key words: *Hypericum* L. sp. pl.; *Guttiferae*; essential oils; multivariate analysis.

## INTRODUÇÃO

Nota-se recentemente um incremento da utilização terapêutica de *taxa* do género *Hypericum* L. (*Guttiferae*). Desde a medicina tradicional aos mais recentes testes antidepressivos que é conhecida a actividade farmacológica

destas plantas. Nomeadamente nas últimas investigações é referida a importância da actividade antidepressiva do *Hypericum perforatum* L., que deu origem à utilização pelos media da expressão "Prozac natural do século 21" (ZUESS, 1997). BLOOMFIELD *et al.* (1996) resume investigações médicas recentes deste *taxon* que o consideram responsável pela alteração do modo como a depressão pode ser tratada nos USA. Na Alemanha extractos de *Hypericum* são prescritos em mais de 50% dos casos enquanto o Prozac só é utilizado em 2% (BLOOMFIELD *et al.*, 1996).

O *Hypericum perforatum* é o *taxon* mais estudado deste género. A composição do óleo essencial desta espécie foi recentemente relatada (CHIALVA *et al.*, 1982; WEYERSTAHL *et al.*, 1995; ÇAKIR *et al.*, 1997). No entanto outros *taxa* são pouco conhecidos do ponto de vista fitoquímico.

No seguimento de estudos que se têm vindo a efectuar no género *Hypericum* L. (RAPOSO *et al.*, 1993; NOGUEIRA, 1994/1996; NOGUEIRA *et al.*, 1997; NOGUEIRA *et al.*, 1998; SOARES *et al.*, 1999), apresenta-se um estudo quimiotaconómico dos treze *taxa* presentes em Portugal continental (populações espontâneas e cultivadas). Este estudo baseia-se em caracteres taxonómicos – morfológicos e de composição química dos óleos essenciais – das seguintes espécies: *Hypericum androsaemum* L., *H. pulchrum* L., *H. montanum* L., *H. tomentosum* L., *H. pubescens* Boiss., *H. elodes* L., *H. perforatum* L., *H. linariifolium* Vahl., *H. humifusum* L., *H. undulatum* Schousb. ex. Willd., *H. perforatum* L., *H. calycinum* L. e *H. hircinum* L. subsp. *majus* (Aiton) N. Robson.

A caracterização química dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia gás-líquido (CG) e cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). Os resultados foram tratados por métodos de estatística multivariada ("cluster" e análise de correspondências) no sentido de obter uma classificação das amostras de plantas e também uma interpretação das combinações de componentes químicos subjacente à estrutura quimiotaconómica.

A circunscrição taxonómica dos grupos OUT's (unidades taxonómicas operacionais), baseadas nos principais componentes do óleo essencial, coincide com a dos *ideotaxa* (i.e. *taxa* definidos por caracteres morfológicos).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material estudado

A parte aérea de cada espécime foi colhida no estado fenológico de floração / frutificação. Foram estudadas várias populações de *Hypericum* L. spp. em Portugal continental, cujas herborizações se referem de seguida, acrescentando-se ainda, entre parênteses, o código que cada exemplar apresenta nos gráficos de análise multivariada.

*H. androsaemum* L.: Minho, Serra do Gerês, Mata de Albergaria, 08-07-94, T. Nogueira e J. Capelo, LISI (ANDGER); Estremadura, Sintra (cultura), 11-07-96, T. Nogueira, LISI (ANDCSM); Espanha, Asturias, Tuñón, senda del Oso, Santo Adriano (grupo externo), 165m, 28-09-96, T. Nogueira, J. Capelo, C. Neto, LISI (ANDAST); *H.*

*calycinum* L.: Estremadura, Sintra (cultura), 02-07-96, T. Nogueira, J. Capelo, J. Monjardino, LISI (CALCUS e CALCSM); *H. elodes* L.: Baixo Alentejo, Alcácer do Sal, Açude da Murta, 18-06-96, T. Nogueira, J. Capelo, C. Neto, J.C. Costa, LISI (ELOALC e ELOALM); Estremadura, Sesimbra, rib<sup>a</sup> paralela à rib<sup>a</sup> Apostiça, 18-06-96, T. Nogueira, J. Capelo, C. Neto, J.C. Costa, LISI (ELOSES); Beira Litoral, Figueira da Foz, Lagoa da Vela, 18-07-96, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (ELOFIG); *H. hircinum* L. subsp. *majus* (Aiton) N. Robson: Estremadura, Sintra (cultura), 02-07-96, T. Nogueira, J. Capelo, J. Monjardino, LISI (HIRSIN e HIRSIM); *H. humifusum* L.: Estremadura, Sintra, Quinta de S<sup>ta</sup> Clara, 28-05-94, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (HUMSIN); Estremadura, Sintra (cultura), 22-05-96, T. Nogueira, LISI (HUMCM); Trás-os-Montes, Vimioso, estrada p/ Joanico, Caçarelhos, 08-06-96, T. Nogueira, LISI (HUMVIM); *H. linarifolium* Vahl.: Beira Baixa, estrada Vila Velha de Rodão / Niza, 21-05-94, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (LINROD); Trás-os-Montes, Bragança, Vila Franca, 06-06-96, T. Nogueira, J. Capelo, C. Aguiar, C. Neto, J.C. Costa, A. Penas, L. Herrero, E. Alonso, LISI (LINBRA e LINBRM); *H. montanum* L.: Trás-os-Montes, Macedo de Cavaleiros, Salselas, junto à barragem de S<sup>ta</sup> Combinha (cultura), 24-07-94, C. Aguiar, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (MONCM); *H. tomentosum* L.: Estremadura, Sintra, campos próximo da estrada Campo Raso / Base Aérea de Pêro Pinheiro, 18-06-94, T. Nogueira, J. Capelo, P. Barbosa, LISI (TOMSIN e TOMSIM); *H. pubescens* Boiss.: Baixo Alentejo, Serpa, Brinches, próximo de vala (cultura), 03-06-96, T. Nogueira, LISI (PUBCSE e PUBCSM); *H. perfoliatum* L.: Alto Alentejo, entre Alter do Chão e Alter Pedroso, 07-05-94, T. Nogueira, J. Capelo, J. Castro-Antunes, LISI (PELALT e PELALM); Alto Alentejo, Serra d'Ossa, estrada Estremoz / Redondo, 20-06-96, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (PELOSS); *H. perforatum* L.: Beira Baixa, Covilhã, Quinta dos Herdeiros e Quinta da Escalera, 04-06-94, T. Nogueira, LISI (PERCOV); Estremadura, Sintra, entre Casal da Mata e Cerâmica de Vale de Lobos, 11-07-95, T. Nogueira, J. Capelo, J. Gonçalves, F. Gonçalves, LISI (PERSIN); Baixo Alentejo, Alcácer do Sal, a seguir à ponte de Alcácer, 16-05-96, T. Nogueira, J. Capelo, C. Neto, L. Machado, LISI (PERALC); Estremadura, Setúbal, Serra da Arrábida, estrada entre El Carmen e Morro do Jaspe, 30-05-96, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (PERARR); Trás-os-Montes, Macedo de Cavaleiros, Salselas, junto à barragem de S<sup>ta</sup> Combinha, 06-06-96, T. Nogueira, J. Capelo, C. Aguiar, C. Neto, J.C. Costa, A. Penas, L. Herrero, E. Alonso, LISI (PERBRA); amostra comercial (PERFAM); *H. pulchrum* L.: Minho, Serra do Gerês, Mata de Albergaria, 08-07-94, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (PULGER e PULGEM); *H. undulatum* Schousb. ex. Willd.: Algarve, Aljezur, Bordeira, rib<sup>a</sup> junto a Monte Gordo, 26-08-95, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (UNDBOR); Estremadura, Sintra, Mira-Sintra, Quinta de Fitares, 24-09-94, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (UNDSIN); Ribatejo, Coruche, Paúl de Erra, rib<sup>a</sup> afluente da rib<sup>a</sup> de Erra, 28-07-96, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (UNDCOR); Beira Litoral, Figueira da Foz, Paúl de Arzila, 18-07-96, T. Nogueira, J. Capelo, LISI (UNDFIM).

Processo de secagem: 10 dias em estufa com ventilação.

Conservação: a -15°C em embalagens sob vácuo.

#### **Análises químicas**

Hidrodestilação: Clevenger modificado (FARMACOPEIA PORTUGUESA, 1986) - 4 h e microversão de Marcusson modificado (BICCHI *et al.* 1983) - 2 h (M – letra colocada no fim da designação de algumas amostras e que significa extração por microdestilação).

Diluição dos óleos essenciais: 1 : 200 em ciclohexano (V/V).

Análise dos componentes do óleo essencial: CG e CG-EM.

CG: Equipamento - Carlo Erba HR GC 5300, Mega Series; Detector - FID; Colunas - OV 1 e Carbowax 20 M, ambas com 25 m x 0,25 mm d.i. e 0,3 µm de espessura de filme; A temperatura do forno foi programada para 50°C - 1 min., aumentando até 220°C (a 3°C/min.), 220°C durante 20 min; Temperatura do injector - 230°C; Temperatura do detector - 250°C; Relação de divisão - 1/10; Gás de arrastamento - hidrogénio; Fluxo de saída - 1,5 mL/min.

CG-EM: CG - Hewlett Packard 5890, Series II; Coluna - OV 1 (25 m x 0,25 mm d.i.); 0,3 µm de espessura de filme; A temperatura do forno foi programada para 50°C - 1 min., aumentando até 220°C (a 3°C / min.), 220°C durante 20 min; Temperatura do injector - 230°C; Relação de divisão - 1/10; Gás de arrastamento - hélio; Fluxo de saída - 1 mL/min; EM - Hewlett Packard 5988; Detector : EM; Voltagem de ionização - 70 eV; Temperatura da linha de transferência - 280°C. A identificação dos componentes foi assegurada por comparação dos seus índices de retenção de Kovats (IR nas colunas OV1 e Carbowax 20 M) relativamente à mistura de *n*-alcanos puros (C<sub>8</sub> - C<sub>25</sub>) e ainda pelos espectros de massa relativamente a compostos de referência ou a elementos referidos pela bibliografia.

Os componentes dos óleos essenciais das diferentes espécies de *Hypericum* consideradas neste trabalho são os seguintes: 2-Metiloctano (2METOC); Nonano (NONANO);  $\alpha$ -Tuieno (ALFATU);  $\alpha$ -Pineno (ALFAPI); 6-Metil-hept-5-eno-2-ona (6MEHEP);  $\beta$ -Pineno (BETAPI); 2,6-Dimetiloctano (26DIME); Mirceno (MIRCEN); Limoneno (LIMONE); Desconhecido 1 (DESC1\*); Oxido *cis*-linalool (CISOXL); Desconhecido 2 (DESC2\*); Oxido *trans*-linalool (TOXLIN); *Cis*-Ocimeno (ZOCIME); *Trans*- $\beta$ -Ocimeno (TBETO); 2-Metildecano (2METIL); Linalool (LINALO); Nonanal (NONANA); Undecano (UNDECA); Mentona (MENTON); Desconhecido 3 (DESC3\*); Desconhecido 4 (DESC4\*); Desconhecido 5 (DESC5\*); Desconhecido 6 (DESC6\*); Pulegona (PULEGO);  $\alpha$ -Terpineol (ALFATE);  $\delta$ -Elemeno (DELELE);  $\alpha$ -Copaeno (ALFACO);  $\beta$ -Elemeno (BETAEL);  $\beta$ -Bourboneno (BETBOU); Dodecanal (DODECA);  $\beta$ -Cariofileno (BETACA); Desconhecido 7 (DESC7\*);  $\alpha$ -Humuleno (ALFAHU); *Trans*- $\beta$ -Farneseno (TBETFA); Desconhecido 8 (DESC8\*); Germacreno D (GERMD); Desconhecido 9 (DESC9);  $\beta$ -Selineno (BETASE); Biciclogermacreno (BICIGE); Desconhecido 10 (DESC10); Desconhecido 11 (DESC11);  $\gamma$ -Cadineno (GAMCAD);  $\alpha$ -Farneseno (ALFFAR);  $\delta$ -Cadineno (DELTCA); Desconhecido 12 (DESC12); Desconhecido 13 (DESC13); Desconhecido 14 (DESC14); Espatulenol (ESPATU); Nerolidol (NEROLI); Oxido de cariofileno (OXIDOC); Ácido dodecanoico (ACDODE); Desconhecido 15 (15); Desconhecido 16 (DESC16); Desconhecido 17 (DESC17); Desconhecido 18 (DESC18); Desconhecido 19 (DESC19);  $\alpha$ -Cadinol (ALFACA); Desconhecido 20 (DESC20); Desconhecido 21 (DESC21); Desconhecido 22 (DESC22); Desconhecido 23 (DESC23).

#### **Tratamento dos dados**

A percentagem de cada componente do óleo essencial de cada amostra foi agrupada numa matriz com 37 amostras de plantas por 62 componentes para ser tratada por métodos estatísticos de classificação e ordenação multivariada.

Os componentes com percentagens inferiores a 1% não foram incluídos na matriz.

A classificação de amostras e componentes foi feita por análise de “Cluster” – UPGMA (SNEATH & SOKAL, 1973). A medida de similaridade considerada entre amostras foi o coeficiente de Bray-Curtis (BRAY & CURTIS, 1957) e entre componentes do óleo foi a estatística qui-quadrado.

Para a representação simultânea de amostras e componentes obtendo redução de dimensões da estrutura dos dados, realizou-se análise de correspondências na matriz (FISHER, 1940).

## RESULTADOS

O dendrograma de classificação das amostras é apresentado na Fig.1. Ao nível da espécie, os treze *taxa* parecem bem circunscritos em grupos distintos que confirmam perfeitamente a classificação ideotaxonomica (i.e. baseada essencialmente em caracteres morfológicos e anatómicos). Nota-se uma exceção para uma amostra de *H. humifusum* que sai fora do respectivo grupo.

A classificação dos componentes do óleo revela combinações de caracteres químicos correlacionados que definem estes *quimiotaxa*.

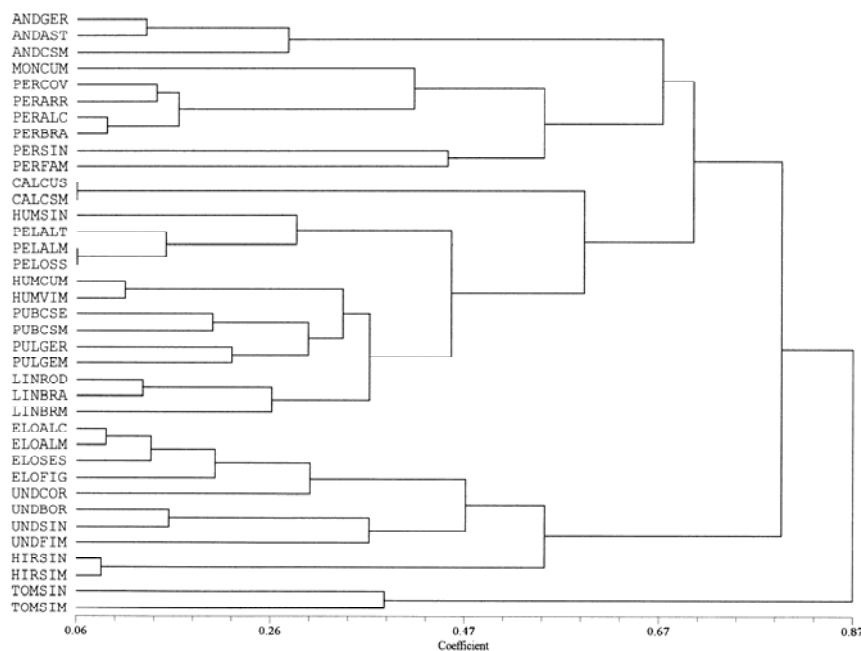


Fig. 1. UPGMA “clustering” das 37 amostras de *Hypericum*. Componentes do óleo essencial



- iv) *H. hircinum*: componentes desconhecidos 8 e 9
- v) *H. elodes*:  $\beta$ -bourboneno, *trans*-ocimeno, componente desconhecido 4
- vi) *H. undulatum*: nonano, 2,6-dimetil-octano, componente desconhecido 6
- vii) *H. tomentosum*: óxido *trans*-linalool, óxido *cis*-linalool, 6-metil-hepteno, mentona, componentes desconhecidos 2 e 3
- viii) *H. perfoliatum*:  $\alpha$ -tuieno, espatulenol
- ix) *H. linarifolium*: provavelmente componente desconhecido 20 e nonanal
- x) *H. pulchrum*: limoneno,  $\delta$ -elemeno, componente desconhecido 16
- xi) *H. calycinum*:  $\beta$ -pineno, dodecanal
- xii) *H. humifusum*: ácido dodecanoico, componentes desconhecidos 1 e 22, dodecanal
- xiii) *H. pubescens*: provavelmente  $\delta$ -elemeno.

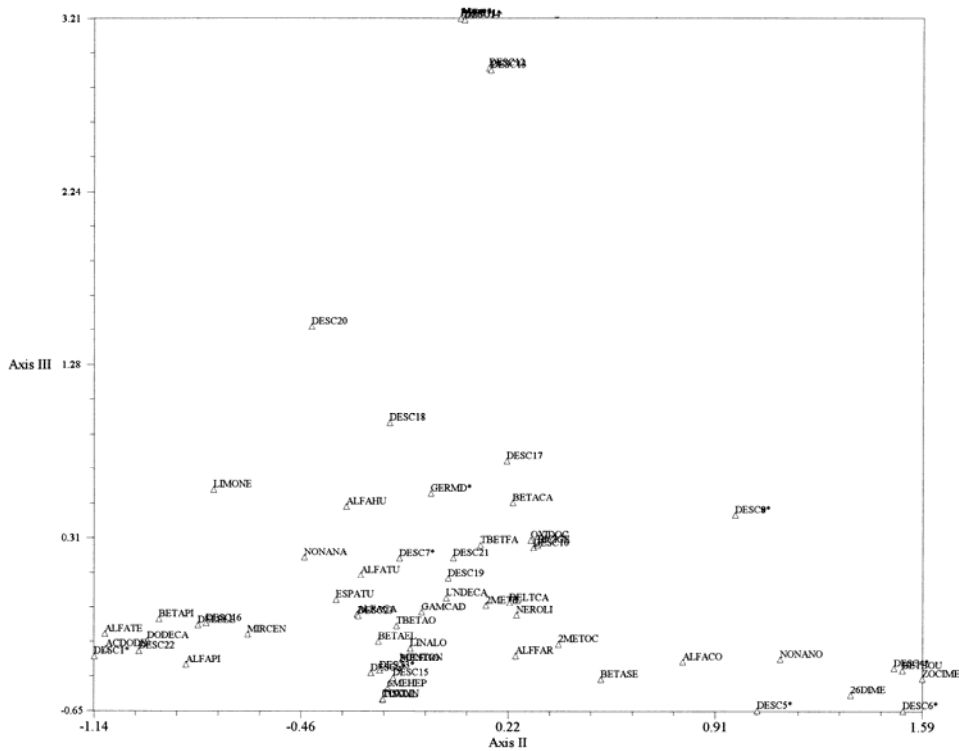


Fig. 3. Ordenação dos 62 componentes do óleo essencial por Análise de correspondências



## CONCLUSÕES

- A circunscrição dos treze *taxa* foi obtida pela classificação dos componentes do óleo essencial, sendo a confirmação taxonómica dos *taxa* conseguida através deste grupo de compostos.
- Verificou-se alguma variação intra-específica quantitativa, nomeadamente ao longo dos estados fenológicos e seguindo características ambientais ou biogeográficas. Contudo, diferenças inter-específicas são sempre maiores que aquelas, agrupando amostras dos mesmos *taxa*.
- Os compostos dominantes parecem não ser os de maior poder discriminante para separar os *taxa*. Esta forte influência é evidente no primeiro eixo da CA, apesar de uma boa separação dos *taxa* ser obtida ao longo do segundo e terceiro eixos. O que sugere que são os compostos não dominantes os responsáveis pelo maior poder discriminante entre grupos de OTU's, uma vez que grande parte deles parecem ser exclusivos de alguns *taxa*.
- Apesar de ao nível da espécie os resultados serem interessantes, a classificação anterior a este nível taxonómico não deve ser considerada absoluta pois só uma pequena parte dos *taxa* deste género (ca. 380 espécies) foi estudada e assim a classificação reflete as relações entre estas treze espécies presentes no continente português.
- Os estudos quimiotaconómicos podem contribuir para o conhecimento fitoquímico que serve de base ao controlo de qualidade essencial nos produtos naturais com *Hypericum*.
- Observa-se uma grande diversidade de composição fitoquímica no género *Hypericum*, sendo uma importante quantidade de compostos exclusivos de alguns *taxa*. Estão em curso estudos no sentido de estabelecer a importância potencial deste grupo de plantas como fonte de compostos com relevante utilização farmacológica.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação para a Ciência e Tecnologia – Programa Ciência / Praxis XXI, pela bolsa de investigação de Teresa Nogueira.

## REFERÊNCIAS

- BICCHI, C.; D'AMATO, A.; NANO, G.M. & FRATTINI, C. (1983) - Improved method for the analysis of small amounts of essential oils by microdistillation followed by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography*, **279**, 409-416.
- BLOOMFIELD, H.H; NORDFORS, M. & MCWILLIAMS, P. (1996) - *Hypericum and Depression*. Prelude Press, Los Angeles; 203 pp.
- BRAY, R.J. & CURTIS, J.T. (1957) - An ordination of the upland forest communities of southern wisconsin. *Ecological Monographs*, **27**: 325-49.
- ÇAKIR, A.; DURU, M.E.; HARMANDAR, M.; CIRIMINNA, R.; PASSANNANTI, S. & PIOZZI, F. (1997) - Comparison of the Volatile Oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. **12**, 285-287.

- CHIALVA, F.; GABRI, G; LIDDLE, P.A.P. & ULIAN, F. (1982) - Qualitative Evaluation of Aromatic Herbs by Direct Headspace GC Analysis. Applications of the Method and Comparison with the Traditional Analysis of Essential Oils. *Journal of HRC & CC*, Vol.5: 182-188; Dr. Alfred Huethig Publishers.
- FARMACOPEIA PORTUGUESA (1986), V, Edição Oficial, Imprensa Nacional, Casa da Moeda, Parte I, V.4.5.8, Lisboa.
- FISHER, R.A. (1940) - The precision of discriminant functions. *Annals of Eugenics* **10**: 422-429.
- NOGUEIRA, T. (1994/1996) – Corologia do género *Hypericum* L. em Portugal continental. *Anais do Instituto Superior de Agronomia*, **49**(2): 815-824, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.
- NOGUEIRA, T.; DUARTE, F.; TAVARES, R.; MARCELO-CURTO, M.J. & FREITAS, A.C. (1997) - Aroma comparative study of the *Hypericum* L. species from Portugal by electronic detection. *Rivista Italiana EPPOS*, numero speciale Agosto: 303-310.
- NOGUEIRA, T.; DUARTE, F.; VENÂNCIO, F.; TAVARES, R.; LOUSÃ, M.; BICCHI, C. & RUBIOLO, P. (1998) - Aspectos quimiotaxonómicos do género *Hypericum* L. em Portugal. *Silva Lusitana* **6**(1): 55-61, EFN, Lisboa, Portugal.
- RAPOSO, E.; NOGUEIRA, T. & VENÂNCIO, F. (1993) – *Hypericum humifusum* L. essential oil from Portugal. Comparative chemical composition study with *Hypericum perforatum* L. *Proceedings 24 th International Symposium on essential oils*, **36**, Berlin, 21-24 Julho.
- SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R. (1973) - *Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classification*. W.H. Freeman and Company; San Francisco, 573 pp.
- SOARES, M.; MARTINS, J.; FARINHA, A.; NOGUEIRA, T.; TAVARES, R. & DUARTE, F. (1999) – HPLC analysis of *Hypericum* L. species from Portugal. *Phytochemical analysis*, em publicação.
- WEYERSTAHL, P.; SPLITTGERBER, U.; MARSCHALL, H. & KAUL, V. (1995) - Constituents of the Leaf Essential Oil of *Hypericum perforatum* L. from India. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol.**10**: 365-370.
- ZUESS, J. (1997) - *The natural Prozac program : how to use St. John's wort, the antidepressant herb*. Three Rivers Press, New York; 159 pp.