

Hypericum perforatum L.

“Rešerše antimikrobiálních vlastností”

“Review of Antimicrobial properties”

1. vydání, Praha 2024. Vydalo EkoRTN s.r.o. jako svou první publikaci v rámci edice RTN.

Published in Prague in 2024, EkoRTN s.r.o. released this as its first publication as part of the RTN series.

OBSAH

1. Abstrakt	4
Použité zkratky.....	4
2. Úvod	5
Popis a historie	5
Typy biologické aktivity.....	5
3. Biologicky aktivní látky	6
Naftodiantrony	6
Hypericin.....	6
Floroglucinoly	7
Hyperforin.....	7
Flavonoidy	8
Flavonoly a flavan-3-oly	8
Biflavonoidy	8
Fenolové kyseliny.....	9
4. Antibakteriální vlastnosti	10
5. Anti-virální vlastnosti	13
6. Antifungální vlastnosti	14
7. Hojivé vlastnosti	14
8. Fotodynamická terapie	16
Antimikrobiální PDT	16
HypPDT pro léčbu rakoviny	17
9. Diskuze/Závěr	19
Poděkování	19
10. Reference.....	20

EkoRTN

The RTN original tissue preparations

Nakladatel: EkoRTN, Vydavatel / Tiskne: EkoRTN s.r.o. Ocelářská 13, 190 00 Praha 9

Vydání této publikace podpořila RTN Therapeutics s.r.o. Řetouň 66, 400 03 Malečov

Toto autorské dílo může být kýmkoliv volně šířeno a překládáno v písemné či elektronické formě, na území kteréhokoliv státu, a to za předpokladu, že nedojde ke změně díla a že zůstane zachováno označení autora díla a prvního vydavatele díla, EkoRTN s.r.o.

Publisher: EkoRTN, Publisher / Printer: EkoRTN s.r.o. Ocelářská 13, 190 00 Prague 9

This publication was supported by RTN Therapeutics s.r.o. Řetouň 66, 400 03 Malečov.

This copyrighted work may be freely distributed and translated in written or electronic form, in any country, provided that the work is not altered and the authorship and initial publication by EkoRTN s.r.o. is preserved.

ISBN (Apple) 978-80-908633-3-0

ISBN (PDF) 978-80-908633-1-6

ISBN (Kindle) 978-80-908633-2-3

ISBN (Tisk/Print) 978-80-908633-0-9

1. ABSTRAKT

Tato rešerše byla vytvořena s cílem poskytnout přehled současného výzkumu antimikrobiálních vlastností *Hypericum perforatum* L., který jsme shromáždili v EkoRTN při práci na přípravku Floristen. Původní léčivý přípravek Floristen byl jedním z výsledků práce týmu RTN pod vedením RNDr. PhMr. Bohumíra Rakušana ve farmaceutické továrně Eko. Tým RTN se zaměřoval na rostlinné a živočišné extrakty a jejich využití při léčbě chronických degenerativních chorob a Floristen, který vyráběl v bývalém Československu od 60. let národní podnik SPOFA, se užíval zejména u chronických gynekologických zánětů.

Výsledky analytického hodnocení preparátu nebyly vždy konzistentní a díky pokroku v analytické chemii lze dojít k závěru, že tyto nekonzistence byly s největší pravděpodobností způsobeny nestabilitou hlavních bioaktivních složek. Kromě toho tento přehled shrnuje historii Třezalky tečkované, bioaktivní složky a budoucí cíle výzkumu. Rádi bychom jím podpořili další zájem o tuto léčivou bylinu.

Hypericum perforatum L. je hojně používaná bylina v lidové a botanické medicíně. V posledních několika desetiletích si získala velkou pozornost veřejnosti pro své antidepresivní, antimikrobiální, protizánětlivé, antioxidační a hojivé vlastnosti. Díky fyzikálním vlastnostem jejích sekundárních metabolitů je možné ji kombinovat s moderními léčebnými metodami, jako je například fotodynamická terapie. Extrakty z této byliny je také možné inkorporovat do polyurethanových materiálů či hojivých obvazů, kde najdou uplatnění její hojivé a antimikrobiální vlastnosti. Vznikly tak nové typy obvazů například na rány pro diabetiky. Tento dokument uvádí také některé z nejnovějších objevů, jako je inhibice hlavní proteázy COVID-19 hypericinem, silná aktivita proti několika multirezistentním kmenům bakterií nebo eradikace orálních biofilmů ve stomatologii.

Je třeba provést další výzkum k implementaci těchto zjištění do každodenní klinické praxe. Důkazy naznačují nebo dokonce jasně uvádějí potenciál *Hypericum perforatum* v léčbě lehčích zdravotních problémů, středně těžkých depresí, stejně jako závažných infekcí nebo některých typů rakoviny.

POUŽITÉ ZKRATKY

HP (*Hypericum perforatum* L.)

PDT (Photodynamic Therapy / Fotodynamická terapie)

aPDT (Antimicrobial photodynamic therapy/ Antimikrobiální fotodynamická terapie)

HypPDT (Hypericin Photodynamic Therapy/ Hypericinová fotodynamická terapie)

SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors/ Inhibitory zpětného vychytávání serotoninu)

MIC (Minimum Inhibitory Concentration/ Minimální inhibiční koncentrace)

MFC (Minimum Fungicidal Concentration/ Minimální fungicidní koncentrace)

MBIC (Minimum Biofilm Inhibitory Concentration/ Minimální inhibiční dávka pro biofilmy)

HYP (Hypericin)

2. ÚVOD

POPIS A HISTORIE

Hypericum perforatum L., také známá jako Třezalka tečkovaná, je s největší pravděpodobností nejvíce studovanou bylinou všech dob. Je to keřovitá vytrvalá rostlina z čeledi Hypericaceae, s mnoha žlutými květy. Obvykle roste na suchých a štěrkových půdách, polích a slunných místech. Rod *Hypericum* se nachází v mnoha částí světa, jako je Evropa, Asie nebo Spojené státy. (Bongiorno, 2020a)

Obsahuje mnoho bioaktivních sloučenin, včetně naftodiantronů (hypericin, pseudo hypericin), floriglucinolů (hyperforin, adhyperforin), flavonoidů (kvercetin, rutin, kempferol, xanthon) a několik dalších méně koncentrovaných sloučenin.

Třezalka se v lidovém léčitelství používá již od starověkého Řecka, kde ji Dioscorides, Plinius nebo Hippokrates používali k léčbě mnoha nemocí. Její latinský název je odvozen z řečtiny a znamená „nad zjevením“, což odkazuje na víru, že bylina byla tak nepříjemná pro zlé duchy, že by je odehnal jen její závan (Bongiorno, 2020b; Grieve, 1931; Xiao et al., 2018) , což je pravděpodobně odkaz na její významné antidepresivní vlastnosti.

V minulém století se v České republice používal specifický extrakt z HP Floristen k dlouhodobému hojení zánětů, zejména u žen. O tomto extraktu se tvrdilo, že má hojivý účinek na děložní infekce. (Lédr et al., 1959; Rakušan et al., 1954)

V současné době výrazně stoupá zájem o tuto bylinu a vědu o botanické medicíně obecně. Například v Německu mohou být rostlinné produkty prodávány jako léky a dokonce hrazeny pojišťovnou, pokud je předepíše lékař. (Bongiorno, 2020b)

TYPY BIOLOGICKÉ AKTIVITY

Třezalka tečkovaná má široké spektrum biologické aktivity. Prvně stojí za zmínku její antioxidační aktivita, která byla potvrzena *in vitro*. (Hunt et al., 2001) Antioxidační účinek je závislý na dávce, přičemž koncentrace mezi 1-50 ug/ml mají schopnost inhibovat peroxidaci lipidů v mitochondriích mozkové kůry potkana a 1-100 ug/ml zvyšují míru přežití buněk feochromocytomu při vystavení reaktivním formám kyslíku (ROS). (Benedí et al., 2004) Tuto vysokou antioxidační aktivitu mají na svědomí flavonoidy, které tvoří 10 % celkového objemu extraktu. (Sagratiini et al., 2008)

Při použití HP extraktů je přítomna také významná protizánětlivá aktivita. Tato konkrétní aktivita byla zkoumána na modelu myšního ucha s lipofilním extraktem HP obsahujícím 27 % hyperforinu a 5 % adhyperforinu a další izolované sloučeniny. Lipofilní extrakt byl oproti ostatním extraktům nejúspěšnější ve snížení otoku a zánětu; proto je hyperforin považován za základní protizánětlivou složku HP. (Sosa a kol., 2007)

Pokud jde o hojivé vlastnosti této byliny, tak použití olejového extraktu HP v kombinaci s etanolovým extraktem může zkrátit dobu uzavření rány až o 50% ve srovnání s kontrolní skupinou. (Çobanoğlu a Şendir, 2020; Lavagna a kol., 2001; Süntar a kol., 2010)

Značná antimikrobiální aktivita je známa proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím, virům a houbám. Antibakteriální látky byly identifikovány jako hypericin a hyperforin. (Cecchini et al., 2007) V

případě bakterií má prokázanou aktivitu proti *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* a dalším. (viz kapitola 4)

Přesto je třezalka tečkovaná nejvíce známá pro své antidepresivní vlastnosti a k tomuto účelu se používá již od starověkého Řecka. (Bongiorno, 2020b) Tvrdilo se, že použití ethanolového extraktu HP Floristen zlepšuje kognitivní funkce u pacientů, kteří trpěli demencí v důsledku arteriosklerotického incidentu. (Pavlovský et al., 1979)

Její antidepresivní aktivita je dokonce tak význačná, že je srovnatelná s nejčastěji používaným SSRI antidepresivem sertralinem v léčbě mírné až středně těžké deprese. V léčbě však působí daleko méně vedlejších účinků než sertraline. (Brenner et al., 2000) Jelikož vedlejší účinky jsou nejčastějším důvodem pro vysazení léčby u pacientů léčených pro depresi, HP extrakt je slibnou alternativní léčbou. (Ng a kol., 2017)

3. BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY

Ačkoli pozdější studie ukázaly, že jeho účinek není klinicky nejvýznamnější (viz níže), hypericin se běžně používá ke standardizaci extraktů HP. Celkové množství hypericinů tvoří obvykle asi 0,3 % hydroalkoholových extraktů.

Hyperforin se v poslední době stává středem pozornosti, i když byl zprvu opomíjen pro svou nestabilitu při vystavení UV záření. (Erdelmeier, 1998). Bylo prokázáno, že asi 1-5% hyperforinu může být zachováno v HP extraktech. Extrakt z HP musí být vhodně skladován a pak může vydržet po dlouhou dobu. (Chatterjee et al., 1998a, 1998b) Je zásadní, aby byly vzaty v úvahu podmínky sušení a skladování HP extraktů. V závislosti na těchto podmínkách se může obsah hyperforinu v komerčních přípravných extraktech HP lišit. (Erdelmeier, 1998). Tuto skutečnost je třeba vzít v úvahu při hodnocení klinických a preklinických studií, které používají různé vstupní materiály. Hlavním problémem je, že skutečná koncentrace v použitých extraktech, olejích nebo mastech HP může být zcela odlišná, což by mohlo mít efekt na výsledky těchto studií. (Guilhermano et al., 2003) Například při použití Floristenu se výsledky v průběhu výzkumu výrazně lišily, (Lédr et al., 1959; Pavlovský et al., 1979; Rakušan et al., 1954) což chybějící znalosti o jeho nestabilitě mohly způsobit.

NAFTODIANTRONY

HYPERICIN

Hypericin (4, 5, 7, 4', 5', 7'-hexahydroxy-2', 2'-dimethyl-mes-o-naftodiantron - Obr. 1) je přírodní, rigidní, vícekruhová aromatická chinonová sloučenina vyskytující se u různých divokých nebo pěstovaných druhů rodu *Hypericum* (Knox a Dodge, 1985), hmyzu a prvoků.

Tmavě červené skvrny hypericinu se nacházejí ve specializované drobné žláze, rozmístěné po vzdušných částech rostliny. Obsah hypericinu je proměnlivý a závisí na části rostliny, jejím ontogenetickém stádiu a ročním období. (Čellarová a kol., 1994)

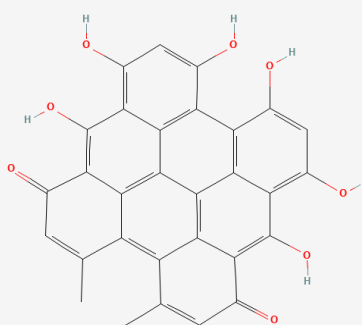
Hypericin lze také nalézt v kůži australského hmyzu *Lac* z čeledi *Coccoidea* a modrozeleného nálevníka zvaného *Stentor coerulus*, což je druh prvoka. (Banks a kol., 1976)

Buchnerova skupina poprvé izolovala hypericin v roce 1830 (Buchner A., n. d.) a jeho struktura byla určena asi o století později, v roce 1953 Brockmannem a Sannem. (Brockmann HH a Sanne W., 1953)

Hypericin je velmi lipofilní povahy, má molekulovou hmotnost 504 g/mol. Je rozpustný v nepolárních organických rozpouštědlech, vodných roztocích a oleji. Absorpční pásy hypericinu UV jsou na 591 a 510 nm. (Huang a kol., 2014)

Existují různé metody pro analýzu hypericinu, včetně ultrafialové spektroskopie (UV-VIS), chemiluminiscenční průtokové injekční analýzy (CL-FIA), tenkovrstevné chromatografie (TLC) a vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC), což je nejpoužívanější metoda pro analýzu hypericinu. (Zhang a kol., 2022)

Nejběžnější metodou extrakce je extrakce rozpouštědlem, za použití methanolu, ethanolu a polárních alkoholů. Enzymatická extrakce může být použita pro vyšší výtěžek a extrakce za pomoci mikrovlnné trouby pro kratší dobu extrakce. (Zhang a kol., 2022)



Obr. 1 struktura Hypericinu

FLOROGLUCINOLY

HYPERFORIN

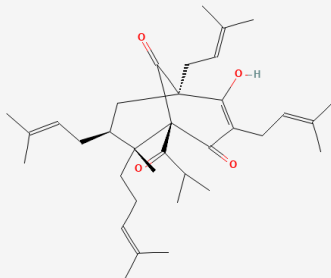
Hyperforin je bicyklický polyprenylovaný derivát acylfloroglucinolu (Obr. 2), který vykazuje antidepresivní aktivitu, antibiotickou aktivitu proti gram pozitivním bakteriím a protinádorovou aktivitu in vivo. Hromadí se především v pestících a plodech, což má pravděpodobně obrannou funkci. (Beerhues, 2006)

V roce 1971 ruská vědecká skupina navrhla, že by v HP mělo být obsaženo antibiotikum, a pojmenovali jej hyperforin. (Gurevich et al., 1971) Hyperforin byl poprvé izolován a strukturálně popsán v roce 1975 Bystrovem a jeho spolupracovníky. (Bystrov et al., 1975)

Při vystavení světlu nebo kyslíku je málo stabilní; proto byl dlouho opomíjen jako farmaceuticky relevantní složka třezalky tečkované. (Chatterjee et al., 1998b) Většina komerčně připravených extraktů z *Hypericum perforatum* obsahuje asi 1-5 % hyperforinu. (F. Lang a kol., 2002)

Hypericum perforatum byla považována za jediný druh v rodu *Hypericum*, který obsahuje hyperforin jako kvantitativně významnou složku. (Smelcerovic a Spiteller, 2006; Umek et al., 1999) Šmelcerovic a Spiteller však našli více druhů (*H. barbatum*, *H. richer*, *H. rumeliacum*, *H. maculatum*, *H. tetrapterum*, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. olympicum*) obsahující hyperforin, i když v nižších koncentracích. Nejvyšší koncentrace hyperforinu u *H. perforatum* byla zaznamenána v květech a plodech. Obsah

hyperforinu se mění v závislosti na ontogenezi rostliny; například u mladých pupenů je to 2,5 %, ale u nezralých plodů je to 8,5 %. (Tekel'ová et al., 2000)



Obr. 2 struktura Hyperforinu

FLAVONOIDY

Flavonoidy (obr. 3) jsou skupinou sekundárních rostlinných metabolitů s chemickou strukturou fenylobenzopyranu. (Grotewold, 2006) Obecná chemická struktura obsahuje C15 spojenou kostru nebo chromanový kruh, který zase nese aromatický kruh na C-2, C-3 nebo C-4. Heterocyklický benzopyranový kruh je znám jako „C“ kruh, kondenzovaný aromatický kruh jako „A“ kruh a fenylová složka jako „B“ kruh. (Hemingway, 1998)

FLAVONOLY A FLAVAN-3-OLY

Hypericum perforatum je velmi bohatá na flavonoly, o kterých se předpokládá, že hrají důležitou roli jako koefektory pro zlepšení farmaceutické funkce hypericinu. (Jürgenliemk a Nahrstedt, 2002) Přítomné flavonoly jsou glykosidy nebo kvercetin. (Tatsis et al., 2007) Specifickými sloučeninami jsou kvercetin-3-O-rutinosid (rutin), myricitrin, kvercetin-3-O-galaktosid (hyperosid), kvercetin-3-O-glukosid (isokvercitrin) a kvercetrin. (obr. 3)

Bylo zjištěno, že myricitrin, kvercetin, kempferol a apigenin mají inhibiční účinek na aktivitu EROD v buňkách rakoviny prostaty. (Chaudhary a Willett, 2006)

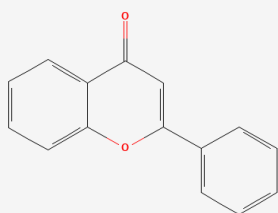
Široce studované flavan-3-oly nalezené v HP jsou katechiny, o kterých bylo hlášeno, že mají antioxidantní, antikarcinogenní, kardiopreventivní, antimikrobiální, antivirové a neuroprotektivní účinky. (Aron a Kennedy, 2008)

BIFLAVONOIDY

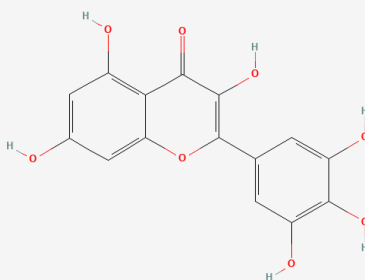
Biflavonoidy jsou v rostlinách velmi běžné, protože mají ochrannou aktivitu proti UV záření, predátorům, hmyzu a houbám. (Gontijo 2017) Dva biflavonoidy detekované u HP jsou biapigenin a amentoflavon (Chaudhary a Willett, 2006). Množství biapigeninu je asi desetkrát vyšší než u amentoflavonu. (Napoli et al., 2018) Amentoflavon však vykazoval významný antidepresivní účinek. (Yu a kol., 2017)

FENOLOVÉ KYSELINY

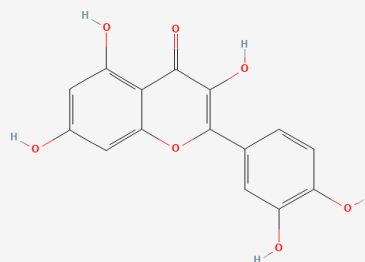
Hypericum perforatum obsahuje nejvyšší množství fenolových kyselin mezi druhy *Hypericum*. (Hazler Pilepic et al., 2013) Nejvíce zjištěnými skořicovými kyselinami v analytických studiích byly kyselina 3-O-kafeoylchinová, kyselina p-kumaroilchinová, kyselina 5-O-kafeoylchinová (kyselina chlorogenová) a kyselina p-kumarová. (Napoli et al., 2018)



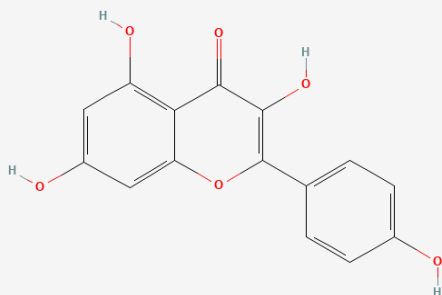
Flavone



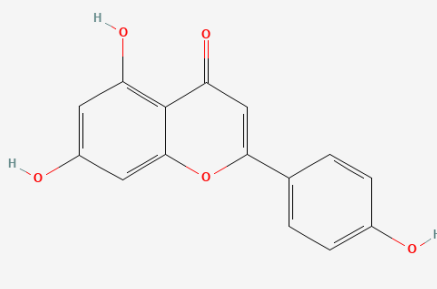
Myricetin



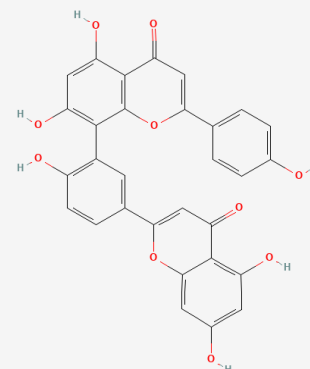
Quercetin



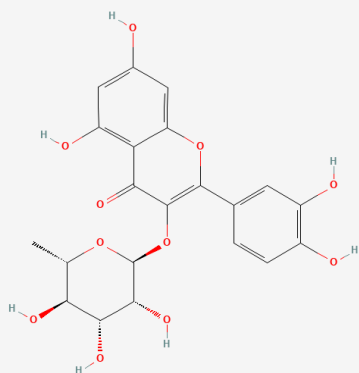
Kaempferol



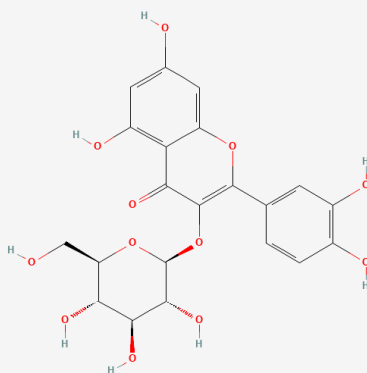
Apigenin



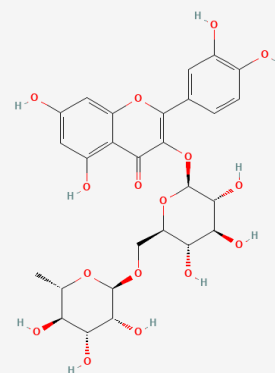
Amentoflavone



Quercitrin



Isoquercitrin



Rutin

Obr. 3 - Chemické struktury flavonoidů zjištěných v HP

4. ANTIBAKTERIÁLNÍ VLASTNOSTI

Je již dlouho známo, že za antibakteriální vlastnosti HP je odpovědný především hyperforin (Gurevich et al., 1971). Existují také jednotlivé zprávy o účinné léčbě bakteriálních kožních infekcí mastmi obsahujícími hypericin přímo související se současným účinkem slunečního záření. To podporuje současné použití hypericinu v antimikrobiální fotodynamické terapii (aPDT), kde vykazuje silné antibakteriální vlastnosti. (Plenagl et al., 2019) Neuwald a Hagenstrom zkoumali Třezalku tečkovanou a zjistili, že petroletherové a acetonové extrakty z kvetoucích bylin a suchých plodů působí proti *Staphylococcus aureus*. Neznali přesné antibakteriální činidlo, ale už věděli, že nesouvisí s esenciálními oleji, opalovacími látkami nebo hypericinem. (Neuwald F. a Hagenström U., 1954) Gained a Ganjoo později potvrdili tyto výsledky. (Gained KN a Ganjoo TN, 1959)

Acetonový extrakt z HP, který se nazývá Novoimanin má dlouhou historii léčby bakteriálních infekcí v Rusku. Ruští vědci také určili hyperforin jako antibakteriální složku. Zjistili však také, že hyperforin je účinný proti bakteriím G+, ale méně účinný proti bakteriím G-. (Derbentseva N.A. a Robinovich A.S., 1968)

V roce 1999 Schempp poprvé uvedl účinnost hyperforinu proti meticilin a penicilin-rezistentním kmenům *Staphylococcus aureus* s hodnotou MIC 1,0 ug/ml. (Schempp et al., 1999). Takovou aktivitu potvrdili v roce 2013 Schiavone et al., kde testovali sůl hyperforinu a její hydrogenovaný derivát proti mnoha kmenům MRSA spolu s antibiotikem Norfloxacin. Hodnoty MIC (Minimum Inhibitory Concentration) naměřené v suspenzi se pohybovaly od 0,5 ug/ml – 4 ug/ml, kde hydrogenace hyperforinu způsobila pouze mírné zvýšení této hodnoty. Dále měřili MBIC (Minimum Biofilm Inhibitory Concentration), která ukázala, že hydrogenovaná sloučenina je účinnější proti planktonickým a biofilmovým kulturám. Tato skutečnost je překvapivá vzhledem k rozdílné chemické struktuře a reaktivitě těchto dvou sloučenin. Tento výsledek může být způsoben skutečností, že hydrogenovaný hyperforin byl stabilnější v okysličených podmínkách. (Schiavone et al., 2013) V lékařském, potravinářském a textilním průmyslu je hromadění mikrobů v použitých materiálech běžným problémem a může vést k vážným onemocněním, infekcím a dalším nekontrolovatelným problémům. Mnoho materiálů používaných v uvedených průmyslových odvětvích má povrchy citlivé na mikroorganismy a dochází tak k jejich kolonizaci a tvorbě biofilmů. (Nazli et al., 2019) Bakterie v biofilmu využívají různé mechanismy a v důsledku toho mohou být 10 až 1000krát odolnější než jejich planktonické protějšky. (Olson et al., 2011) Tato skutečnost spolu se sníženým pronikáním antibiotik do biofilmů (Stewart, 2002) volá po alternativních úpravách náchylných materiálů.

Bacterial strain	1			2		
	MIC ug/ml	MBIC ug/ml	%	MIC ug/ml	MBIC ug/ml	%
S. aureus ATCC 29213	1	25	45	4	150	52
S. aureus ATCC 43300	1	25	21	4	37.5	47
E. faecalis ATCC 29212	1	25	34	4	37.5	45
S. aureus Ig5	1	25	33	4	37.5	52
E. coli ATCC 25922	R			R		

Obr. 6 - Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) Results of hyperforin salt (1) and hydrogenated hyperforin salt (2) against Bacterial Strains tested in biofilms (Schiavone et al., 2013)

Antibiotic	Organism	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Amoxicillin	0.125	32
Ceftiofur	2	0.125
Kanamycin	8	2
Colistin Sulfate	1	
Doxycycline	32	32
A-Tartrate	2	128
Florfenicol	64	2
Sulfadimidine	8	16
Enrofloxacin	0.5	16
Rifampicin	8	4
Berberine	128	512
Lincomycin	1	512

Obr. 4. MIC values of different antibiotics against *S. aureus* and *E. coli*

Bacteria	1	2	Nor
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1	4	2
<i>S. aureus</i> ATC 25923	1	4	2
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	1	4	4
<i>S. aureus</i> EMRSA-15	2		0.5
<i>S. aureus</i> SA1199B	2	4	32
<i>S. aureus</i> XU212	0.5	1	4
<i>S. aureus</i> RN 4220		1	1
<i>S. aureus</i> Ig5	1	4	2
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1	4	4
<i>E.coli</i> ATCC 25922	R	R	0.12

Obr. 5. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Results of hyperforin salt (1), hydrogenated hyperforin salt (2), and Norfloxacin (Nor) against Bacterial Strains tested in Suspension (Schivavone et al., 2013)

Antimikrobiální materiály hrají zásadní roli v boji proti tomuto problému, který způsobuje nemoci, každoročně vedoucím k mnoha úmrtím. Tato studie se zaměřila na začlenění extraktu *Hypericum perforatum* do polyuretanového materiálu. Antimikrobiální aktivita samotného extraktu byla potvrzena proti *Candida albicans*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, který byl inhibován nejvíce. Kombinace HPE a polyuretanového materiálu vedla k 92,85% snížení tvorby biofilmu *S. aureus* a tento výsledek byl odhalen pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (SEM). (Nazlı et al., 2019)

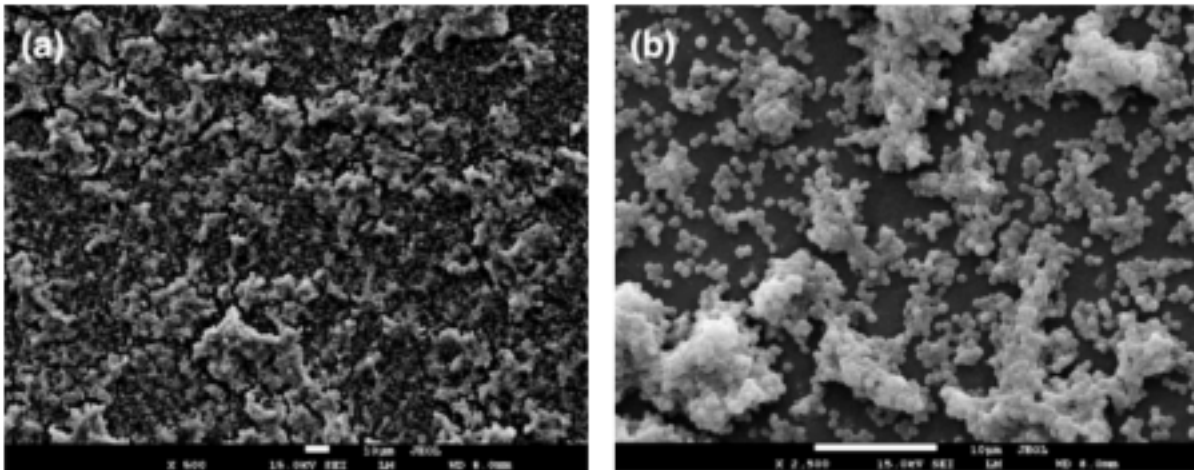
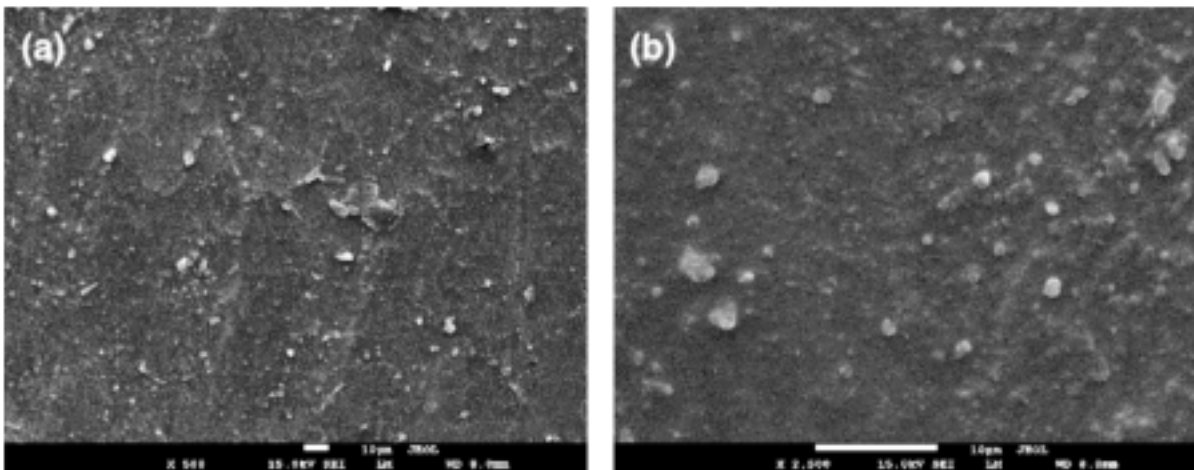


Fig. 4. SEM images of control group discs. Magnifications are: (a) $\times 500$, (b) $\times 2500$.



Obr. 7. SEM images of polyurethane discs incorporated with HP extract. Magnifications are: a) $\times 500$, b) $\times 2500$ (Nazlı et al., 2019)

V Turecku se přípravek z HP používá k léčbě žaludečních onemocnění, včetně bolestí žaludku a peptických vředů. Vzhledem k tomu, že úloha *Helicobacter pylori* v patogenezi peptických vředů je dobře známá, byla účinnost butanolového extraktu HP testována proti devíti kmenům této bakterie. Vykázaná hodnota MIC byla mezi 15,6 – 31,2 $\mu\text{g/ml}$; pro srovnání standardní antibiotikum ofloxacin má hodnoty MIC mezi 0,49-0,98 $\mu\text{g/ml}$. (Yeşilada a kol., 1999)

5. ANTI-VIRÁLNÍ VLASTNOSTI

Mnoho studií ukazuje, že rostlina *Hypericum perforatum* L. a její složky hypericin a pseudohypericin mají antivirovou aktivitu (Andersen a kol., 1991; Serkedjieva a kol., 1990; Takahashi a kol., 1989; Tang a kol., 1990) a také značný účinek proti CMV a HIV (Aryanpour a kol., 2021; Axarlis a kol., 1998; Degar a kol., 1992; Lavie a kol., 1990; Meruelo a kol., 1988; Sandstrom E., 1989)

Antivirové působení hypericinu a pseudohypericinu bylo studováno na lipidem obalených a neobalených DNA a RNA virech (Aryanpour et al., 2021; Lavie et al., 1990). Antivirový účinek je zvýšen za přítomnosti ultrafialového světla (Hudson et al., 1991).

Nový lidský koronavirus, který se poprvé objevil v prosinci 2019 v čínském Wu-chanu, se v posledních dvou letech rychle rozšířil po celém světě. Neexistuje však žádná známá specifická účinná léčba COVID-19. Nejčastěji používanými látkami pro toto onemocnění jsou chlorochin, hydroxychlorochin, lopinavir/ritonavir, favipiravir a remdesivir. Proto se v dnešní době široce hledají nové způsoby léčby covidu. Tato studie se zaměřila na nalezení nejstabilnější tvorby komplexu s hlavní proteázou COVID-19 ve všech metabolitech HP. Pomocí metody molekulárního dokování byly identifikovány hypericin a isohypericin jako látky tvořící nejstabilnější komplex.

Podle výsledků dalšího šetření se ukázalo, že *H. perforatum* má potenciál být účinným lékem proti COVID-19. (Yalçın et al., 2021) Další studie ukázala, že hypericin může inhibovat hlavní proteázu SARS-Cov-2, kritický antivirový cíl. (Pitsillou a kol., 2020)

Je nutné provést klinické studie spolehlivosti, a pokud bude existovat korelace s výše uvedenými výsledky, lze HP použít k léčbě COVID-19.

Nový kachní reovirus (NDRV) je infekční onemocnění pro drůbež bez účinné léčby. Stejně jako v předchozím případě ATL je naléhavě nutná účinná terapie proti NDRV. V této studii byl hypericin vložen do oxidu grafenu, který má vysokou kapacitu pro naplnění léčivem a nízkou cytotoxicitu. Komplex grafen-oxidu a hypericinu vykazoval na dávce závislou inhibici replikace NDVR a prodlouženou dobu přežití infikovaných jedinců, což implikuje aktivitu in vitro a in vivo. (Du a kol., 2019)

6. ANTIFUNGÁLNÍ VLASTNOSTI

Antifungální vlastnosti jsou trochu kontroverzní téma. Jako příklad lze použít *Candida albicans*; některé studie tvrdily, že HP má inhibiční aktivitu proti této houbě (Gurevich et al., 1971), některé to vyvracejí. (Gudzic B. a kol., 1997)

Ve studii s použitím esenciálních olejů z různých bylin (*Myrrhis odorata* (L.) Scop, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench a HP) vykazovala HP antifungální aktivitu proti *A.noger*, *A. flavus*, *C. cladosporioides*, *P. funiculosum*, *T. viride*, ale hodnoty MIC a MFC (minimální fungicidní koncentrace) byly relativně vysoké. (obr. 8) (Rančić et al., 2005)

Funghi	MIC (ug/ml)	Hypericum Perforatum	MFC (ug/ml)
<i>A. niger</i>	15		30
<i>A.flavus</i>	15		30
<i>C. cladosporioides</i>	15		15
<i>P. funiculosum</i>	15		30
<i>T. viride</i>	15		30

Obr. 8. MIC and MFC values of essential oil from *Hypericum perforatum* L.

Antifungální aktivitu lze zvýšit pomocí hypericinové fotodynamické terapie (HypPDT). (Viz kapitola 8)

7. HOJIVÉ VLASTNOSTI

Rány jsou popisovány jako poškození nebo narušení standardní anatomické struktury. Jsou definovány dva typy ran: ty se ztrátou tkáně a ty bez ztráty tkáně. (Atiyeh et al., 2002) V závislosti na typu rány se proces hojení liší. Tento proces probíhá složitou řadou dějů, včetně fáze hemostázy, zánětlivé reakce, buněčné proliferace, syntézy proteinů extracelulární matrix, přestavby pojivové tkáně a ukládání kolagenu. (Gonzalez et al., 2016; Velnar et al., 2009)

V případě významné ztráty tkáně by měla být rána okamžitě pokryta antimikrobiálním obvazovým materiálem, aby se urychlil proces hojení a zabránilo se infekci. (Bölgen et al., 2020) Takový obvaz byl vyroben pomocí chitosanových kryogelů se začleněným HP infuzním olejem. Antimikrobiální činidlo je důležitou součástí každého obvazu na ránu, protože spodina rány poskytuje příznivé prostředí pro mikrobiální růst. (Singh a Dhiman, 2015)

Fyzikální vlastnosti těchto kryogelů ukázaly potenciál pro použití jako obvazový materiál na rány, zejména na rány hluboké s vysokou hladinou exsudátu a dlouhodobým hojením. Podle výsledků této studie se tento materiál jeví jako velmi slibný, zejména pro diabetické rány, díky prokázaným hojivým účinkům HP na tento typ ran. (Bölgen a kol., 2020)

Diabetické rány mají pomalý proces hojení, a proto se mohou snadno infikovat. Jsou zapotřebí další způsoby léčby takových ran a *Hypericum perforatum* by takový způsob mohla poskytnout. Další studie se zaměřila na aplikaci Aloe Vera (AV) a *Hypericum perforatum* oleje (HPO) za pomoci rozložitelného polymeru PCL/Ge (Poly(ϵ -kapolakton)/Želatina) metodou elektrostatického zvlákňování do nanovláknenných obvazů.

Výsledky byly poté získány na experimentálním modelu diabetické rány a změny v množství a chemické struktuře fosfolipidů, proteinů a lipidů byly zkoumány pomocí infračervené analýzy s Fourierovou transformací (FTIR). K tomu bylo provedeno vyhodnocení biologických událostí spojených s procesem hojení rány, celkového antioxidačního stavu (TAS), celkové hladiny oxidantu (TOS) a hladiny tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- α). Hladiny TOS se zvýšily ve skupinách s DM a snížily se ve skupinách AV a HPO. Index oxidačního stresu se snížil a hladina TNF- α se zvýšila ve skupině HPO. Testování FTIR spekter ukázalo změny ve fosfolipidech, proteinech a uhlíkovém řetězci lipidů v celé krvi a séru DM potkanů. Změny ve fosfolipidech, proteinech a uhlíkovém řetězci lipidů byly detekovány FTIR spektrální analýzou krve a séra DM potkanů.

DM krysy ošetřené AV a HP olejem vykazovaly významný návrat hodnot séra a krve ke kontrolní skupiny. HP olej vykazoval vyšší podobnost s kontrolní skupinou, což naznačuje, že bude lepší pro léčbu diabetických ran než AV olej. (Guleken a kol., 2021)

Dalším typem ran ošetřených HP extrakty, mastmi nebo oleji jsou otlaky. Dekubitus je velmi bolestivý problém, který se nejčastěji vyskytuje u pacientů na jednotkách intenzivní péče (JIP). Výskyt dekubitů se v nemocnicích pohybuje mezi 10 % a 23 %, ale na jednotkách intenzivní péče se zvyšuje až na 56 %. (Ersoy et al., 2013) Rizikovými faktory jsou podvýživa, pokročilý věk, metabolické problémy, hypotenze, snížená pohyblivost a již existující zdravotní problémy. (Yücel et al., 2017)

Byl proveden experiment k vyhodnocení možných gastroprotektivních účinků, které může vykazovat extrakt z listů HP. To bylo testováno na ethanolom vyvolaných žaludečních vředech u potkanů a poté srovnáno s esomeprazolem, běžně používaným lékem pro žaludeční vředy.

Mechanismus účinku byl proveden metodou Auto Dock Vina. Požití ethanolu zvýšilo regulaci zánětlivé reakce, jak bylo prokázáno vzestupem žaludečního prozánětlivého TNF- α s poklesem IL-1 β . Přítomnost alkaloidů, flavonoidů, taninů, fenolů, steroidů a saponinů byla potvrzena analýzou HP. Vysoká dávka skupiny HP vykazuje mírná poranění žaludeční sliznice, která je srovnatelná s esomeprazolovou skupinou. Na rozdíl od toho byla pozorována vážná poškození v žaludeční sliznici skupiny krysy s kontrolou vředů. Výsledky in silico odhalily, že Amentoflavon a Quercitrin mají nejvyšší afinitu a dobré interakce s aktivním místem Hp/Kp ATPázy α . Tato studie ukázala, že extrakt z HP je téměř stejně účinný jako esomeprazol v prevenci žaludečních vředů vyvolaných ethanolom a má větší vazebnou afinitu k žaludečním protonovým pumpám než esomeprazol. (Sofici a kol., 2020)

Olejový extrakt HP se také velmi často používá k léčbě různých typů ran. Výzkum se zaměřil na urychlení procesu hojení ženských epiziotomických ran a jako kontrolu použil olej HP proti fyziologickému roztoku. Vyšetření ukázalo, že HP olej snižuje zarudnutí, edém, ekchymózu a výtok v epiziotomických ranách. Ženy užívající olej HP udávaly menší bolest než kontrolní skupina. Závěrem lze říci, že olejový extract HP může být účinným produktem pro péči a lepší hojení ran po epiziotomii. (Çobanoğlu a Şendir, 2020)

Další použití oleje HP je na jizvy a řezy. Lavagna a kol. Zaměřeno na testování směsi HP a měsíčkového oleje na operačních ranách při porodu císařským řezem. Pro tuto cílovou skupinu bylo dosaženo lepších výsledků než pro kontrolní skupinu. Plocha SPA chirurgické rány se zmenšila přibližně o 37,6 % ve srovnání s 15,83 % získanými v kontrolní skupině. (Lavagna et al., 2001)

8. FOTODYNAMICKÁ TERAPIE

Fotodynamická terapie (PDT) je léčebná metoda využívající látku zvanou fotosenzitizér, která po ozáření světlem příslušné vlnové délky interaguje s biomolekulami nebo molekulárním kyslíkem, což vede k produkci reaktivních druhů (ROS). Dosud byla PDT schválena pro několik indikací, včetně nádorových onemocnění, ale zatím není součástí standardní klinické praxe, i když je již více než 30 let klinicky zkoušena. (Ryu a kol., 2016)

V tomto přehledu se zaměřím především na aPDT, ale zmíním také využití hypPDT v léčbě rakoviny, protože podtrhuje smysl těchto objevů a je založeno na podobném mechanismu.

ANTIMIKROBIÁLNÍ PDT

Nejslibnější a neúčinnější se zdá být antimikrobiální fotodynamická terapie (APDT). APDT zahrnuje zabíjení mikroorganismů světlem v přítomnosti fotosenzibilizátoru. Principem této techniky je excitace fotosenzibilizátoru pomocí světla vhodné vlnové délky, které v aerobních podmínkách převede senzibilizátor do jeho fotoaktivního tripletového stavu, který reaguje buď s lokálním substrátem (reakce I. typu) za vzniku cytotoxických radikálů, nebo s molekulárním kyslíkem. (reakce typu II) k produkci cytotoxického singletového kyslíku a volných radikálů. (Zeina a kol., 2003)

Hypericin je vysoce účinný fotosenzibilizátor, přičemž několik klinických studií prokázalo vysokou fototoxicitu vůči gram pozitivním bakteriím. Nicméně, jelikož je hypericin vysoce lipofilní je velmi ztěženo jeho použití v každodenní klinické praxi a snižuje tak jeho léčivou hodnotu. Technika nazvaná „Liposomální enkapsulace“ má potenciál překonat tyto problémy a zpřístupnit hypericin pro každodenní klinickou praxi. Cílem této studie bylo zlepšit fotodynamickou účinnost dříve používaných nosičů, konkrétně zachycením hypericinu ve vodném kompartmentu liposomů. K dosažení tohoto cíle byl připraven ve vodě rozpustný hypericinový 16omplex a (2-hydroxypropyl)-beta-cyklodextrin (HypHP β CD) a po zapouzdření v liposomech (DSPC a DSPC/DPPC/DSPE-PEG) s dehydratačním-rehydratačním vezikulem (DRV) byla provedena fyzikálně-chemická měření. Bylo naměřeno 4,1 log snížení růstu *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *bovis* s liposomy DSPC a 2,6 snížení s liposomy DSPC/DPPC/DSPE-PEG. HypHP β CD dokonce vykazoval úplnou eradikaci. (Plenagl et al., 2019)

Již léta se ví, že rostoucí rezistence bakterií proti široce používaným antibiotikům způsobí v budoucnu nemalé potíže ve zdravotnictví. Proto je třeba dále zkoumat alternativní zdroje s antibakteriální aktivitou. Vzhledem k tomu, že *Hypericum perforatum* je silné protizánětlivé činidlo, má velkou perspektivu použití proti infekcím odolným vůči antibiotikům. Dosud mnoho studií zkoumalo vlastnosti HP podobné antibiotikům. (Derbentseva N.A. a Robinovich A.S., 1968; Schempp et al., 1999; Schiavone et al., 2013) Vytvořené reaktivní formy kyslíku mají cytotoxické účinky a mohou vyvolat buněčnou smrt buď nekrózou, nebo apoptózou. (Zeina a kol., 2003)

Vzhledem k této problematice získává použití PDT stále větší oblibu ve stomatologii při léčbě in situ orálních biofilmů. Extrakt HP byl testován proti orálním bakteriím tvořícím biofilm (*S. sobrinus*, *L. plantarum*, *S. mutans* a *E. faecalis*) a hodnoty MIC se pohybovaly od 8 mg/ml do 32 mg/ml. (Süntar et al., 2016)

Bylo také prokázáno, že extrakt HP měl významný fotoaktivační potenciál v PDT s viditelným světlem a infračerveným světlem filtrovaným vodou při koncentraci 32 mg/ml. V důsledku toho bylo vymýceno 100 % všech biofilmů. (Vollmer a kol., 2019)

Bylo prokázáno, že aPDT využívající hypericin jako fotosenzibilizátor může být účinnou alternativní léčbou orálních biofilmů.

Studie provedená Zeinou et al. řeší jeden z problémů, které obklopují tuto relativně novou techniku. Při použití in vivo existuje možnost zničení hostitelských buněk. Tato studie zaměřená na keratinocyty, jelikož PDT pro kožní anomálie je již na některých místech používána. Výsledky ukázaly, že aPDT sedmi log cyklů (dostatečné ke snížení mikrobů) má malý cytotoxický účinek na keratinocyty, což naznačuje, že tato metoda může být alternativou nebo adjuvans k antibiotikům a antiseptikům pro kožní onemocnění související s mikroby. (Zeina a kol., 2003)

Kožní onemocnění zvané acne vulgaris je jedním z nejčastěji se opakujících kožních onemocnění, které značně poškozuje fyzickou a dokonce i psychickou pohodu pacientů. Studie provedené Barroso et al. zkoumali účinky APDT na biofilmy *Propionibacterium acnes*. Vytvářeli in vitro biofilmy v anaerobních podmínkách a aplikovali různé koncentrace hypericinu. Použité koncentrace byly 5 a 15 ug/l a 0,9% sterilní fyziologický roztok pro kontrolu. Vzorky byly ozářeny světelnými energiemi 3 a 5 J (660 nm, kontinuální výkon, 100 mW, 30 a 50 s, respektive 100 J/cm² a 166 J/cm²). Poté bylo provedeno počítání CFU a ukázalo se významné snížení počtu bakterií ve všech vzorcích. Nejvýraznější inhibice byla pozorována v případě koncentrace 15 ug/l hypericinu, kde v případě biofilmu (energie 3 J) došlo ke snížení o 14,1 % a v případě energie 5 J dokonce o 27,9 %. (Barroso a kol., 2021)

Dalším naléhavým zdravotním problémem jsou povrchové plísňové infekce (Lipozenčić et al., 2002), způsobené dermatofytními houbami. (Teklebirhan a Bitew, 2015) Tyto houby konzumují keratinový protein jako výživu, díky čemuž je kůže, vlasy a nehty primárním místem infekce. (Hayette a Sacheli, 2015) Jednou z takových chorob je tinea capitis a tinea corporis způsobená houbami *M. canis*. Typ léčby byl PDT s nano enkapsulovaným hypericinem v P123. Prokázána antimykotická citlivost byla 6,25 – 12,5 umol/l P123-Hy-PDT). Léčba nevykazovala ani kožní ani biochemické změny in vivo. Již po třech ošetřeních bylo viditelné rychlé zlepšení a po šesti ošetřeních došlo k mykologické redukci. Zjištění ukázala, že PDT zprostředkovaná P123-Hyp dokonce obnovila poškození tkáně způsobené infekcí. (Galinari a kol., 2021)

HYP PDT PRO LÉČBU RAKOVINY

Hypericin může ovlivnit maligní a nemaligní buňky na několika subcelulárních úrovních, jako je syntéza a distribuce proteinů nebo struktura a funkce mitochondrií. Může být přijímán nádorovými buňkami několika způsoby transportu, včetně endocytózy, pinocytózy nebo pasivní difúze. Poté postupuje do endoplazmatického retikula a Golgiho aparátu a vytváří reaktivní formy kyslíku (ROS), které způsobují lokální poškození. Úroveň této cytotoxické reakce je úzce závislá na dávce světla a koncentraci hypericinu a může vést buď k apoptóze nebo nekróze nádorových buněk. (Gamasae et al., 2018; Mühleisen et al., 2017)

Rakovina štítné žlázy je nejčastějším typem rakoviny související s endokrinním systémem. I když je HYP známý a silný fotosenzibilizátor a jeho protinádorová aktivita byla mnohokrát testována a potvrzena, základní mechanismy jeho protirakovinného účinku nejsou dosud dobře stanoveny. Proto byla provedena studie, která měla tyto mechanismy objasnit pomocí B-CPAP buněčné linie karcinomu štítné žlázy (PTC -papilární karcinom štítné žlázy).

Tato studie ukazuje, že HYP je cytotoxický a indukuje apoptózu v B-CPAP závislou na vnější kaspáze. Dále zjistili, že HYP inhiboval čtyři geny související s metastázami v buňkách B-CPAP, což snižuje potenciál tvorby nových metastáz. Apoptóza je indukována i při velmi nízkých koncentracích a i vyšší koncentrace HYP byly dobře tolerovány fibroblastovými buňkami. (Piryaei et al., 2021)

Anaplastický karcinom štítné žlázy je nejagresivnější formou karcinomu štítné žlázy, která hůře reaguje na standardní léčbu kvůli svým komplexním charakteristikám. (Lim et al., 2012) Studie na myších uvádí významnou tvorbu ROS a poškození mitochondrií v postižených buňkách při léčbě HypPDT. (Kim et al., 2018)

Dalším typem rakoviny citlivým na HypPDT je kolorektální karcinom, který je jednou z nejčastějších lidských malignit. Standardní léčba zahrnuje chemoterapii, radioterapii a chirurgický zákrok. (Aiello et al., 2019) Bylo zjištěno, že HypPDT vykazuje protinádorovou aktivitu indukci inhibice buněčné proliferace, tvorby ROS, apoptózy prostřednictvím kaspázy-9 a kaspázy-3 a zastavení S fáze prostřednictvím dráhy CDC25A/CDK2/Cyclin A. (Hu a kol., 2021)

Podle Kleemannovy studie dosáhl HypPDT při léčbě melanomu podobných výsledků jako ve výše zmíněných studiích. V této studii všechny melanomové buňky převzaly hypericin a akumulovaly ho do endoplazmatického retikula, mitochondrií, lysozomů a melanosomů, ale ne do jádra. Světelná aktivace hypericinu vyvolala rychlou, rozsáhlou modifikaci tubulární mitochondriální sítě do perličkového vzhledu, ztrátu strukturních detailů v ER a vedla ke ztrátě společné lokalizace hypericinu. Opačná věc se stala s lysozomálními organelami, což naznačuje možné spojení mezi těmito organelami a rezistencí HypPDT. Konkrétně organely nesoucí pigment nazývané melanosomy byly nedávno zapojeny do zachycování léků, chemoterapie a rezistence na HypPDT.

Nicméně HypPDT dokázal zabít jak nepigmentované, tak pigmentované melanomové buňky. Léčba vedla k vnější a vnitřní apoptóze závislé na kaspáze a apoptóze nezávislé na kaspáze, nezahrnující faktory indukující apoptózu. (Kleemann et al., 2014)

HypPDT je slibná nová technika, i když není bez jakýchkoli vedlejších účinků, protože hypericin je po nitrožilní aplikaci silným fotosenzibilizátorem a pacienti se systémovou distribucí se musí vyhýbat světlu, aby se snížilo riziko fotosenzitivní reakce. Byla provedena studie, jejímž cílem je řídit lokalizaci HYP během HypPDT prostřednictvím magnetického cílení léčiv (MDT). Částice HYP byly naneseny na superparamagnetické nanočástice oxidu železa a poté navedeny na požadované místo pomocí vnějšího magnetického pole. Výsledky této studie byly slibné, i když vychytávání komplexu SPION/Hyp bylo pomalejší než samotného hypericinu. To by se dalo vyřešit zkoumáním souvislosti mezi koncentrací hypericinu a dobou osvětlení světlem a nalezením nejlepšího možného poměru. (Mühleisen et al., 2017)

Mechanismus HypPDT prostřednictvím tvorby ROS a indukce apoptotických drah, jak prostřednictvím vnějších, tak vnitřních cest závislých na kaspáze spolu se supresí transkripce související s metastázami nebo viry, také studovali Barathan a Xu. (Barathan et al., 2013 Xu a kol., 2019).

Všechny tyto studie popisují obecný mechanismus této léčebné techniky, ale k objasnění rozdílů pozorovaných v získaných výsledcích je třeba provést více studií.

9. DISKUZE/ZÁVĚR

Jak je uvedeno výše, *Hypericum perforatum* L. vykazuje silnou aktivitu proti mnoha typům patogenů. V době bakteriální rezistence vůči antibiotikům budou alternativní léčebné metody středem mnoha studií. Budoucí studie by se měly zaměřit na funkční mechanismus všech metabolitů společně a také na specifické molekuly, jako je hyperforin nebo hypericin. Předmětem budoucího výzkumu by měla být také bezpečnost a standardizace klinického použití.

Využití těchto zjištění je rozsáhlé a konečný produkt bude odrážet cílovou skupinu. Jak je uvedeno v tomto přehledu, výjimečné aktivity této byliny lze využít ve stomatologii, medicíně, farmaceutických zařízeních a materiálech.

Použití extraktu z HP však není bez vedlejších účinků, jak by se mnozí lidé mohli domnívat, protože se jedná o extrakt z bylin. HP může interagovat s některými široce používanými léky. Mělo by být známo, že použití HP pro léčbu může způsobit selhání antikoncepce ethinylestradiolu v důsledku indukce jeho metabolismu. (Henderson et al., 2002; Schwarz et al., 2003) Výzkum také naznačuje, že dlouhodobé podávání třezalky tečkované může mít za následek sníženou klinickou účinnost nebo zvýšené požadavky na dávkování pro všechny substráty CYP 3A4, což představuje asi 50 % všech prodáváných léčiv. (Markowitz a kol., 2003)

Léčba HP by neměla být kombinována s žádným typem farmaceutických antidepresiv (nedoporučí-li kvalifikovaný lékař jinak), protože by mohlo dojít k serotoninovému syndromu. (Bent, 2008; Borrelli a Izzo, 2009) Používání rostlinných produktů současně s konvenční medicínou je rozšířeným problémem, který vyžaduje další pozornost ze strany lékařů.

Fotosenzitivní reakce se zdá být nejobávanějším vedlejším účinkem HP, ale bylo zjištěno, že dávky používané při léčbě deprese nejsou dostatečně vysoké, aby takovou reakci vyvolaly. (Bilia et al., 2002) V případě léčby HypPDT je to stále problémem a vyžaduje další pozornost a alternativní řešení, jako je například výše zmíněné MDT.

Poskytli jsme důkazy, které by mohly vysvětlit nekonzistentnost tvrzení o klinickém účinku medicíny založené na HP. Toto vysvětlení je použitelné pro studie provedené v 60. letech 20. století společností Eko, ale také pro další aktuálnější případové studie. Nestabilita metabolitů, zejména hyperforinu, je problém, který by se měl v budoucnu řešit. Nabízí také nový pohled na hodnocení přírodní medicíny obecně, protože mnoho produktů se může potýkat se stejným problémem.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři uznávají finanční podporu v rámci projektu Floristen firmy EkoRTN s.r.o., Bohumíra Rakušana a Mgr. Jarmily Helešicové.

10. REFERENCE

- Aiello, P., Sharghi, M., Mansourkhani, S.M., Ardekan, A.P., Jouybari, L., Daraei, N., Peiro, K., Mohamadian, S., Rezaei, M., Heidari, M., Peluso, I., Ghorat, F., Bishayee, A., Kooti, W., 2019. Medicinal plants in the prevention and treatment of colon cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2075614>
- Andersen, D.O., Weber, N.D., Wood, S.G., Hughes, B.G., Murray, B.K., North, J.A., 1991. In vitro virucidal activity of selected anthraquinones and anthraquinone derivatives. *Antiviral Res* 16, 185–196. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(91\)90024-l](https://doi.org/10.1016/0166-3542(91)90024-l)
- Aron, P.M., Kennedy, J.A., 2008. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Mol Nutr Food Res* 52, 79–104. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700137>
- Aryanpour, E., Abdolnuri, A., Mohebalian, H., 2021. Evaluation of the effects of *Hypericum perforatum* extract on HIV, IAV and sars-Cov2. Presented at the International Congress on biomedicine (ICB2021).
- Atiyeh, B.S., Ioannovich, J., Al-Amm, C.A., El-Musa, K.A., 2002. Management of acute and chronic open wounds: the importance of moist environment in optimal wound healing. *Curr Pharm Biotechnol* 3, 179–195. <https://doi.org/10.2174/1389201023378283>
- Axarlis, S., Mentis, A., Demetzos, C., Mitaku, S., Skaltsounis, A.L., Marselos, M., Malamas, M., 1998. Antiviral in vitro activity of *Hypericum perforatum* l. extract on the human cytomegalovirus (HCMV). *Phytother. Res.* 12, 507–511. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199811\)12:7<507::AID-PTR370>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199811)12:7<507::AID-PTR370>3.0.CO;2-H)
- Banks, H.J., Cameron, D.W., Raverty, W.D., 1976. Chemistry of the Coccoidea. II. Condensed polycyclic pigments from two Australian pseudococcids (Hemiptera). *Aust. J. Chem.* 29, 1509–1521. <https://doi.org/10.1071/ch9761509>
- Barathan, M., Mariappan, V., Shankar, E.M., Abdullah, B.J., Goh, K.L., Vadivelu, J., 2013. Hypericin-photodynamic therapy leads to interleukin-6 secretion by HepG2 cells and their apoptosis via recruitment of BH3 interacting-domain death agonist and caspases. *Cell Death Dis* 4, e697–e697. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.219>
- Barroso, R.A., Navarro, R., Tim, C.R., de Paula Ramos, L., de Oliveira, L.D., Araki, Â.T., Fernandes, K.G.C., Macedo, D., Assis, L., 2021. Antimicrobial photodynamic therapy against *Propionibacterium acnes* biofilms using hypericin (*Hypericum perforatum*) photosensitizer: in vitro study. *Lasers Med Sci* 36, 1235–1240. <https://doi.org/10.1007/s10103-020-03163-3>
- Beerhues, L., 2006. Hyperforin. *Phytochemistry* 67, 2201–2207. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.017>
- Benedí, J., Arroyo, R., Romero, C., Martín-Aragón, S., Villar, A.M., 2004. Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells. *Life Sci* 75, 1263–1276. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.05.001>
- Bent, S., 2008. Herbal medicine in the United States: review of efficacy, safety, and regulation: grand rounds at University of California, San Francisco Medical Center. *J Gen Intern Med* 23, 854–859. <https://doi.org/10.1007/s11606-008-0632-y>
- Bilia, A.R., Gallori, S., Vincieri, F.F., 2002. St. John's wort and depression: efficacy, safety and tolerability—an update. *Life Sci* 70, 3077–3096. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)01566-7](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)01566-7)
- Bölgen, N., Demir, D., Yalçın, M.S., Özdemir, S., 2020. Development of *Hypericum perforatum* oil incorporated antimicrobial and antioxidant chitosan cryogel as a wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules* 161, 1581–1590. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.056>
- Bongiorno, P.B., 2020a. 88 - *Hypericum perforatum* (St. John's Wort), in: Pizzorno, J.E., Murray, M.T. (Eds.), *Textbook of Natural Medicine (Fifth Edition)*. Churchill Livingstone, St. Louis (MO), pp. 670–676.e2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-43044-9.00088-1>
- Bongiorno, P.B., 2020b. 88 - *Hypericum perforatum* (St. John's Wort), in: Pizzorno, J.E., Murray, M.T. (Eds.), *Textbook of Natural Medicine (Fifth Edition)*. Churchill Livingstone, St. Louis (MO), pp. 670–676.e2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-43044-9.00088-1>

- Borrelli, F., Izzo, A.A., 2009. Herb–Drug Interactions with St John’s Wort (*Hypericum perforatum*): an Update on Clinical Observations. *AAPS J* 11, 710. <https://doi.org/10.1208/s12248-009-9146-8>
- Brenner, R., Azbel, V., Madhusoodanan, S., Pawlowska, M., 2000. Comparison of an extract of hypericum (LI 160) and sertraline in the treatment of depression: A double-blind, randomized pilot study. *Clinical Therapeutics* 22, 411–419. [https://doi.org/10.1016/S0149-2918\(00\)89010-4](https://doi.org/10.1016/S0149-2918(00)89010-4)
- Brockmann HH, Sanne W., 1953. Zur Biosynthese des Hypericins. *Naturwissenschaften* 509–510.
- Buchner A., n.d. Buchner’s report. *Pharm* 1830.
- Bystrov, N.S., Chernov, B.K., Dobrynin, V.N., Kolosov, M.N., 1975. The structure of hyperforin. *Tetrahedron Letters* 16, 2791–2794. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)75241-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)75241-5)
- Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M.M., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Vittori, S., Lucarini, D., Maggi, F., 2007. Antimicrobial activity of seven hypericum entities from central Italy. *Planta Med* 73, 564–566. <https://doi.org/10.1055/s-2007-967198>
- Čellárová, E., Kimáková, K., Halušková, J., Daxnerová, Z., 1994. The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*. *Acta Biotechnologica* 14, 267–274. <https://doi.org/10.1002/abio.370140309>
- Chatterjee, S.S., Bhattacharya, S.K., Wonnemann, M., Singer, A., Müller, W.E., 1998a. Hyperforin as a possible antidepressant component of hypericum extracts. *Life Sciences* 63, 499–510. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(98\)00299-9](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(98)00299-9)
- Chatterjee, S.S., Nöldner, M., Koch, E., Erdelmeier, C., 1998b. Antidepressant activity of hypericum perforatum and hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiatry* 31 Suppl 1, 7–15. <https://doi.org/10.1055/s-2007-979340>
- Chaudhary, A., Willett, K., 2006. Inhibition of human cytochrome CYP1 enzymes by flavonoids of St. John’s wort. *Toxicology* 217, 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.09.010>
- Çobanoğlu, A., Şendir, M., 2020. The effect of hypericum perforatum oil on the healing process in the care of episiotomy wounds: A randomized controlled trial. *European Journal of Integrative Medicine* 34, 100995. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.100995>
- Degar, S., Prince, A.M., Pascual, D., Lavie, G., Levin, B., Mazur, Y., Lavie, D., Ehrlich, L.S., Carter, C., Meruelo, D., 1992. Inactivation of the human immunodeficiency virus by hypericin: evidence for photochemical alterations of p24 and a block in uncoating. *AIDS Res Hum Retroviruses* 8, 1929–1936. <https://doi.org/10.1089/aid.1992.8.1929>
- Derbentseva N.A., Robinovich A.S., 1968. Isolation, purification and study of some physiochemical properties of novoimanin. *Naukova Dumka*.
- Du, X., Xiao, R., Fu, H., Yuan, Z., Zhang, W., Yin, L., He, C., Li, C., Zhou, J., Liu, G., Shu, G., Chen, Z., 2019. Hypericin-loaded graphene oxide protects ducks against a novel duck reovirus. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 105, 110052. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110052>
- Ersoy, M., Öcal, S., Oz, A., Yilmaz, P., Arsava, B., Topeli İskit, A., 2013. Evaluation of Risk Factors for Decubitus Ulcers in Intensive Care Unit Patients. *JOURNAL OF MEDICAL AND SURGICAL INTENSIVE CARE MEDICINE* 4. <https://doi.org/10.5152/dcbybd.2013.03>
- F. Lang, A. Biber, C. Erdelmeier, 2002. Hyperforin in Johanniskraut-Droge, - Extrakten und Präparaten. *Pharm. Unserer Zeit* 5.
- Gained KN, Ganjoo TN, 1959. Antibacterial principle of *Hypericum perforatum* L. *Indian Pharm* 21, 172–175.
- Galinari, C.B., Conrado, P.C.V., Arita, G.S., Mosca, V.A.B., Melo, R.C., Bianchi, T. de P., Faria, D.R., Sakita, K.M., Malacarne, L.C., Gonçalves, R.S., Pereira, P.C. de S., Cesar, G.B., Caetano, W., de Souza, M., da Silva Palácios, R., Baesso, M.L., Svidzinski, T.I.E., Cotica, É.S.K., Bonfim-Mendonça, P. de S., 2021. Nanoencapsulated hypericin in P-123 associated with photodynamic therapy for the treatment of dermatophytosis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 215, 112103. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.112103>
- Gamasae, N.A., Radmansouri, M., Ghiasvand, S., Shahriari, F., Marzouni, H.Z., Aryan, H., Jangholi, E., Javidi, M.A., 2018. Hypericin induces apoptosis in MDA-MB-175-VII cells in lower dose compared to MDA-MB-231. *Archives of Iranian Medicine* 21, 387–392.

- Gonzalez, A.C. de O., Costa, T.F., Andrade, Z. de A., Medrado, A.R.A.P., 2016. Wound healing - A literature review. *An Bras Dermatol* 91, 614–620. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164741>
- Grieve, M., 1931. *A Modern Herbal*, Available online <http://botanical.com/NOTE>: Much of Mrs. Grieve's text is based on traditional knowledge and much has been disproven. Do not use as medical advice, but rather as historical information.
- Grotewold, E., 2006. *The Science of Flavonoids*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2>
- Gudžić B., Nedeljković J.M., Dorđević S., Comor J.J., 1997. Composition and anti-microbial activity of essential oil of Hypericic Herb (*Hypericum perforatum* L.) from Vlasina region. *Facta Universitatis Series: Physics, Chemistry and Technology* 1 47–51.
- Guleken, Z., Depciuch, J., Ege, H., İlbay, G., Kalkandelen, C., Ozbeyli, D., Bulut, H., Sener, G., Tarhan, N., Erdem Kuruca, S., 2021. Spectrochemical and biochemical assay comparison study of the healing effect of the Aloe vera and *Hypericum perforatum* loaded nanofiber dressings on diabetic wound. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 254, 119639. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119639>
- Gurevich, A.I., Dobrynin, V.N., Kolosov, M.N., Popravko, S.A., Riabova, I.D., 1971. [Antibiotic hyperforin from *Hypericum perforatum* L]. *Antibiotiki* 16, 510–513.
- Hayette, M.-P., Sacheli, R., 2015. Dermatophytosis, *Trends in Epidemiology and Diagnostic Approach*. *Curr Fungal Infect Rep* 9, 164–179. <https://doi.org/10.1007/s12281-015-0231-4>
- Hazler Pilepic, K., Males, Z., Crkvenčić, M., 2013. Quantitative Analysis of Total Flavonoids and Total Phenolic Acids in Thirty *Hypericum* Taxa. *Natural Product Communications* 8, 347–349. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300800319>
- Hemingway, R.W., 1998. *Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action* By Edwin Haslam (University of Sheffield). Cambridge University Press, New York, NY. 1998. xv + 422 pp. 17 × 24.5 cm. \$100.00. *J. Nat. Prod.* 61, 1454–1455. <https://doi.org/10.1021/np980243t>
- Henderson, L., Yue, Q.Y., Bergquist, C., Gerden, B., Arlett, P., 2002. St John's wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *Br J Clin Pharmacol* 54, 349–356. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.2002.01683.x>
- Hu, J., Song, J., Tang, Z., Wei, S., Chen, L., Zhou, R., 2021. Hypericin-mediated photodynamic therapy inhibits growth of colorectal cancer cells via inducing S phase cell cycle arrest and apoptosis. *Eur J Pharmacol* 900, 174071. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174071>
- Huang, L.-F., Wang, Z.-H., Chen, S.-L., 2014. Hypericin: chemical synthesis and biosynthesis. *Chinese Journal of Natural Medicines* 12, 81–88. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60014-5](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60014-5)
- Hudson, J.B., Lopez-Bazzocchi, I., Towers, G.H., 1991. Antiviral activities of hypericin. *Antiviral Res* 15, 101–112. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(91\)90028-p](https://doi.org/10.1016/0166-3542(91)90028-p)
- Hunt, E.J., Lester, C.E., Lester, E.A., Tackett, R.L., 2001. Effect of St. John's wort on free radical production. *Life Sci* 69, 181–190. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01102-x](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01102-x)
- Jürgenliemk, G., Nahrstedt, A., 2002. Phenolic compounds from *Hypericum perforatum*. *Planta Med* 68, 88–91. <https://doi.org/10.1055/s-2002-20053>
- Kim, H., Kim, S.W., Seok, K.H., Hwang, C.W., Ahn, J.-C., Jin, J.-O., Kang, H.W., 2018. Hypericin-assisted photodynamic therapy against anaplastic thyroid cancer. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 24, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.08.008>
- Kleemann, B., Loos, B., Scriba, T.J., Lang, D., Davids, L.M., 2014. St John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) Photomedicine: Hypericin-Photodynamic Therapy Induces Metastatic Melanoma Cell Death. *PLOS ONE* 9, e103762. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103762>
- Knox, J.P., Dodge, A.D., 1985. Isolation and activity of the photodynamic pigment hypericin. *Plant, Cell & Environment* 8, 19–25. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1985.tb01204.x>
- Lavagna, S.M., Secci, D., Chimenti, P., Bonsignore, L., Ottaviani, A., Bizzarri, B., 2001. Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *Farmaco* 56, 451–453. [https://doi.org/10.1016/s0014-827x\(01\)01060-6](https://doi.org/10.1016/s0014-827x(01)01060-6)

- Lavie, D., Revel, M., Rotman, D., Velde, V.V., 1990. Antiviral pharmaceutical compositions containing hypericin or pseudohypericin. EP0256452A3.
- Lédr, J., Starý, J., Urbánek, G., 1959. Léčba zánětů vazů děložních Floristenem a termálními koupelemi v Teplicích v Čechách. *Československá gynaekologie* 24,4.
- Lim, S.M., Shin, S.-J., Chung, W.Y., Park, C.S., Nam, K.-H., Kang, S.-W., Keum, K.C., Kim, J.H., Cho, J.Y., Hong, Y.K., Cho, B.C., 2012. Treatment outcome of patients with anaplastic thyroid cancer: a single center experience. *Yonsei Med J* 53, 352–357. <https://doi.org/10.3349/ymj.2012.53.2.352>
- Lipozenčić, J., Skerlev, M., Pašić, A., 2002. An overview: the changing face of cutaneous infections and infestations. *Clinics in Dermatology* 20, 104–108. [https://doi.org/10.1016/S0738-081X\(01\)00248-6](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(01)00248-6)
- Markowitz, J.S., Donovan, J.L., DeVane, C.L., Taylor, R.M., Ruan, Y., Wang, J.-S., Chavin, K.D., 2003. Effect of St John's Wort on Drug Metabolism by Induction of Cytochrome P450 3A4 Enzyme. *JAMA* 290, 1500–1504. <https://doi.org/10.1001/jama.290.11.1500>
- Meruelo, D., Lavie, G., 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 U S A* 85, 5230–5234. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5230>
- Mühleisen, L., Alev, M., Unterweger, H., Subatzus, D., Pöttler, M., Friedrich, R.P., Alexiou, C., Janko, C., 2017. Analysis of Hypericin-Mediated Effects and Implications for Targeted Photodynamic Therapy. *International Journal of Molecular Sciences* 18, 1388. <https://doi.org/10.3390/ijms18071388>
- Napoli, E., Siracusa, L., Ruberto, G., Carrubba, A., Lazzara, S., Speciale, A., Cimino, F., Saija, A., Cristani, M., 2018. Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species – A comparative study. *Phytochemistry* 152, 162–173. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.003>
- Nazlı, O., Baygar, T., Demirci Dönmez, Ç.E., Dere, Ö., Uysal, A.İ., Aksözek, A., Işık, C., Aktürk, S., 2019. Antimicrobial and antibiofilm activity of polyurethane/*Hypericum perforatum* extract (PHPE) composite. *Bioorganic Chemistry* 82, 224–228. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.08.017>
- Neuwald F., Hagenström U., 1954. Untersuchungen über die antibakterielle Wirkung von *Hypericum perforatum* L. *Arch Pharm* 287, 439–441.
- Ng, Q.X., Venkatanarayanan, N., Ho, C.Y.X., 2017. Clinical use of *Hypericum perforatum* (St John's wort) in depression: A meta-analysis. *Journal of Affective Disorders* 210, 211–221. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.12.048>
- Olson, K.M., Starks, C.M., Williams, R.B., O'Neil-Johnson, M., Huang, Z., Ellis, M., Reilly, J.E., Eldridge, G.R., 2011. Novel pentadecenyl tetrazole enhances susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms to gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 55, 3691–3695. <https://doi.org/10.1128/AAC.00302-11>
- Pavlovský, P., Hanáková, B., Petránová, V., 1979. The use of Floristen and Lyastin in Arteriosclerotic Affection of the Brain. *Československá Psychiatrie* 75,2, 118–121.
- Piryaei, M., Mehrparvar, B., Mohammadian, A., Shahriari, F., Javidi, M.A., 2021. Anti-cancer impact of Hypericin in B-CPAP cells: Extrinsic caspase dependent apoptosis induction and metastasis obstruction. *Eur J Pharmacol* 910, 174454. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174454>
- Pitsillou, E., Liang, J., Karagiannis, C., Ververis, K., Darmawan, K.K., Ng, K., Hung, A., Karagiannis, T.C., 2020. Interaction of small molecules with the SARS-CoV-2 main protease in silico and in vitro validation of potential lead compounds using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Computational Biology and Chemistry* 89, 107408. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107408>
- Plenagl, N., Seitz, B.S., Duse, L., Pinnapireddy, S.R., Jedelska, J., Brüßler, J., Bakowsky, U., 2019. Hypericin inclusion complexes encapsulated in liposomes for antimicrobial photodynamic therapy. *International Journal of Pharmaceutics* 570, 118666. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118666>
- Rakušan, B., Urbánek, G., Vystřčil, A., Zicha, K., Zicha, O., Doležel, B., 1954. Léčení chronických gynekologických zánětů tkáňovým preparátem Floristenem mite (RTN 118). *Časopis lékařů českých* 93,49, 1352–1354.
- Rančić, A., Soković, M., Vukojević, J., Simić, A., Marin, P., Duletić-Laušević, S., Djoković, D., 2005. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Essential Oils of *Myrrhis odorata* (L.) Scop, *Hypericum*

- perforatum L and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. *Journal of Essential Oil Research* 17, 341–345. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698925>
- Ryu, D., Joung, J.-G., Kim, N.K.D., Kim, K.-T., Park, W.-Y., 2016. Deciphering intratumor heterogeneity using cancer genome analysis. *Hum Genet* 135, 635–642. <https://doi.org/10.1007/s00439-016-1670-x>
- Sagrati, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Oztürk, N., Oztürk, Y., Maggi, F., 2008. Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* taxa from Central Italy. *Fitoterapia* 79, 210–213. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.11.011>
- Sandstrom E., 1989. Antiviral therapy in human immunodeficiency virus infection.
- Schempp, C.M., Pelz, K., Wittmer, A., Schöpf, E., Simon, J.C., 1999. Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *Lancet* 353, 2129. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)00214-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)00214-7)
- Schiavone, B.I.P., Rosato, A., Marilena, M., Gibbons, S., Bombardelli, E., Verotta, L., Franchini, C., Corbo, F., 2013. Biological Evaluation of Hyperforin and Its Hydrogenated Analogue on Bacterial Growth and Biofilm Production. *J. Nat. Prod.* 76, 1819–1823. <https://doi.org/10.1021/np400394c>
- Schwarz, U.I., Büschel, B., Kirch, W., 2003. Unwanted pregnancy on self-medication with St John's wort despite hormonal contraception. *Br J Clin Pharmacol* 55, 112–113. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.2003.01716.x>
- Serkedjieva, J., Manolova, N., Zgórnjak-Nowosielska, I., Zawilińska, B., Grzybek, J., 1990. Antiviral activity of the infusion (SHS-174) from flowers of *Sambucus nigra* L., aerial parts of *Hypericum perforatum* L., and roots of *Saponaria officinalis* L. against influenza and herpes simplex viruses. *Phytotherapy Research* 4, 97–100. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650040305>
- Singh, B., Dhiman, A., 2015. Designing bio-mimetic moxifloxacin loaded hydrogel wound dressing to improve antioxidant and pharmacology properties. *RSC Adv.* 5, 44666–44678. <https://doi.org/10.1039/C5RA06857F>
- Smelcerovic, A., Spiteller, M., 2006. Phytochemical analysis of nine *Hypericum* L. species from Serbia and the F.Y.R. Macedonia. *Pharmazie* 61, 251–252.
- Sofi, S.H., Nuraddin, S.M., Amin, Z.A., Al-Bustany, H.A., Nadir, M.Q., 2020. Gastroprotective activity of *Hypericum perforatum* extract in ethanol-induced gastric mucosal injury in Wistar rats: A possible involvement of H⁺/K⁺ ATPase α inhibition. *Heliyon* 6, e05249. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05249>
- Sosa, S., Pace, R., Bornancin, A., Morazzoni, P., Riva, A., Tubaro, A., Della Loggia, R., 2007. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Hypericum perforatum* L. *J Pharm Pharmacol* 59, 703–709. <https://doi.org/10.1211/jpp.59.5.0011>
- Stewart, P.S., 2002. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *International Journal of Medical Microbiology* 292, 107–113. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00196>
- Süntar, I., Oyardı, O., Akkol, E.K., Özçelik, B., 2016. Antimicrobial effect of the extracts from *Hypericum perforatum* against oral bacteria and biofilm formation. *Pharmaceutical Biology* 54, 1065–1070. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1102948>
- Süntar, I.P., Akkol, E.K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kirmizibekmez, H., Alper, M., Yeşilada, E., 2010. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol* 127, 468–477. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.10.011>
- Takahashi, I., Nakanishi, S., Kobayashi, E., Nakano, H., Suzuki, K., Tamaoki, T., 1989. Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein kinase C: possible relation to their antiretroviral activity. *Biochem Biophys Res Commun* 165, 1207–1212. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)92730-7](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)92730-7)
- Tang, J., Colacino, J.M., Larsen, S.H., Spitzer, W., 1990. Virucidal activity of hypericin against enveloped and non-enveloped DNA and RNA viruses. *Antiviral Res* 13, 313–325. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(90\)90015-y](https://doi.org/10.1016/0166-3542(90)90015-y)
- Tatsis, E.C., Boeren, S., Exarchou, V., Troganis, A.N., Vervoort, J., Gerotheranassis, I.P., 2007. Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS. *Phytochemistry* 68, 383–393. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.11.026>

- Tekel'ová, D., Repcák, M., Zemková, E., Tóth, J., 2000. Quantitative changes of dianthrones, hyperforin and flavonoids content in the flower ontogenesis of *Hypericum perforatum*. *Planta Med* 66, 778–780. <https://doi.org/10.1055/s-2000-9779>
- Teklebirhan, G., Bitew, A., 2015. Prevalence of Dermatophytic Infection and the Spectrum of Dermatophytes in Patients Attending a Tertiary Hospital in Addis Ababa, Ethiopia. *International Journal of Microbiology* 2015, e653419. <https://doi.org/10.1155/2015/653419>
- Umek, A., Kreft, S., Kartnig, T., Heydel, B., 1999. Quantitative phytochemical analyses of six hypericum species growing in slovenia. *Planta Med* 65, 388–390. <https://doi.org/10.1055/s-2006-960798>
- Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V., 2009. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res* 37, 1528–1542. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
- Vollmer, A., Al-Ahmad, A., Argyropoulou, A., Thurnheer, T., Hellwig, E., Attin, T., Vach, K., Wittmer, A., Ferguson, K., Skaltsounis, A.L., Karygianni, L., 2019. Antimicrobial Photoinactivation Using Visible Light Plus Water-Filtered Infrared-A (VIS + wIRA) and *Hypericum Perforatum* Modifies In Situ Oral Biofilms. *Sci Rep* 9, 20325. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56925-7>
- Xiao, Q., Wu, J., Pang, X., Jiang, Y., Wang, P., Leung, A.W., Gao, L., Jiang, S., Xu, C., 2018. Discovery and Development of Natural Products and their Derivatives as Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Curr Med Chem* 25, 839–860. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170823143137>
- Xu, L., Zhang, X., Cheng, W., Wang, Y., Yi, K., Wang, Z., Zhang, Y., Shao, L., Zhao, T., 2019. Hypericin-photodynamic therapy inhibits the growth of adult T-cell leukemia cells through induction of apoptosis and suppression of viral transcription. *Retrovirology* 16, 5. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0467-0>
- Yalçın, S., Yalçinkaya, S., Ercan, F., 2021. Determination of Potential Drug Candidate Molecules of the *Hypericum perforatum* for COVID-19 Treatment. *Curr Pharmacol Rep* 7, 42–48. <https://doi.org/10.1007/s40495-021-00254-9>
- Yeşilada, E., Gürbüz, I., Shibata, H., 1999. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *J Ethnopharmacol* 66, 289–293. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00219-0](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00219-0)
- Yu, S., Yan, H., Zhang, L., Shan, M., Chen, P., Ding, A., Li, S.F.Y., 2017. A Review on the Phytochemistry, Pharmacology, and Pharmacokinetics of Amentoflavone, a Naturally-Occurring Biflavonoid. *Molecules* 22, 299. <https://doi.org/10.3390/molecules22020299>
- Yücel, A., Kan, Y., Yeşilada, E., Akın, O., 2017. Effect of St.John's wort (*Hypericum perforatum*) oily extract for the care and treatment of pressure sores; a case report. *Journal of Ethnopharmacology* 196, 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.030>
- Zeina, B., Greenman, J., Corry, D., Purcell, W.M., 2003. Antimicrobial photodynamic therapy: assessment of genotoxic effects on keratinocytes in vitro. *Br J Dermatol* 148, 229–232. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05091.x>
- Zhang, J., Gao, L., Hu, J., Wang, C., Hagedoorn, P.-L., Li, N., Zhou, X., 2022. Hypericin: Source, Determination, Separation, and Properties. *Separation & Purification Reviews* 51, 1–10. <https://doi.org/10.1080/15422119.2020.1797792>

1. ABSTRACT

This review was created to provide an overview of current research on the antimicrobial properties of *Hypericum perforatum* L. that we gathered at EkoRTN while working on the preparation of Floristen. The original medicinal preparation Floristen was one of the results of the work of the RTN team led by RNDr. PhMr. Bohumír Rakušan at the pharmaceutical factory Eko. The RTN team focused on plant and animal extracts and their use in the treatment of chronic degenerative diseases, and Floristen, which was produced in former Czechoslovakia in the 1960s by the national enterprise SPOFA, was mainly used for chronic gynecological inflammations.

The results of the analytical evaluation of the preparation were not always consistent, and thanks to the progress in analytical chemistry, it can be concluded that these inconsistencies were most probably due to the instability of the main bioactive constituents. In addition, this overview summarizes the history of *Hypericum perforatum*, bioactive constituents, and future research targets. We hope to encourage further interest in this medicinal herb.

Hypericum perforatum L. is a widely used herb in folk and botanical medicine. In the past few decades, it has gained much attention for its anti-depressive, antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidative, and wound-healing properties. Thanks to the physical properties of its secondary metabolites, it can be combined with modern treatments, such as photodynamic therapy. Extracts from this herb can also be incorporated into polyurethane materials or wound dressings, where its healing and antimicrobial properties are utilized. New types of wound dressings, for example for diabetics, have been developed as a result. This document also presents some of the latest discoveries, such as the inhibition of the main protease of COVID-19 by hypericin, strong activity against several multiresistant strains of bacteria, and even the eradication of oral biofilms in dentistry.

Further research is needed to implement these findings into daily clinical practice. Evidence suggests or even clearly states the potential of *Hypericum perforatum* in the treatment of milder medical issues, moderate depression, as well as serious infections, or some types of cancer.

2. ABBREVIATIONS

HP (*Hypericum perforatum* L.)

PDT (Photodynamic Therapy)

aPDT (Antimicrobial photodynamic therapy)

HypPDT (Hypericin Photodynamic Therapy)

SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors)

MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

MFC (Minimum Fungicidal Concentration)

MBIC (Minimum Biofilm Inhibitory Concentration)

HYP (Hypericin)

3. INTRODUCTION

3.1. DESCRIPTION AND HISTORY

Hypericum perforatum L., also known as St. John's wort, is most likely the most studied herb of all times. It is a shrubby perennial plant from the *Hypericaceae* family, with many yellow flowers. It usually grows in dry and gravelly soils, fields, and sunny places. *Hypericum* is native to many parts of the world, like Europe, Asia, or the United States. (Bongiorno, 2020a)

It contains many bioactive compounds, including naphthodianthrones (hypericin, pseudo hypericin), phloroglucinols (hyperforin, adhyperforin), flavonoids (quercetin, rutin, kaempferol, xanthone), and many less concentrated compounds.

St. John's wort has been used in folk medicine since ancient Greece, where Dioscorides, Pliny, or Hippocrates used it to treat many illnesses. Its Latin name is derived from Greek, and it means "over an apparition," which refers to the belief that the herb was so obnoxious to evil spirits that only a whiff of it would drive them away (Bongiorno, 2020b; Grieve, 1931; Xiao et al., 2018) probably a reference to its significant antidepressant properties.

In the past century, a specific HP extract, called Floristen, has been used in the Czech Republic, for the prolonged healing of inflammation, especially in women. This extract was claimed to have a healing effect on uterine infections. (Lédr et al., 1959; Rakušan et al., 1954)

Nowadays, there is a substantial rise in interest in this herb and botanical medicine science in general. For example, in Germany, herbal products can be marketed as drugs and even reimbursed by insurance when prescribed by a physician. (Bongiorno, 2020b)

3.2. TYPES OF BIOLOGICAL ACTIVITY

St. John's wort exerts a broad spectrum of biological activity. First of all, its antioxidative activity, which was confirmed in vitro. (Hunt et al., 2001) The antioxidant effect is dose-dependent, with concentrations between 1-50 ug/ml inhibiting lipid peroxidation of rat brain cortex mitochondria and 1-100 ug/ml increasing the survival rate of phaeochromocytoma cells when facing the reactive oxygen species (ROS). (Benedí et al., 2004) Such high antioxidant activity is due to the flavonoids, which account for 10% of total extract volume. (Sagrattini et al., 2008)

Anti-inflammatory activity is also present when using HP extracts. This particular activity was investigated in the mouse ear model, with lipophilic extract of HP containing 27% of hyperforin and 5% of adhyperforin and other extracts and isolated compounds. The lipophilic extract was the most successful one at reducing swelling and inflammation; therefore, hyperforin must be regarded as the essential anti-inflammatory component of HP. (Sosa et al., 2007)

As for wound healing activity, for example, using the HP oil extract combined with ethanol extract can shorten wound closure time by 50%, compared control group. (Çobanoğlu and Şendir, 2020; Lavagna et al., 2001; Süntar et al., 2010)

At last, the antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, viruses, and fungi. The antibacterial agents were identified as hypericin and hyperforin. (Cecchini et al., 2007) In the case of bacteria, it possesses proven activity against *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, and others. (see section 4)

Nevertheless, St John's wort is most known for its anti-depressive properties and has been used for this purpose since ancient Greece. (Bongiorno, 2020b) The use of HP ethanol extract (~~called Floristen~~) was claimed to improve cognitive function in patients who had dementia due to an arteriosclerotic incident. (Pavlovský et al., 1979)

Its anti-depressive activity is comparable to the most often used SSRI antidepressant drug sertraline in treating mild to moderate depression but with fewer side effects. (Brenner et al., 2000) As side effects are the most common reason for treatment withdrawal with patients treated for depression, HP extract is a potent alternative treatment. (Ng et al., 2017)

4. BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Although later studies indicated that its effect was not clinically significant (see below), hypericin is commonly used to standardize HP extracts. The total amount of hypericins is usually about 0.3% of hydroalcoholic extracts.

Hyperforin is recently becoming the center of attention, even though it was neglected at first due to its light instability. (Erdelmeier, 1998). It has been proved that about 1-5% of hyperforin can be kept in HP extracts. The HP extract has to be appropriately stored, and then it can last for long periods of time. (Chatterjee et al., 1998a, 1998b) It is crucial that the drying and storage conditions of HP extracts are taken into consideration. According to these conditions, hyperforin content can vary in commercial preparations of HP extracts. (Erdelmeier, 1998). These facts must be considered when evaluating clinical and preclinical studies that use different entry materials. The reason is that the actual concentration in HP extracts, oils, or ointments used could be entirely different, which could change the outcome of these studies. (Guilhermano et al., 2003) For example, in the use of Floristen, the results differed significantly during the research, (Lédr et al., 1959; Pavlovský et al., 1979; Rakušan et al., 1954) which the lack of knowledge about hyperforin might have caused.

1. Naphthodianthrones

1.1. Hypericin

Hypericin (4, 5, 7, 4', 5', 7'-hexahydroxy-2', 2'-dimethyl-mes-o-naphthodianthrone-Fig.1) is a natural, rigid, multi-ring aromatic quinone compound found in various wild or cultivated species of the genus *Hypericum* (Knox and Dodge, 1985), insects, and protozoa.

Dark-red spots of hypericin are located in the specialized minute gland, distributed throughout the plant's aerial parts. The hypericin content is variable and depends on the part of the plant, its ontogenetic stage, and which season it is. (Čellárová et al., 1994)

Hypericin can also be found in the integument of Australian Lac insects from the Coccoidea family and the blue-green ciliate called *Stentor coeruleus*, which is a type of protozoa. (Banks et al., 1976)

Buchner's group first isolated hypericin in 1830 (Buchner A., n.d.), and its structure was determined about a century later, in 1953 by Brockmann and Sanne. (Brockmann HH and Sanne W., 1953)

Hypericin is very lipophilic in nature, having a molecular weight of 504 g/mol. It is soluble in non-polar organic solvents, aqueous solutions, and oil. Hypericin's UV absorption bands are at 591 and 510 nm. (Huang et al., 2014)

There are various methods for hypericin analysis, including ultraviolet-visible spectroscopy (UV-VIS), chemiluminescence-flow injection analysis (CL-FIA), thin-layer chromatography (TLC), and high-performance liquid chromatography (HPLC), which is the most used method for analyzing hypericin. (Zhang et al., 2022)

The most common extraction method is solvent extraction, using methanol, ethanol, and polar alcohols. Enzyme-assisted extraction can be used for higher yield and microwave-assisted extraction for a shorter extraction time. (Zhang et al., 2022)

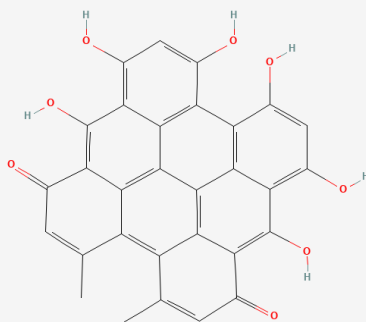


Fig 1 Hypericin structure

2. Phloroglucinols

2.1. Hyperforin

Hyperforin is a bicyclic polyprenylated acylphloroglucinol derivative (Fig.2), which exhibits antidepressant activity, antibiotic activity against gram-positive bacteria, and antitumoral activities in vivo. It mainly accumulates in pistils and fruits, which probably has a defensive function. (Beerhues, 2006)

In 1971 Russian scientific group postulated that an antibiotic should be contained in HP and named it hyperforin. (Gurevich et al., 1971) Hyperforin was first isolated and structurally described in 1975 by Bystrov and his co-workers. (Bystrov et al., 1975)

It is poorly stable when exposed to light or oxygen; therefore, it was long neglected as a pharmaceutically relevant St. John's wort constituent. (Chatterjee et al., 1998b) The majority of commercially prepared extracts of *Hypericum perforatum* contain about 1-5% of hyperforin. (F. Lang et al., 2002)

Hypericum perforatum was believed to be the only species in genus *Hypericum* to contain hyperforin as a quantitatively significant constituent. (Smelcerovic and Spiteller, 2006; Umek et al., 1999) However, Smelcerovic and Spiteller found more species (*H. barbatum*, *H. richer*, *H. rumeliacum*, *H. maculatum*, *H. tetrapterum*, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. olympicum*) to contain hyperforin, although in lower concentrations. The highest concentration of hyperforin in *H. perforatum* was recorded in

flowers and fruits. The hyperforin content varies through the plant's ontogenesis; for example, it is 2.5% in young buds, but in unripe fruit, it is 8.5%. (Tekel'ová et al., 2000)

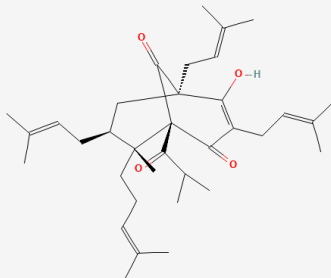


Fig 2 Hyperforin structure

3. Flavonoids

Flavonoids (Fig.3) are a group of secondary plant metabolites with a phenylbenzopyran chemical structure. (Grotewold, 2006) The general chemical structure contains a C15 skeleton joined to a chroman ring, which in turn bears an aromatic ring at C-2, C-3, or C-4. The heterocyclic benzopyran ring is known as the "C" ring, the fused aromatic ring as "A" ring, and the phenyl constituent as the "B" ring. (Hemingway, 1998)

3.1. Flavonols and flavan-3-ols

Hypericum perforatum is very rich in flavonols, which are thought to play an important role as co-effectors for improving the pharmaceutical function of hypericin. (Jürgenliemk and Nahrstedt, 2002)

The flavonols present are glycosides or quercetin. (Tatsis et al., 2007) The specific compounds are quercetin-3-O-rutinoside (rutin), myricitrin, quercetin-3-O-galactoside (hyperosid), quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin) and quercetrin. (Fig.3)

Myricitrin, quercetin, kaempferol, and apigenin were found to have an inhibitory effect on EROD activity in prostate cancer cells. (Chaudhary and Willett, 2006)

Widely studied flavan-3-ols found in HP are catechins, which have been reported to possess antioxidant, anticarcinogen, cardiopreventive, antimicrobial, anti-viral, and neuroprotective agents. (Aron and Kennedy, 2008)

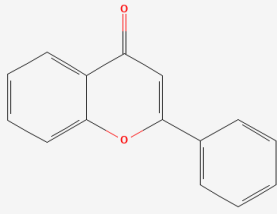
3.2. Biflavonoids

Biflavonoids are very common in plants, as they are claimed to have protective activity against UV radiation, predators, insects, and fungi. (Gontijo 2017) The two biflavonoids detected in HP are biapigenin and amentoflavone (Chaudhary and Willett, 2006). The amount of biapigenin is about ten-fold higher than that of amentoflavone. (Napoli et al., 2018) Amentoflavone, although, showed significant antidepressant action. (Yu et al., 2017)

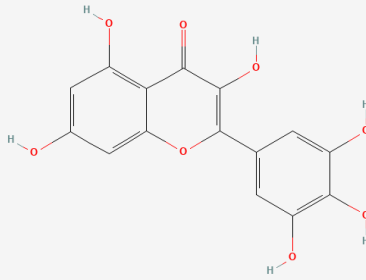
3.3. Phenolic acids

Hypericum perforatum contains the highest amount of phenolic acids amongst *Hypericum* species. (Hazler Pilepic et al., 2013) Analytical studies' most detected cinnamic acids were 3-O-caffeoylquinic acid, p-coumaroylquinic acid, 5-O-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), and p-coumaric acid. (Napoli et

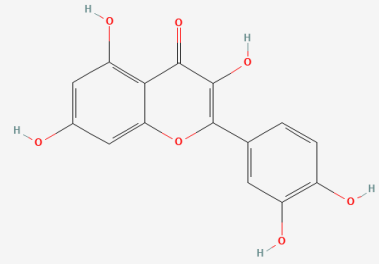
al., 2018)



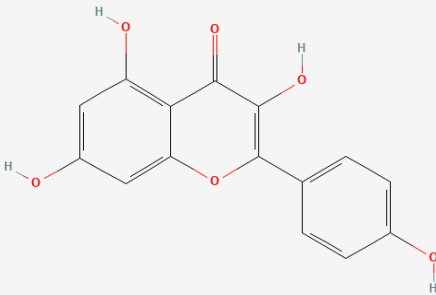
Flavone



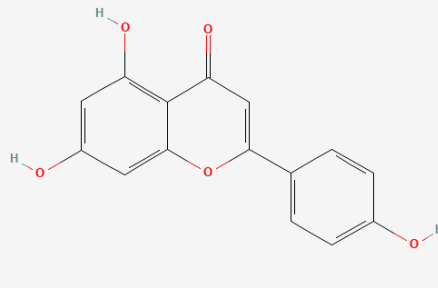
Myricetin



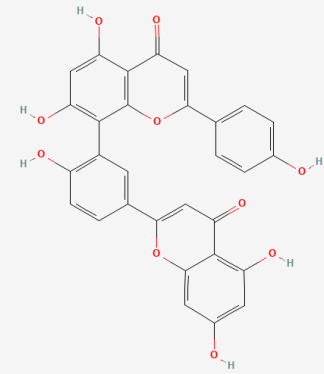
Quercetin



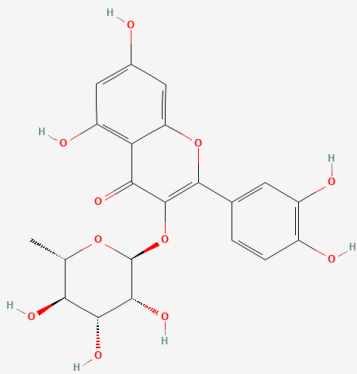
Kaempferol



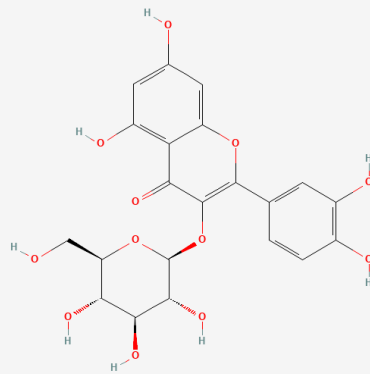
Apigenin



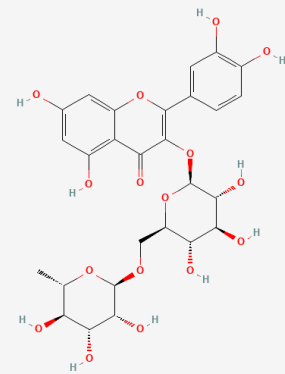
Amentoflavone



Quercitrin



Isoquercitrin



Rutin

Fig.3 Chemical structure of flavonoids found in HP

5. ANTIBACTERIAL PROPERTIES

It is long known that mostly hyperforin accounts for HP's antibacterial properties (Gurevich et al., 1971). There also have been individual reports of effective Treatment for bacterial skin infections with hypericin-containing ointments directly related to the simultaneous effect of solar radiation. This supports the current use of hypericin in antimicrobial Photodynamic therapy (aPDT), where it exerts strong antibacterial properties. (Plenagl et al., 2019) Neuwald and Hagenstrom examined St. John's Wort and found petroleum ether and acetone extracts of flowering herb and dry fruits to be active against Staphylococcus aureus. They did not know the exact antibacterial agent, but they already knew it was unrelated to the essential oils, tanning agents, or hypericin. (Neuwald F. and Hagenström U., 1954) Gained and Ganjoo later confirmed these results. (Gained KN and Ganjoo TN, 1959)

Acetone extract of HP has a long history of treating bacterial infections in Russia. This extract is called Novoimanine, and Russian scientists also characterized hyperforin as the antibacterial principle. However, they also found that hyperforin is effective against G+ bacteria but less effective against G- bacteria. (Derbentseva N.A. and Robinovich A.S., 1968). In the year 1999, Schempp reported for the first time the effectiveness of hyperforin against methicillin and penicillin-resistant strains of Staphylococcus aureus with a MIC value of 1.0 ug/ml. (Schempp et al., 1999) Such activity was confirmed in 2013 by Schiavone et al., where they tested hyperforin salt and its hydrogenated derivative against many strains of MRSA along with the antibiotic Norfloxacin. The MIC (Minimum Inhibitory Concentration) values measured in suspension varied from 0.5 ug/ml – 4 ug/ml, where hydrogenation of hyperforin caused only a slight increase in this value. (Fig. 5) This fact is surprising considering the different chemical structures and reactivity of these two compounds. Next, they measured MBIC (Minimum Biofilm Inhibitory Concentration), which showed that the hydrogenated compound is more effective against planktonic and biofilm cultures (fig. 6). This result might be caused by the fact that hydrogenated hyperforin was more stable in oxygenated conditions. (Schiavone et al., 2013). In the medical, food, and textile industry, microbial accumulation in used materials is a common problem and can lead to serious diseases, infections, and more uncontrollable problems. Many materials used in mentioned industries have microorganism-sensitive surfaces and cause colonization and biofilm formation. (Nazlı et al., 2019) Bacteria in biofilm use a variety of mechanisms, and as a result, they can be 10 to 1000 times more resistant than their planktonic counterparts. (Olson et al., 2011) This fact, along with reduced antibiotic penetration in biofilms (Stewart, 2002), calls for alternative material treatments.

Bacterial strain	1			2		
	MIC ug/ml	MBIC ug/ml	%	MIC ug/ml	MBIC ug/ml	%
S. aureus ATCC 29213	1	25	45	4	150	52
S. aureus ATCC 43300	1	25	21	4	37.5	47
E. faecalis ATCC 29212	1	25	34	4	37.5	45
S. aureus Ig5	1	25	33	4	37.5	52
E. coli ATCC 25922	R			R		

Figure 6. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) Results of hyperforin salt (1) and hydrogenated hyperforin salt (2) against Bacterial Strains tested in biofilms (Schiavone et al., 2013)

Antibiotic	Organism	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Amoxicillin	0.125	32
Ceftiofur	2	0.125
Kanamycin	8	2
Colistin Sulfate	1	
Doxycycline	32	32
A-Tartrate	2	128
Florfenicol	64	2
Sulfadimidine	8	16
Enrofloxacin	0.5	16
Rifampicin	8	4
Berberine	128	512
Lincomycin	1	512

Figure 4. MIC values of different antibiotics against *S. aureus* and *E. coli*

Bacteria	1	2	Nor
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1	4	2
<i>S. aureus</i> ATC 25923	1	4	2
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	1	4	4
<i>S. aureus</i> EMRSA-15	2		0.5
<i>S. aureus</i> SA1199B	2	4	32
<i>S. aureus</i> XU212	0.5	1	4
<i>S. aureus</i> RN 4220		1	1
<i>S. aureus</i> Ig5	1	4	2
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1	4	4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	R	R	0.12

Figure 5. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Results of hyperforin salt (1), hydrogenated hyperforin salt (2), and Norfloxacin (Nor) against Bacterial Strains tested in Suspension (Schiavone et al., 2013)

Antimicrobial materials have an essential role in combating this issue, which causes many diseases resulting in deaths every year. This study focused on incorporating Hypericum perforatum extract in polyurethane material. The antimicrobial activity of the extract itself was confirmed against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*, which was inhibited the most. The combination of HPE and polyurethane material resulted in a 92.85% decrease in *S. aureus* biofilm formation, and this result was revealed using Scanning Electron Microscopy (SEM). (Nazlı et al., 2019)

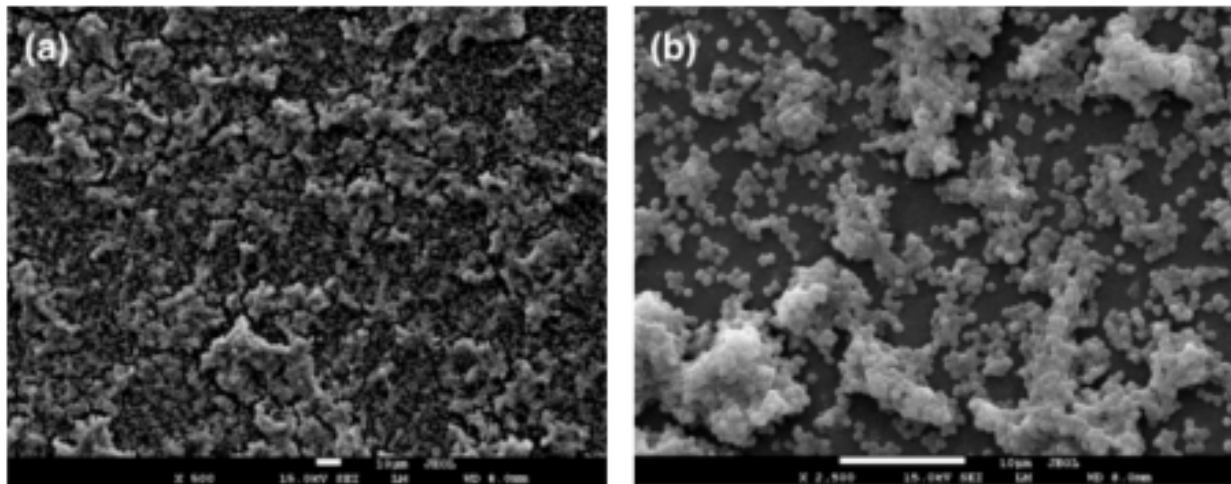


Fig. 4. SEM images of control group discs. Magnifications are: (a) ×500, (b) ×2500.

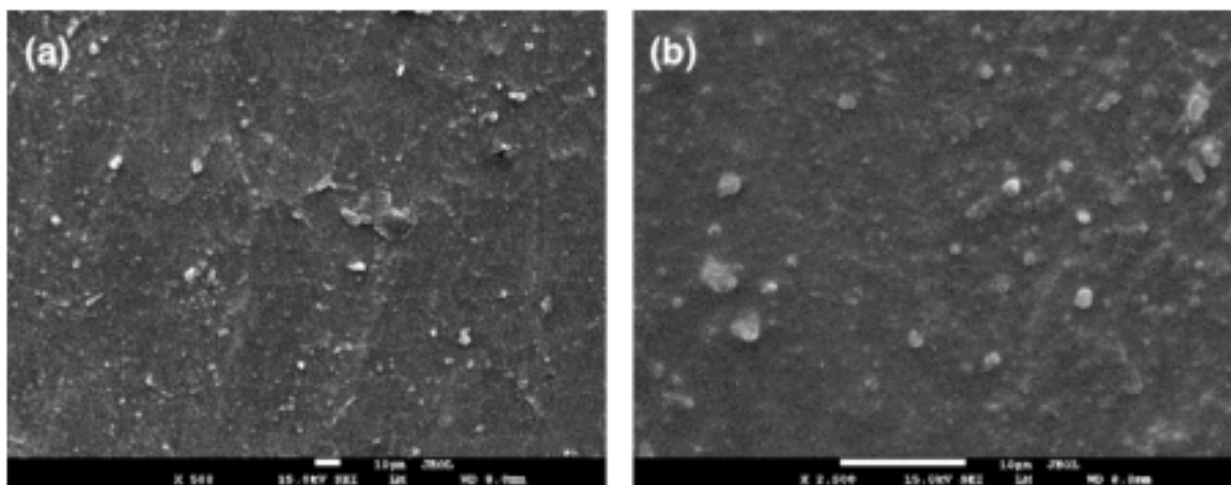


Fig. 7. SEM images of polyurethane discs incorporated with HP extract. Magnifications are: a) x500, b) x 2500 (Nazlı et al., 2019)

At last, in Turkey, preparation from HP is used to treat gastric ailments, including stomach aches and peptic ulcers. As the role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of peptic ulcers is well established, the potency of butanol HP extract was tested against nine strains of this bacteria. The MIC value exhibited was between 15.6 – 31.2 ug/ml; in comparison, standard antibiotic ofloxacin has MIC values between 0.49-0.98 ug/ml. (Yeşilada et al., 1999)

6. ANTI-VIRAL PROPERTIES

Many studies show the plant *Hypericum perforatum* L. and its constituents hypericin and pseudohypericin have anti-viral activity (Andersen et al., 1991; Serkedjieva et al., 1990; Takahashi et al., 1989; Tang et al., 1990) and also considerable action against CMV and HIV (Aryanpour et al., 2021; Axarlis et al., 1998; Degar et al., 1992; Lavie et al., 1990; Meruelo et al., 1988; Sandstrom E., 1989)

The anti-viral action of hypericin and pseudohypericin have been studied on lipid enveloped and non-enveloped DNA and RNA viruses (Aryanpour et al., 2021; Lavie et al., 1990). The anti-viral action is enhanced under the presence of ultraviolet light (Hudson et al., 1991).

The novel human coronavirus, which first emerged in December 2019 in Wuhan, China, has spread rapidly worldwide over the last two years. However, there is no known specific effective treatment for COVID-19. The most often used agents for this disease are chloroquine, hydroxychloroquine, lopinavir/ritonavir, favipiravir, and remdesivir. Therefore new ways of treating covid are widely searched for these days. This study focused on finding the most stable complex formation with COVID-19 main protease in all HP metabolites. Using the method of molecular docking, hypericin and isohypericin were identified as forming the most stable complex.

According to the results of further investigation, it has been shown that *H. perforatum* has the potential to be an effective drug against COVID-19. (Yalçın et al., 2021) Another study showed that hypericin can inhibit the SARS-Cov-2 main protease, a critical anti-viral target. (Pitsillou et al., 2020)

It is necessary to carry out the clinical reliability studies, and if there is a correlation with the results mentioned above, HP can be used for the Treatment of COVID-19.

Novel duck reovirus (NDRV) disease is an infectious disease for poultry with no effective treatment. As in the previous case of ATL, effective therapy for NDRV is urgently needed. In this study, hypericin was loaded into graphene-oxide, which has a high drug-loading capacity and low cytotoxicity. Graphene-oxide and hypericin complex showed a dose-dependent inhibition of NDVR replication and prolonged survival time of infected individuals, which implicates activity *in vitro* and *in vivo*. (Du et al., 2019)

7. ANTIFUNGAL PROPERTIES

Antifungal properties are a bit controversial. For example, we take *Candida albicans*; some studies claimed HP to have inhibitory activity against this fungi (Gurevich et al., 1971), some disprove this. (Gudzic B. et al., 1997)

In a study using essential oils from different herbs (*Myrrhis odorata* (L.) Scop, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench and HP), HP showed antifungal activity against *A.noger*, *A. flavus*, *C. cladosporioides*, *P. funiculosum*, *T. viride* but the MIC and MFC (Minimal Fungicidal Concentration) values were relatively high. (Fig. 8) (Rančić et al., 2005)

Funghi	MIC (ug/ml)	Hypericum Perforatum	MFC (ug/ml)
<i>A. niger</i>	15		30
<i>A. flavus</i>	15		30
<i>C. cladosporioides</i>	15		15
<i>P. funiculosum</i>	15		30
<i>T. viride</i>	15		30

Fig.8 MIC and MFC values of essential oil from *Hypericum perforatum* L.

The antifungal activity can be magnified using Hypericin Photodynamic therapy (HypPDT). (See chapter 9)

8. WOUND HEALING PROPERTIES

Wounds are described as damage or disruption of the standard anatomical structure. Two types of wounds are defined: those with tissue loss and those without tissue loss. (Atiyeh et al., 2002) Depending on the type of wound, the process of healing differs. This process occurs by a complex series of events, including the hemostasis phase, inflammatory reaction, cell proliferation, synthesis of the extracellular matrix proteins, connective tissue remodeling, and collagen deposition. (Gonzalez et al., 2016; Velnar et al., 2009)

In case of a significant tissue loss, the wound should be immediately covered with an antimicrobial dressing material to accelerate the healing process and prevent infection. (Bölgen et al., 2020) Such dressing was made using chitosan cryogels with incorporated HP infused oil. The antimicrobial agent is highly needed in every wound dressing as the wound bed provides a favorable environment for microbial growth. (Singh and Dhiman, 2015)

The physical characteristics of these cryogels showed potential to be used as wound dressing materials, especially for deep cavity wounds with high exudate levels and long-term healing. According to the results of this study, this material seems very promising, especially for diabetic wounds, due to HP's proven healing effects on such wounds. (Bölgen et al., 2020)

Diabetic wounds have a slow healing process and can therefore be easily infected. Additional ways of treating such wounds are needed, and *Hypericum perforatum* could provide such a way. Another study aimed to load *Aloe Vera* (AV) and *Hypericum perforatum* oil (HPO) with PCL/Ge (Poly (ϵ -caprolactone)/Gelatine) polymeric biodegradable by electrospinning method into nanofiber dressings.

The results were then obtained on an experimental diabetic wound model, and changes in the amount and chemical structure of phospholipids, proteins, and lipids were investigated using Fourier transform infrared (FTIR) analysis. Also, to evaluate the biological events associated with the wound repair process, the total antioxidant status (TAS), total oxidant level (TOS), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels. TOS levels increased in DM groups and decreased in the AV and HPO groups. The oxidative stress index decreased, and the TNF- α level increased in the HPO group. FTIR spectra testing showed changes in the phospholipids,

proteins, and carbon chain of lipids in the whole blood and serum of DM rats. Changes in the phospholipids, proteins, and carbon chain of lipids were detected by FTIR spectra analysis of blood and serum of DM rats.

DM rats treated with AV and HP oil showed a significant return of serum and blood values to the control group. HP oil showed higher similarity to the control group, suggesting it will be better for treating diabetic wounds than AV oil. (Guleken et al., 2021)

The next type of wounds treated with HP extracts, ointments, or oils, are pressure sores. A pressure sore (Decubitus ulcer) is a severely painful problem that is most common amongst patients in intensive care units (ICU). The incidence of pressure sores is between 10% and 23% in hospitals, but it increases up to 56% in ICU units. (Ersoy et al., 2013) Risk factors are malnutrition, advanced age, metabolic problems, hypotension, reduced mobility, and preexisting health issues. (Yücel et al., 2017)

An experiment was performed to evaluate possible gastro-protective effects that HP leaf extract may exert. This was tested on ethanol-induced gastric ulcers in rats and then compared to esomeprazole, a drug of choice for stomach ulcers.

The mechanism of action was performed by the Auto Dock Vina method. Ethanol ingestion upregulated the inflammatory reaction as demonstrated by the rise of gastric proinflammatory TNF- α with a decline of IL-1 β . The presence of alkaloids, flavonoids, tannins, phenols, steroids, and saponins was confirmed by HP analysis. The high dose of the HP group shows mild injuries to the gastric mucosa, which is comparable to the esomeprazole group. In contrast, severe damages are observed in the gastric mucosa of the ulcer control rats group. In silico results revealed that Amentoflavone and Quercitrin have the highest affinity and good interactions with H β /K β ATPase α active site. This study showed that HP extract is nearly as effective as esomeprazole to prevent ethanol-induced gastric ulcers, and it has more binding affinity than esomeprazole to gastric proton pumps. (Sofi et al., 2020)

HP oil preparation is also very often used to treat several types of wounds. Research aimed to accelerate the healing process of women's episiotomy wounds and used an HP oil against a saline solution as a control. The examination showed that HP oil decreased the redness, edema, ecchymosis, and discharge in the episiotomy wounds. The women using HP oil reported less pain than the control group. In conclusion, HP oil may be an effective wound care product that may improve the healing of episiotomy wounds. (Çobanoğlu and Şendir, 2020)

Another use of HP oil is for scars and incisions. Lavagna et al. Aimed to test a mixture of HP and *Calendula* oil on surgical wounds in childbirth with cesarean section. Better results were obtained for this focus group than for the control group. The surgical wound's SPA area was reduced by approximately by 37.6% compared to 15.83% obtained in the control group. (Lavagna et al., 2001)

9. PDT

Photodynamic therapy (PDT) is a treatment method using a substance called a photosensitizer, which after irradiation by light of the appropriate wavelength, interacts with biomolecules or molecular oxygen, resulting in reactive species production. So far, PDT has been approved for several indications, including cancerous diseases, but it is not yet part of standard clinical practice, even though it has been through clinical trials for more than 30 years now. (Ryu et al., 2016)

For this review, I will most importantly focus on aPDT, but I will also mention the use of hypPDT in cancer treatment, as it underlines the meaning of these discoveries and is based on the exact mechanism.

1. ANTIMICROBIAL PDT

The most promising and effective seems to be antimicrobial photodynamic therapy (APDT). APDT involves killing microorganisms with light in the presence of a photosensitizer. The principle of this technique is the excitation of photosensitizer using light of appropriate wavelength, which in aerobic conditions converts the sensitizer to its photoactive triplet state, which reacts either with a local substrate (Type I reaction) to form cytotoxic radicals, or with molecular oxygen (Type II reaction) to produce cytotoxic singlet oxygen and free radicals. (Zeina et al., 2003)

Hypericin is a highly potent photosensitizer, with several clinical studies showing high phototoxicity towards gram-positive bacteria. Nevertheless, as hypericin is highly lipophilic, it makes the application in daily clinical practice very limited and decreases its medicinal value. A technique called "Liposomal encapsulation" has the potential to overcome such issues and make hypericin available for daily clinical practice. This study aimed to improve the photodynamic efficiency of previously used carriers, specifically by entrapping hypericin in the aqueous compartment of the liposomes. To achieve this goal, water-soluble hypericin complex and (2-hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin (HypHPβCD) were prepared, and after encapsulation in liposomes (DSPC and DSPC/DPPC/DSPE-PEG) with dehydration-rehydration vesicle (DRV) method, physicochemical measurements were carried out. As a result, 4.1 log reduction of growth of *Staphylococcus saprophyticus subsp. bovis* with DSPC liposomes and 2.6 reductions with DSPC/DPPC/DSPE-PEG liposomes was achieved. HypHPβCD even exhibited total eradication. (Plenagl et al., 2019)

For years now, it has been known that the growing resistance of bacteria against widely used antibiotics will cause a great struggle in the future. Therefore alternative sources with antibacterial activity need to be further researched. As *Hypericum perforatum* is an anti-inflammatory agent, it has a great perspective of use against antibiotic-resistant infections. So far, many studies have investigated the antibiotic-like properties of HP. (Derbentseva N.A. and Robinovich A.S., 1968; Schempp et al., 1999; Schiavone et al., 2013) The reactive oxygen species created have cytotoxic effects and can induce cell death either by necrosis or apoptosis. (Zeina et al., 2003)

Due to this issue, the use of PDT is gaining increasing popularity in dentistry on the Treatment of in situ oral biofilms. HP extract was tested against oral biofilm-forming bacteria (*S. sobrinus*, *L. plantarum*, *S. mutans*, and *E. faecalis*), and the MIC values varied from 8 mg/ml to 32 mg/ml. (Süntar et al., 2016)

It was also shown that HP extract had a significant photoactivation potential in PDT with visible light and water-filtered infrared light at a 32mg/ml concentration. As a result, 100% of all biofilms were eradicated. (Vollmer et al., 2019)

It was proven that aPDT using hypericin as a photosensitizer could be a potent alternative treatment for oral biofilms.

The study made by Zeina et al. addresses one of the problems that surround this relatively new technique. If used in vivo, there is a possibility of destroying the host cells. This study focused on keratinocytes as PDT for skin anomalies is already widely used. The results showed that aPDT of seven log cycles (sufficient to microbe reduction) has a little cytotoxic effect on keratinocytes, implying that this method may be an alternative or adjuvant to antibiotics and antiseptics for microbe-associated skin disease. (Zeina et al., 2003)

A skin condition called acne vulgaris is one of the most recurring skin conditions, which causes great harm to the physical and even psychological wellbeing of patients. A study conducted by Barroso et al. examined the effects of APDT on *Propionibacterium acnes* biofilms. They created in vitro biofilms in anaerobic conditions and applied different concentrations of hypericin. The concentrations used were 5 and 15 µg/l and 0.9% sterile saline solution for control. Samples were irradiated by light energies 3 and 5 J (660 nm, continuous output, 100 mW, 30 and 50 s, and 100 J/cm² and 166 J/cm², respectively). Then the CFU counting was made, and it showed a significant reduction of bacterial count in all samples. The most significant inhibition was seen in the case of 15 µg/l hypericin concentration, wherein the case of 3 J energy biofilm was reduced by 14.1%, and in the case of 5J energy, it even was 27.9%. (Barroso et al., 2021)

Another pressing health issue is superficial fungal infections (Lipozenčić et al., 2002), caused by dermatophyte fungi. (Teklebirhan and Bitew, 2015) These fungi consume keratin protein as nutrition, which makes the skin, hair, and nails the primary site of infection. (Hayette and Sacheli, 2015) One such disease is tinea capitis and tinea corporis caused by the fungi *M. canis*. The type of Treatment was PDT with nano encapsulated hypericin in P123. The antifungal susceptibility demonstrated was 6.25 – 12.5 µmol/L P123-Hy-PDT). The Treatment showed neither skin nor biochemical alteration in vivo. After only three treatment sessions, rapid improvement was visible, and after six treatment sessions, the mycological reduction occurred. The findings showed that P123-Hyp-mediated PDT even restored tissue damage caused by infection. (Galinari et al., 2021)

2. HYP PDT FOR CANCER TREATMENT

Hypericin can affect malignant and non-malignant cells on several sub-cellular levels, such as protein synthesis and distribution or mitochondria structure and function. It can be taken by tumor cells in several transport ways, including endocytosis, pinocytosis, or passive diffusion. Then it proceeds to the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus, creating reactive oxygen species (ROS), which cause local damage. The level of this cytotoxic reaction is closely dependent on a light dose and hypericin concentration, and it can result in either apoptosis or necrosis of tumor cells. (Gamasaee et al., 2018; Mühleisen et al., 2017)

Thyroid cancer is the most common type of endocrine system-related cancers. However, even though HYP is a known and potent photosensitizer and its antitumor activity was tested and confirmed many times, the underlying mechanisms of its anticancer effect are not well established yet. Therefore, a study was made to shed light on these mechanisms using the B-CPAP thyroid cancer cell line (PTC -papillary thyroid carcinoma).

This study indicates that HYP is cytotoxic and induces extrinsic caspase-dependent apoptosis in B-CPAP. Further, they found that HYP down-regulated four metastasis-related genes in B-CPAP cells, which reduces the potential of new metastasis being formed. The apoptosis is induced even on very low concentrations, and even higher concentrations of HYP were well tolerated by fibroblast cells. (Piryaei et al., 2021)

Anaplastic thyroid cancer is the most aggressive form of thyroid cancer, which is less responsive to standard Treatment because of its complex characteristics. (Lim et al., 2012) A study in mice reports substantial ROS generation and mitochondrial damage in affected cells when treated with HypPDT. (Kim et al., 2018)

Another cancer type sensitive to HypPDT is colorectal cancer, which is one of the most common human malignancies. The standard Treatment includes chemotherapy, radiotherapy, and surgery. (Aiello et al., 2019) The HypPDT was found to exhibit antitumor activity by inducing inhibition of cell proliferation, ROS generation, apoptosis through caspase -9 and caspase-3, and S phase arrest through CDC25A/CDK2/Cyclin A pathway. (Hu et al., 2021)

According to a study by Kleemann, HypPDT had achieved similar results as in the studies mentioned above when treating melanoma. In this study, all the melanoma cells took hypericin and co-localized to the

endoplasmic reticulum, mitochondria, lysosomes, and melanosomes, but not the nucleus. Light activation of hypericin induced a rapid, extensive modification of the tubular mitochondrial network into a beaded appearance, loss of structural details in ER, and resulting in the loss of hypericin co-localization. The opposite thing happened to lysosomal-related organelles, suggesting a possible connection between these organelles and HypPDT resistance. Specifically, pigment-carrying organelles called melanosomes have recently been implicated in drug trapping, chemotherapy, and HypPDT resistance.

Nevertheless, HypPDT was able to kill both unpigmented and pigmented melanoma cells. The Treatment resulted in extrinsic and intrinsic caspase-dependent apoptosis and caspase-independent apoptosis, not including apoptosis-inducing factors. (Kleemann et al., 2014)

HypPDT is a promising new technique, though it is not without any side effects as hypericin is a potent photosensitizer after its intravenous application, and systemic distribution patients have to avoid light to reduce the risk of photosensitive reaction. A study was made that aims to control the localization of HYP during HypPDT via Magnetic Drug Targeting (MDT). HYP particles were loaded on superparamagnetic iron oxide nanoparticles and then guided to the desired spot using an external magnetic field. Results of this study were promising, even though the uptake of SPION/Hyp complex was slower than of hypericin alone. This could be handled by investigating the connection between hypericin concentration and light illumination time and finding the best ratio. (Mühleisen et al., 2017)

The mechanism of HypPDT through the creation of ROS and induction of apoptotic pathways, via both extrinsic and intrinsic caspase-dependent ways along with suppression of metastasis-related or viral transcription, was also studied by Barathan and Xu. (Barathan et al., 2013; Xu et al., 2019).

All these studies establish a general understanding of this treatment technique, but more studies need to be done to clarify differences observed in the obtained results.

10. DISCUSSION/CONCLUSION

As stated above, *Hypericum perforatum* L. exerts strong activity against many types of pathogens. In the age of bacterial resistance against antibiotics, alternative treatment methods will be the center of many studies. Future studies should focus on the functional mechanism of all metabolites together {Citation}, as well as on specific molecules such as hyperforin or hypericin. Safety and standardization of clinical use should also be an object of future research.

Usage of such findings is extensive, and the end product will reflect the focus group. As provided in this review, exceptional activities of this flower can be used in stomatology, medicine, pharmaceutical equipment, and materials.

HP extract usage is not without side effects, though, as many people might believe because it is an herb extract. HP can interact with some widely used drugs. It should be known that using HP for Treatment can cause the failure of Ethinyl estradiol contraceptives due to inducing its metabolism. (Henderson et al., 2002; Schwarz et al., 2003) Research also suggests that long-term administration of St. John's wort can result in diminished clinical effectiveness or increased dosage requirements for all CYP 3A4 substrates, representing about 50% of all marketed medication. (Markowitz et al., 2003)

HP treatment should not be combined with any type of pharmaceutical anti-depressives (unless advised otherwise by a qualified medical professional) as it could result in serotonin syndrome. (Bent, 2008; Borrelli

and Izzo, 2009) The usage of herbal products concomitantly with conventional medicine is a widespread problem that requires further attention from medical professionals.

The photosensitive reaction seems to be the most feared side effect of HP, but it has been found that the doses used in the Treatment of depression are not high enough to cause such a reaction. (Bilia et al., 2002) In the case of HypPDT treatment, this is still a concern, and it requires further attention and alternative solutions., like MDT, for example.

We have provided evidence, that could explain inconsistency of statements about clinical effect of HP based medicine. This explanation is applicable for trials made in 1960s by Eko but also to other more current case studies. Instability of metabolites, especially hyperforin is an issue which should be addressed in the future. It also offers a new perspective in evaluating natural medicine in general, as many products might be facing the same issue.

11.ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the financial support provided by the Floristen project of EkoRTN s.r.o., Bohumír Rakušan, and Mgr. Jarmila Helešicová