

RAPPORT

Til [redacted] (Fødevarestyrelsen)

Vedr. Opdateret risikovurdering af *Hypericum perforatum* L.

Fra [redacted] (DTU Fødevareinstituttet)
[redacted] (DTU Fødevareinstituttet)

14 januar 2019

DTU DOC nr. 17/18844

Opdateret toksikologisk vurdering af *Hypericum perforatum* L.

Forespørgsel

Fødevarestyrelsen Kemikontor har d.17/5 - 2017 bedt om en opdateret sundhedsmæssig vurdering af de overjordiske dele af *Hypericum perforatum* (prikbladet perikon) i forbindelse med plantelisteprojektet vedr. brug af planter som egentlige fødevarer.

Konklusion

Det er velkendt, at mennesker, der indtager *H. perforatum* og samtidig udsættes for sollys kan udvikle, fotosensibilisering, der viser sig ved f.eks. rødmen i huden og kløe. Hvor hyppigt det forekommer hos mennesker, der indtager planten eller præparater udvundet heraf er imidlertid ikke afklaret. Der foreligger adskillige dyreforsøg, hvor indtag af *H. perforatum* eller ekstrakter heraf har haft sundskadelige effekter i dyreforsøg f.eks. fotosensibilisering, fototoksiske skader på øjnene samt toksiske effekter under fosterudviklingen og hertil kommer en række mindre velunderbyggede skadevirkninger. Mange af de observerede effekter er relateret til plantens indhold af de fotoaktive stoffer; hypericin, pseudohypericin og deres protoformer protohypericin og protopseudohypericin, der alle tilhører stofgruppen naphthodianthrone, samt hyperforin og adhyperforin, der tilhører stofgruppen phloroglucinoler. Stofferne forekommer i alle plantens overjordiske dele. Det er ikke på baggrund af de nuværende data muligt at fastsætte et tolerabelt dagligt indtag (TDI) for disse stoffer.

Ud fra applicering af Threshold of Toxicological concern, TTC, hvor man tager udgangspunkt i et stofs kemiske struktur, vurderes det, at et indtag på $\leq 1,5 \mu\text{g}$ totalhypericin/dag/kg legemsvægt svarende til $90 \mu\text{g}$ /dag for en voksen (60 kg legemsvægt), formodentlig ikke er sundhedsmæssig betænkeligt. Totalhypericin defineres som den samlede mængde af hypericin og pseudohypericin samt protoformerne af de to stoffer.

Anvendelse af *H. perforatum* til børn, gravide og ammende giver anledning til sundhedsmæssige betænkeligheder, også selv om indtaget af totalhypericin ligger under TTC. Dette skyldes, at de observerede toksiske effekter på fosterudviklingen set i dyreforsøg, ikke ud fra det nuværende vidensgrundlag kan henføres til plantens indhold af naphthodianthrone (e.g. hypericin).

Såfremt urten indtages både som te og kosttilskud bør indtaget reduceres forholdsmæssigt. Kraftig sollyspåvirkning af kroppen og øjnene bør undgås.

Det er velkendt at *H. perforatum* kan interagere med medicin og ændre medicinske effekt af en lang række lægemidler. Det drejer sig f.eks. om blodfortyndende midler (warfarin), p-piller og midler mod HIV.

DTU Fødevareinstituttet vurderer, at det giver anledning til alvorlige sundhedsmæssige betænkeligheder, hvis f.eks. friske blomster eller andre plantedele anvendes som egentlig fødevare f.eks. i salater dels på grund af at der kan ske et stort indtag ved denne form for anvendelse, dels er der risiko for alvorlige tilfælde af interaktion med livsnødvendig medicin, og endelig fordi gravide, ammende og børn let kan blive eksponeret.

En væsentlig usikkerhed i vurderingsrundlaget er at der mangler data til at afklare, hvorvidt naphthodianthrone er fotogenotoksiske *in vivo* som det er tilfældet *in vitro*, og om disse stoffer i sidste ende kan være kræftfremkaldende under lyspåvirkning.

Anvendelse af urten til aromagivende formål i alkoholiske drikkevarer er undtaget fra vurderingen.

Tidligere vurderinger

Prikbladet perikon kom på Drogelisten i år 2000, med en vurderet daglig mængde på 100 mg urt svarende til max. 0,1 mg totalhypericin. Endvidere nævnes at planten kan virke fotosensibiliserende. EUs Videnskabelige Komité for Levnedsmidler (Scientific Committee on Food (SCF)) har vurderet ekstrakter af *H. perforatum* og hypericin, som aromastof (8/1-2002). I denne opdaterede vurdering indgår resultater fra nyere publicerede undersøgelser, men vurderingen er i betydeligt omfang baseret på samme materiale, som indgår i SCF's vurdering.

Fødevarestyrelsens kosttilskudsgruppe sendte den d.11/4-2011 en forespørgsel om, hvorvidt risikovurderingen for *H. perforatum*, (prikbladet perikon) er opdateret således, at den maksimale daglige mængde på 100 µg/per person total hypericin stadig anses for værende gældende. Endvidere blev det spurgt om blomsten også indeholder hypericin. DTU Fødevareinstituttet svarede d. 3/2-2012.

Botanisk information

Det accepterede danske navn for *H. perforatum* er prikbladet perikon men planten omtales også som prikbladet perikum. Planten har været forslået opdelt i tre underarter, men næsten ingen af de videnskabelige artikler der omhandler plantens indholdsstoffer eller toksicitet, referere til disse underarter. Planten er ret almindelig i den danske natur, dog mindre udbredt i dele af Jylland. Den blomstrer ultimo juni til primo september. Den kan forveksles med en række andre perikonarter eks. den almindeligt forekommende kantet perikon (*Hypericum maculatum* Fr.) og den lidt mindre almindelige vinget perikon (*Hypericum tetrapterum* Fr.). Begge arter indeholder ligesom *H. perforatum*, hypericin og pseudo-hypericin (Bagdonaitė et al. 2012; Danmarks fugle og natur 2017; Umek et al. 1999).

Indholdsstoffer

H. perforatum indeholder en række stoffer, hvoraf flere har biologisk aktivitet. Kendte indholdsstoffer omfatter blandt andet (CAS nr. i parenteser):

- Naphthodiantroner: Hypericin (548-04-9), pseudohypericin (55954-61-5), protohypericin (548-03-8) og protopseudohypericin (54328-09-5)
- Phloroglucinoler: Hyperforin (11079-53-1) og adhyperforin (143183-63-5)
- Flavonolglykosider: Quercitrin (522-12-3), isoquercitrin (21637-25-2), hyperosid (482-36-0), rutin (153-18-4), miquelianin (22688-79-5) og aglyconet quercetin (117-39-5)
- Biflavonoider: I3,I18-biapiogenin (101140-06-1) og amentoflavon (1617-53-4)
- Tanniner: Oligomere procyanidiner og deres monomere delelementer såsom catechin (7295-85-4) og epicatechin (490-46-0)
- Xanthoner: Kielcorin (64280-48-4), 1,3,6,7-tetrahydroxyxanthon (3542-72-1) og mangiferin (4773-96-0)
- Phenoler: Klorogensyre (327-97-9), *p*-hydroxybenzoesyre (99-96-7), ferulsyre (1135-24-6), vanillinsyre (121-34-6), kaffesyre (331-39-5) og *p*-kumarinsyre (7400-08-0)

Ud over de oplyste stoffer indeholder planten også sakkariderne fruktose, glukose, sakkarose og laktose samt de organiske syre citronsyre og æblesyre. I ekstrakter er indholdet blevet bestemt til 19-25 % sakkarider, 2-3 % æblesyre og 1-2 % citronsyre (Eggelkraut-Gottanka *et al.* 2002). Planten indeholder ligeledes mellem 0,05-0,9 % af en lang række flygtige olier, hovedsageligt alifatiske hydrokarboner og terpenoider (Barnes *et al.* 2001).

Ovenstående stoffer findes i både blomster og blade bortset fra biflavonoiderne, der kun optræder i blomsten og xanthoner, der hovedsageligt forefindes i rødderne (Butterweck 2009; Nahrstedt & Butterweck 2010). Flavonoiderne rutin, hyperosid, quercitrin og isoquercitrin er findes i den blomstrende urt (Dorossiev 1985; Staffeldt *et al.* 1994) og ekstrakter af urten har et relativt stort indhold af flavonoider med total koncentrationer på 5 – 11 % af ekstraktet (Eggelkraut-Gottanka *et al.* 2002). Methanolekstrakter er mere effektive til at ekstrahere flavonoiderne end vandige ekstrakter (Franchi *et al.* 2011). Planten har også et højt indhold af tanniner, eksempelvis de oligomere procyanidiner, med et indhold på op til 15 % i ekstrakter. Det skal understreges, at der stadig er mange stoffer i *H. perforatum*, der ikke er kemisk identificeret (Barnes *et al.* 2001; Nahrstedt & Butterweck 2010). Det er dog primært hypericin, pseudohypericin og hyperforin der har påkaldt sig toksikologisk interesse og som her vil blive behandlet mere indgående.

Phloroglucinoler: Stofferne hyperforin og adhyperforin findes i både blomst og blade. Hyperforinindholdet er størst i urten ved afslutningen af blomstringen og den begyndende frugtudvikling. Hyperforin er relativt ustabil, så i kommercielle ekstrakter kan indholdet svinge meget, fra 0 til 6 % (Butterweck 2009). Baseret på gennemgang af en række ældre studier rapporterede Barnes *et al.* (2001), at hyperforinindholdet i planten kan svinge fra 2-4,5 % mens indholdet af adhyperforin er målt til 0,2-1,9 % (antageligvis % af den tørrede plante). Lavere indhold af hyperforin er dog rapporteret af Umek *et al.* (1999), der fandt et gennemsnitligt indhold af hyperforin på 1,36 % og 0,60 % i hhv. tørrede blomster og blade. Gray *et al.* (2003) målte indholdet af hyperforin og adhyperforin i blomsten til hhv. 2,74 % og 0,33 % af tørvægten, mens indholdet igen var væsentligt lavere i bladene på hhv. 1,40 % og 0,05 %. I

et nyere studie af Filippini *et al.* (2010), blev det samlede indhold af hyperforin + adhyperforin i en blanding af blade og blomster målt til 1,6 % af tørvægten under knopdannelsen, 2,9 % under blomstringen og 2,2 % ved udvikling af frugter. Rusalepp *et al.* (2017) fandt, at indholdet i en blanding af blade og blomster svingede fra 2,15 % hyperforin og 0,26 % adhyperforin det ene år til 10,60 % hyperforin og 1,31 % adhyperforin det følgende år. Indsamlingen foregik dog ikke ensartet over de to år, så forskellen er ikke nødvendigvis relateret til en årsvariation.

Naphthodianthrone: Indholdet af hypericin angives ofte som totalhypericin, hvilket som minimum er summen af pseudohypericin og hypericin (Barnes *et al.* 2001). *H. perforatum* indeholder dog også protohypericin og protopseudohypericin, protoformerne af pseudohypericin og hypericin. Generelt foreskriver flere analysemetoder derfor, at prøven udsættes for lys for, at disse protoformer kan omdannes til hhv. pseudohypericin og hypericin inden den endelige analyse (Rückert *et al.* 2007). Det vil sige, at indholdet af pseudohypericin og hypericin, hver især reelt dækker over indholdet af to stoffer. I urten er indholdet af pseudohypericin normalt 2 til 4 gange større end indholdet af hypericin og kan i visse ekstrakter være op til 10 gange større (Bagdonaitė *et al.* 2010; Butterweck 2009). Men indholdet af hypericin kan dog også være større end indholdet af pseudohypericin så forholdet mellem de to stoffer kan variere kraftigt (Rusalepp *et al.* 2017). Bagdonaitė *et al.* (2010) opgjorde resultaterne fra deres eget studie samt 7 tidligere europæiske studier, der havde analyseret indholdet af naphthodianthrone i de overjordiske dele af *H. perforatum*. Indholdet af hypericin i disse studier svingede fra 0,01 % af tørstofindholdet til 0,66 %¹, mens indholdet af pseudohypericin varierede fra 0,01 % helt op til 1,6 %².

Både blomster, blade, frugter og blomsterknopper indeholder hypericin og pseudohypericin samt deres protoformer (Gray *et al.* 2003; Pietta *et al.* 2001; Poutaraud *et al.* 2001; Umek *et al.* 1999). I prøver af slovenske planter fandt Umek *et al.* (1999) det højeste indhold i blomsterne, hvor det gennemsnitlige indhold af hypericin + pseudohypericin blev målt til 1,04 % af tørvægten mod 0,42 % i bladene. I et studie af planter høstet forskellige steder i Italien, fandt Pietta *et al.* (2001) at indholdet af hypericin + pseudohypericin i blomsterne svingende fra 0,80 % til 1,65 % af tørvægten, mens det tilsvarende indhold i plantens frugter var lidt lavere (0,30 % – 0,91 %). I et fransk studie af Poutaraud *et al.* (2001) blev indholdet af totalhypericin i blomsterknopper, blomster og blade bestemt til hhv. ~0,6 %, ~0,5 % og ~0,1 % af tørvægten. Endvidere blev det vist, at selve tørringen af planten ikke ændrede indholdet, men lyspåvirkning af frisk plantemateriale førte til en gradvis omsætning af protohypericin og protopseudohypericin til hypericin og pseudohypericin (totalhypericinindholdet var upåvirket). Det blev også vist, at når stofferne er ekstraheret ud af plantematerialet så foregår denne omsætning langt hurtigere.

Filippini *et al.* (2010) analyserede en blanding af tørrede blade og blomster fra italienske planter, som de opdelt i forskellige underarter og fandt et indhold på 0,28-0,48 % af totalhypericin i de blomstrende planter. Blandt to af underarterne var indholdet højest når planterne blomstrede mens det hos en underart lå endnu højere tidligere i vækstfasen, under dannelsen af blomsterknopper (0,75 %). I en af de mest omfattende analyser, der er blevet udført, varierede indholdet af totalhypericin i de overjordiske tørrede dele af australske planter, fra under 0,01 % i løbet af vinteren op til 0,48 % i løbet af sommeren (Southwell & Bourke 2001). Det er dog usikkert i hvilket omfang analysen tog højde for indhold

¹ Maksimumsmåling af enkeltprøve

² Maksimumsmåling af enkeltprøve

af protoformer af hypericin og pseudohypericin. Bagdonaitė *et al.* (2010) fandt et gennemsnitligt indhold på 0,37 % totalhypericin i de tørrede overjordiske dele af litauiske planter, når planterne var ved at danne blomsterknopper. Indholdet steg til 0,74 % i de blomstrende planter. I analyser af de tørrede blade og blomster (blanding) fra estiske planter fandt Rusalepp *et al.* (2017), at det gennemsnitlige indhold af totalhypericin svingede fra 0,26 % til 0,62 % afhængig af årstid og høstlokalitet (alle planter høstet om sommeren).

Som beskrevet er der analytisk ofte ikke skelnet mellem pseudohypericin og hypericin og deres protoformer, særligt i ældre litteratur. Svingende gennemsnitsindhold af protopseudohypericin på 0,02 % og 0,34 % af tørvægten er blevet rapporteret af Rusalepp *et al.* (2017), mens der kun blev fundet spor af protohypericin. Bagdonaitė *et al.* (2010) målte det gennemsnitlige indhold af protopseudohypericin og protohypericin til hhv. 0,025 % og 0,04 % af tørvægten under dannelse af blomsterknopper og 0,061 % og 0,015 % under blomstring.

Generelt kan det konkluderes, at både det totale indhold af hypericin samt de enkelte naphthodianthrone kan være stærkt varierende. Der er rapporteret om gennemsnitlige indhold varierende fra under 0,01 % totalhypericin op til 0,75 % i de tørrede overjordiske plantedele, og endnu højere indhold, hvis der alene ses på indholdet i blomsterne. Hertil kommer at høsttidspunktet også har betydning for indholdet, formodentlig fordi planten befinder sig forskellige udviklingstrin.

Anvendelse

I spiritus har planten længe haft en anvendelse som farve- og smagsgiver eks. i kryddersnaps og vodka (Abbet *et al.* 2014; Brøndegaard 1987; Söukand & Kalle 2016). Men bortset fra denne anvendelse er der ikke ved gennemgang af en række europæiske etnobotaniske værker fundet beskrivelser af, at *H. perforatum* har været anvendt som fødevarer til andet end lidt krydderi og som urtete og selv denne anvendelse er sparsomt dokumenteret (Abbet *et al.* 2014; Brøndegaard 1987; Luczaj 2010, 2012; Luczaj & Szymanski 2007; Menendez-Baceta *et al.* 2012; Passalacqua *et al.* 2006; Pieroni 1999; Simkova & Polesny 2015; Söukand & Kalle 2016). Mere præcist så nævner Brøndegaard (1987), at planten før 1767 i Jylland blev anvendt som smagsgiver til øl og Söukand & Kalle (2016) nævner, at plantens overjordiske dele i Estland stadig finder anvendelse som krydderi i hvide pølser (Weisswurst) og som nydelses-te. Af nyere dato har fortalere for det "Ny Nordiske Køkken" anbefalet, at friske perikonblomster kan anvendes i salater og som krydderiekstrakt (artikel i livsstilsmagasinet Smag og Behag, juni 2011) og på hjemmesiden madbio.com har der siden 2013 ligeledes ligget en video, der opfordrer til anvendelse af planten som salat.

Planten har en lang historisk anvendelse som naturlægemiddel og bruges i vidt omfang stadig den dag i dag (Brøndegaard 1987; Butterweck 2009). Der har tidligere været godkendte naturlægemidler baseret på ekstrakter af urten på det danske marked og som havde et standardiseret indhold af totalhypericin. Tilsvarende produkter sælges stadig i vidt omfang i udlandet.

Forskellige plantedele af *H. perforatum* anvendes i kosttilskud, typisk i form af pulveriseret perikon eller som urtete (hel eller mere eller mindre findelt).

Aktivstoffet hypericin samt planten, når den anvendes til at tilføre aroma i fødevarer, er reguleret efter hhv. annex III og IV i EU forordning 1334/2008. I forordningen er hypericin oplistet under stoffer, der ikke som sådan må tilsættes til fødevarer. Endvidere beskrives, at aromaer og fødevaringredienser med aromagivende egenskaber fremstillet af prikbladet perikon kun må anvendes til fremstilling af alkoholholdige drikkevarer.

Eksposering for hypericin, pseudohypericin og hypericin ved indtagelse som te

Flere fabrikanten anbefaler, at der bruges 2 eller 3 teskefulde tørret *H. perforatum* til en kop te. En teske svarer til 1,8 g urt (Wichtl 2002) og dosen af let vandopløselige stoffer kan således markant overstige det indtag, man normalt er eksponeret for, hvis man indtager urten som kosttilskud, hvor indtaget i Danmark normalt er < 2 g urt/dag (ud fra angivne doseringer af produkter der forhandles i Danmark). Ifølge et forsøg udført med *H. perforatum*-te kunne hypericin og hyperforin, som begge har en meget lav opløselighed i vand, ikke ekstraheres i målbart omfang, selv om der blev brugt kogende vand (Franchi *et al.* 2011). Selv brug af en 40 % ethanolopløsning formåede ikke at ekstrahere stofferne. Niesel & Schilcher (1990) beskriver imidlertid, at de målte den ekstraherede mængde til 5,5 % af hypericin og 22 % af pseudohypericin i te (infusion) ved 10 minutters træketid. Koncentrationen af pseudohypericin kunne forøges (til 50 %), hvis urten blev formalet fint før ekstraktionen med vand. Pseudohypericin indeholder en hydroxygruppe mere end hypericin og er således mere polær, men Scifinder[®] angiver stadig, at stoffet også har en meget lav opløselighed i vand. For både hypericin og hyperforin gælder, at en stigning i pH øger vandopløseligheden. Selv om kemisk rent hypericin og hyperforin er stort set uopløselige i vand, så kan stofferne i planten tænkes at være bundet til andre mere polære stoffer, der kan muliggøre en vis ekstraktion af stofferne med vand. Eksposeringen for hypericin og hyperforin må forventes at være stærkt reduceret, hvis urten indtages som vandig ekstrakt, sammenlignet med at man indtager hele urten. Pseudohypericinindholdet vil også være reduceret om end i mindre omfang end for hypericin og hyperforin.

Toksikokinetik af hypericin, pseudohypericin og hyperforin i mennesker

Den gennemsnitlige halveringstid er blevet bestemt til omkring 28-29 timer for hypericin (doser: 1090, 2180 eller 4360 µg) og 16-19 timer for pseudohypericin (doser: 1720, 3440 eller 6890 µg) af Brockmüller *et al.* (1997), mens Staffeldt *et al.* (1994) bestemte halveringstiden til 25-27 timer for hypericin (doser: 250, 750 eller 1500 µg) og 16-36 timer for pseudohypericin (doser: 526, 1578 eller 3156 µg). Kerb *et al.* (1996) bestemte halveringstider til 25-48 timer ved indtagelse af hypericin (doser: 250, 750 eller 1500 µg, svarende til hhv. 3,3, 10 og 20 µg hypericin/kg legemsvægt) mens halveringstiden for pseudohypericin varierede fra 18-25 timer (doser: 526, 1578 eller 3156 µg, svarende til 7,0 µg, 21,0 og 42,1 µg pseudohypericin/kg legemsvægt) i samme forsøg. I modsætning til Brockmüller *et al.* (1997), var der store individuelle forskelle i halveringstiden (faktor 2-4 forskel fra højest til lavest). I alle tilfælde blev hypericin givet i en tablet indeholdende en specifik *Hypericum*-ekstrakt (LI 160/PK). Kun i studiet af Kerb *et al.* (1996) var der indikationer på, at halveringstiden afhang af doseringen (for hypericin). Resultaterne viser, at der ved daglig dosering vil ske en gradvis forøgelse af hypericinniveauet i kroppen, indtil der opnås ligevægtstilstand ("steady state").

I et forsøg med 12 forsøgspersoner, som indtog 6 x "LI160" tabletter en gang (1800 mg ekstrakt svarende til 5400 µg total hypericin), havde forsøgspersonerne 6 timer efter dosering, i deres serum en gennemsnitlig koncentration af totalhypericin på 43 ng/ml svarende til 0,085 µM. Der var en betydelig variation mellem de 12 forsøgepersoner, hvor koncentrationen svingede fra 19 – 82 ng/ml. Samme forsøg viste, at koncentrationen i væske fra hudblærer (lymfe) forårsaget af dosering med *H. perforatum*-ekstrakt, kun var 5,3 ng/ml, hvilket indikerer en betydeligt lavere hypericineksponering i huden end i blodet (Schempp *et al.* 1999).

Halveringstiden for hyperforin er blevet bestemt til 9 timer ved indtagelse af et specifikt *H. perforatum*-ekstrakt, WS5572 (Biber *et al.* (1998).

Akut, subakut og subkronisk toksicitet

Det er velkendt, at *H. perforatum* er fotosensibiliserende i flere dyrearter herunder mennesker. Effekten er primært blevet tilskrevet hypericin.

Akut forsøg med kalve (Araya & Ford 1981): Kalve på 4-6 måneder (100 til 120 kg), fik en enkelt dosis af tørret *H. perforatum* blad, blomst og stilk på 1, 3 eller 5 g urt/kg legemsvægt oralt med sonde (der var ingen kontrolgruppe). Kalvene, der fik 3 g/kg (fire dyr) eller 5 g/kg (tre dyr), udviklede fotosensibilisering, når de blev eksponeret for sollys. Symptomerne var rastløshed, hudirritation, rødmen af ubehåret hud og hvidbehåret hud samt øjne og ved den højeste koncentration også udsivning af væske og skorpedannelse. Heling af den beskadigede hud tog 30 til 40 dage. Et g urt/kg legemsvægt medførte ingen reaktion. Hypericinindholdet var 124 µg per g tørret plante hvilket medførte, at kalvene, der fik 3 g urt/kg legemsvægt, blev udsat for 372 µg hypericin/kg legemsvægt. Såvel de kalve, der var eksponeret for sollys, som de kalve, der ikke blev eksponeret, havde blød fæces. "No observed adverse effect level" (NOAEL) var 1 g urt/kg legemsvægt svarende til et hypericinindhold på 124 µg hypericin/kg legemsvægt. Bestemmelsen af hypericinindholdet i forsøget er dog blevet kritiseret for kraftigt at underestimere indholdet (Bourke & White (2004). Det er usikkert om indholdet af hypericin referer til indholdet af hypericin eller totalhypericin.

Akut forsøg med får (Bourke 2000): Tre grupper med hver 11 klippede hunfår blev fodret med tørret og formalet *H. perforatum* høstet under blomstringsstadiet. Forsøgsgrupperne blev doseret sekventielt startende med den højeste dosering. De tre grupper blev fodret med hhv. 2,85, 4,0 eller 5,7 g urt/kg legemsvægt. Dette svarede til en dosering på 2650, 3700 eller 5300 µg totalhypericin/kg legemsvægt. Efter dosering blev dyrene udsat for 5 timers sollys pr. dag i 5 dage (kortere hvis der opstod alvorlige symptomer). Kliniske reaktioner og rektaltemperatur blev brugt til at vurdere urtens effekt. Kliniske reaktioner på indtagelse af urten var hudirritation, nervøsitet, nedtrykthed og eller forvirret adfærd, hyperventilering, sidde på halen, diarré, mindre hævelser på den forreste del af hovedet og omkring øjnene og stigende kropstemperatur. De kliniske symptomer bedredes efter 2 timer i skyggen. Alle dyr i de to højt doserede grupper var påvirket i varierende grad. Otte ud af 11 får i den lavest doserede gruppe havde milde kliniske symptomer. Kliniske effekter i fårene kunne ses i op til 4 dage efter dosering. Alle doser gav toksisk effekt i dyrene. LOAEL ("Lowest observed adverse effect level" dvs. den laveste dosis, hvor der ses effekt) var 2,85 g urt/kg legemsvægt (2650 µg totalhypericin/kg legemsvægt).

Akut forsøg med får (Bourke 2003): Undersøgelsen indeholder to forsøg med hhv. 70 hvide hunfår fordelt på 7 grupper med hver 10 dyr/gruppe og 24 hvide hunfår fordelt på 2 grupper med 12 dyr/gruppe. I det første studie blev effekten af *H. perforatum* og sollys vs. skygge testet. I det sidste forsøg blev effekten af klipning af dyrene testet. Fårene blev doseret med sonde med *H. perforatum* fordelt på to doser givet med 5 timers mellemrum. Urten var høstet under blomstringsstadiet, tørret og formalet. Dyr, der blev doseret med *H. perforatum*, fik 3 g urt/kg legemsvægt. Dette svarede til en dosering af 3000 µg totalhypericin/kg legemsvægt. En rektaltemperatur over 40 °C blev brugt som indikator på forgiftning. I de uklippede får havde 26.6 % en temperatur over 40 °C, mens 94 % af de klippede får havde en så høj temperatur. Der var ingen symptomer hos får, der blev holdt i skyggen. Jo finere uld fårene havde, jo bedre var de beskyttet. LOAEL var 3 g urt/kg legemsvægt (3000 µg totalhypericin/kg legemsvægt).

Akut forsøg med stude (Bourke & White 2004): Forsøget blev udført som en serie af seks eksperimenter, hvor der blev anvendt i alt 36 stude. I hvert deleksperiment indgik 12 stude i et 2x2 design med to racer (Hereford (hvid/brun) og Angus (sort) og to dosisniveauer af tørret og formalet *H. perforatum* høstet under blomstringsstadiet. Dosisniveauerne var en enkelt dosering af 0 eller 0,43 g urt/kg legemsvægt (1500 µg totalhypericin/kg legemsvægt). Alle grupper blev udsat for sollys i 5 timer i fem dage undtagen gruppen af Angusstude, hvor kontroldyrene blev holdt i skyggen. Forsøget blev gentaget i alt 6 gange med 2 uger mellem hvert eksperiment, således at alle 36 dyr prøvede de forskellige testkombinationer. Kliniske reaktioner og rektaltemperatur blev brugt til at vurdere urtens effekt. Der blev ikke observeret nogen kliniske effekter eller temperaturstigninger. NOAEL var 0,43 g urt/kg legemsvægt (1500 µg totalhypericin/kg legemsvægt).

Subakut forsøg med får (Kako et al. 1993): Får blev doseret med enten 0, 4, 8, 12 og 16 g frisk *H. perforatum*/kg legemsvægt i 14 dage (3 dyr/doseringsgruppe). Ifølge forfatterne forsvinder 80 % af det hypericinet ved tørring af planten - derfor blev der fodret med den friske urt. Et nyere studie af Poutaraud et al. (2001) peger dog ikke på at der sker en reduktion i indholdet af hypericin under tørring. Alle dyr doseret med planten blev klinisk syge. Symptomerne startede to dage tidligere i de to højeste doserede grupper. For alle dyr var der tillige en forværring af symptomerne i løbet af forsøget. De kliniske symptomerne var lige slemme hos alle dyr, dog steg BUN (blood urea nitrogen) både med tid og dosis. Hudsymptomerne var rødmen på halen og benene, ødem på øjenlågene, samt hævelser af ørerne. I løbet af en uge forværredes symptomerne til savlen, alopeci (hårløshed) i hovedet og omkring øjne og ører, tab af øjenlåg og tabt gennemskinnelighed af hornhinden med blindhed til følge. Endvidere led dyrene af diarré, usædvanlig høj legemstemperatur (hyperthermi), forøget blodtilførsel til slimhinder og abnormt hurtig hjerterytme. Der var stigning i næsten alle målte serumenzymmer, BUN og koncentrationen af natrium, kalium og total bilirubin, mens der var fald i hæmoglobin, røde blodlegemer, "packed cell volume", totalprotein, glukose, kolesterol, triglycerider og alkalisk fosfatase. LOAEL var 4 g frisk urt/kg legemsvægt.

Subkronisk forsøg med rotter (Garrett et al. 1982): Dette forsøg er egentligt en undersøgelse af toksiciteten af engbrandbæger (*Senecio jacobaea* L. synonym *Jacobaea vulgaris* Gaertn.), hvor det blev undersøgt, om giftvirkningen kunne forøges, hvis dyrene samtidig med *J. vulgaris* blev doseret med *H.*

perforatum og andre planter. Der var otte hanrotter i hver gruppe. En gruppe fik ingen af planterne (kontrol), en gruppe fik kun *J. vulgaris*, en gruppe fik kun *H. perforatum* og en gruppe fik både *J. vulgaris* og *H. perforatum*. Indholdet af *H. perforatum* i foderet lå på 10 % de første 10 dage og herefter 5 % på grund af, at foderet smagte rotterne dårligt. Efter 119 dage blev 4 dyr aflivet og undersøgt for forandringer af vævet (ikke nærmere specificeret hvilke væv). De resterende dyr blev aflivet efter 178 dage. Der blev ikke fundet nogen skader på vævet, men de *H. perforatum* doserede rotter havde en lavere tilvækst end kontrollen (6,9 vs. 5,2 g/dag) og dette galt også for de dyr der tillige fik *J. vulgaris* (4,7 vs. 3,7 g/dag). Hypericinindholdet blev ikke målt og dyrene blev ikke udsat for sollys eller anden UV belysning. Den lavere tilvækst kan skyldes at rotterne ikke kunne lide foder med *H. perforatum*.

Subakut forsøg med rotter (Valvassori et al. 2018): I alt 80 voksne Wistar rotter blev ligeligt delt i to grupper med lige mange hanner og hunner. Gruppe 1 (kontrol) fik ikke *H. perforatum* mens gruppe 2 fik 300 mg ekstrakt af *H. perforatum*/kg legemsvægt pr. dag svarende til 960 µg totalhypericin/kg legemsvægt pr. dag. Ekstraktet var opslæmmet i vand lige inden dosering via gavage (kontroller fik kun vand). Forsøgsbetingelserne var, at dyrene havde 12 timers mørke og 12 timers kunstig lys pr. dag. Dyrene blev doseret i 28 dage og 24 timer efter sidste dosering, blev dyrene testet hen over 2 dage. Dyrene blev testet i en række test af deres kognitive evner hvor efter de blev aflivet og en koncentration af en række proteiner/peptider ("glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF)", "ciliary neurotrophic factor, nerve growth factor (NGF)", "brain-derived neurotrophic factor (BDNF)") som er vigtige for udviklingen og vedligeholdelse af nerveceller, blev målt i hippocampus og hjernens frontallap. Der blev ikke fundet nogen statistisk signifikante forskelle i dyrenes bevægelser eller deres interesse for at udforske omgivelserne. I en efterfølgende genkendelsestest kunne det ses at kontrolrotterne genkendte et objekt de tidligere havde set i en træningssession, og derfor brugte mest tid på at undersøge et nyt objekt som rotterne samtidig blev præsenteret for. For de *H. perforatum* doserede hanrotter var denne indlæring væsentligt reduceret sammenlignet med kontroldyrene og for hunrotter var der slet ikke tegn på nogen indlæring (ingen effekt af træning). I en efterfølgende test af dyrenes evne til at huske en ubehagelig oplevelse (stød), så havde de *H. perforatum* doserede dyr en klart dårligere evne til at huske den ubehagelige oplevelse sammenlignet med kontroldyrene. Igen var effekten af *H. perforatum* størst hos hunnerne. Der var dog stor variation mellem dyrene så forskellen var ikke signifikant i alle de tre test dyrene blev udsat for. I hippocampus blev der målt en statistisk signifikant reduktion i koncentrationen af BDNF i de *H. perforatum* doserede dyr af begge køn. Hunrotterne, men ikke hanrotter, havde tillige en reduktion i NGF koncentrationen i hippocampus. Der blev ikke fundet nogen effekt på GDNF og der var ikke nogen forskelle i frontallapen. Hvorvidt de sette effekter var reversible over tid blev ikke undersøgt. Forfatterne vurderer at den kraftigere skadelige effekt på hunnerne kan skyldes at både BDNF og NGF koncentrationen var reduceret i hippocampus hos hunrotterne mens at der hos hanrotterne alene var en reduktion af BDNF. Forfatterne forslår at effekten kan skyldes at *H. perforatum* kan hæmme protein kinase C eftersom dette er blevet set i *in vitro* forsøg.

Der foreligger ingen 28 eller 90 dages forsøg udført efter OECD guidelines eller tilsvarende standarder.

Kliniske studier og fotosensibiliseringsstudier i mennesker

Der er foretaget en del undersøgelser af *Hypericum*-præparaters antidepressive effekt i placebo-kontrollerede forsøg. Ernst *et al.* (1998) har gennemgået 14 af disse undersøgelser for rapporterede bivirkninger af præparaterne (40-120 deltagere). Behandlingstiden varierede fra 4 til 8 uger. Syv studier rapporterede ingen bivirkninger. Blandt de resterende undersøgelser blev der rapporteret enkelte tilfælde af mildere bivirkninger i form af udslæt, kløe, rødmen, træthed, kvalme og søvnbesvær. Ernst *et al.* (1998) sammenlignede også patienter der indtog *Hypericum*-præparater med patienter der fik anden antidepressiv medicin, og her var antallet af bivirkninger generelt færre hos patienter, der fik perikum-præparater. Der var dog flere der rapporterede kløe, uro, søvnløshed og lysfølsomhed ved brug af *Hypericum*-præparater. "WHO's Collaborating centre for international drug monitoring" har indsamlet data omkring mistænkte bivirkninger af *Hypericum*-præparater (tal fra 1998). Den hyppigste bivirkning var allergi/hudproblemer (16 rapporteringer) samt psykiatiske forstyrrelser (15 rapporteringer). Hertil kommer mellem 2-5 rapporteringer hver for forstyrrelser i centralnervesystemet, åndedræt-tet, blodets koagulation, lever/galden og mave-tarmkanalen. En svaghed ved disse oplysninger er, at der ikke er ensartede kvalitetskriterier for indrapportering af bivirkninger til WHO.

Der er udført et større klinisk forsøg samt et langtidsforsøg af indtagelse af *H. perforatum*. Hertil kommer to studier, der specifikt undersøgte *H. perforatum*s fotosensibiliserende effekt. Disse undersøgelser er beskrevet i det følgende.

28 dages klinisk undersøgelse (Woelk *et al.* 1993): 3250 patienter med forskellige grader af depression, blev doseret med 3 x 300 mg *Hypericum*-ekstrakt (benævnt LI 160 eller Jarsin[®]) per dag i 4 uger. Af disse udviklede 79 patienter (2,43 %) bivirkninger fordelt på 17 patienter (0,52 %), der udviklede allergiske reaktioner, hvoraf 0,18 % havde allergi (symptomer ikke yderligere specificeret), 0,18 % fik hududslæt og 0,15 % havde kløe. For de øvrige symptomer gjaldt, at 0,55 % (18 patienter) fik symptomer i mave-tarmkanalen, 0,40 % (13 patienter) rapporterede om træthed, 0,26 % (8 patienter) om uro, 0,15 % (5 patienter) om svimmelhed og 0,55 % (18 patienter) havde andre ikke yderligere specificerede bivirkninger. Otteogfyre patienter (1,45 %) ophørte med behandlingen, heraf havde de 10 allergiske reaktioner (0,3 %), hvor fordelingen af symptomer ikke er yderligere specificeret. Totalt er der 0,8 %, der udviklede "allergiske" symptomer. Forfatterne nævner, at der muligvis her er en sammenhæng med hypericins fotosensibiliserende egenskaber. Fire patienter (0,12 %) stoppede behandlingen før tid på grund af bivirkninger fra mave-tarmkanalen. Staffeldt *et al.* (1994) beskriver, at *Hypericum*-ekstrakten (LI 160, Jarsin[®]) er standardiseret så 1 tablet svarer til 300 mg ekstrakt, der indeholder omkring 900 µg totalhypericin per tablet. Staffeldt *et al.* (1994) egne målinger viste dog 776 µg totalhypericin (250 µg hypericin), mens Brockmöller *et al.* (1997) målte 937 µg totalhypericin (363 µg hypericin). Så der er tilsyneladende en vis variation tablettens indhold af hypericin og totalhypericin. Kvaliteten af undersøgelsen er svækket af, at der ikke var en kontrolgruppe.

Klinisk langtidsforsøg (Brattström 2009): 440 voksne patienter med milde til moderate depressioner blev to gange dagligt doseret med en tablet af produktet "Ze 117", der indeholdt 250 mg *H. perforatum*-ekstrakt per tablet (i alt 500 mg pr. dag) i op til et år. Indholdet af hypericin i 500 mg ekstrakt blev bestemt til 0,033 % (165 µg) og indholdet af pseudohyperin til 0,093 % (465 µg). Hertil kom yderligere 0,073 % (365 µg) af

andre ikke specificerede hypericiner (muligvis protoformer). Produktet har et relativt lavt indhold af hyperforin på < 0,5 % i sammenligning med tilsvarende produkter (Borrelli & Izzo 2009). Ifølge Brattström (2009) havde 49,3 % patienterne rapporteret om skadelige eller ubehagelige virkninger i forbindelse med behandlingen. Af disse effekter blev 6,8 % anset for at være mulige/sandsynlige bivirkninger af doseringen med ekstraktet. Blandt disse 6,8 % var de mest hyppige effekter (rapporteret af 3-4 patienter pr. effekt) udslet på huden, mavesmerter, nældefeber og søvnløshed. Det fremgår ikke hvilke kriterier, der blev anvendt for, at bivirkninger blev tilskrevet dosering med ekstraktet. Der blev udført ikke nærmere specificerede hæmatologiske analyser, klinisk kemi og urinalyser (data ikke vist i artiklen). Hertil kom BMI målinger. Ingen af disse analyser/målinger viste nogle negative effekter af behandlingen. Studiets anvendelighed er alvorligt svækket af, at der ikke var en kontrolgruppe. Forfatteren er udviklingsleder for i, der producerer . Vurderingen af forsøget er dog foretaget af en ekstern gruppe.

Fotosensibiliseringsstudie i mennesker (Brockmöller et al. 1997): Formålet med begge forsøg var at undersøge den fotosensibiliserende effekt af et ekstrakt af *H. perforatum* (LI 160/PK). Første forsøg blev udført som et placebo-kontrolleret randomiseret dobbeltblindet klinisk forsøg. Tretten frivillige mænd fik hver en enkelt dosis på 12 tabletter (hvor hhv. 0, 3, 6 eller 12 var "LI 160" tabletter mens resten var placebo). En tablet indeholdt 300 mg hypericum tørretrakt svarende til 363 µg hypericin og 574 µg pseudohypericin. Dette betød, at de frivillige blev doseret med hhv. 0, 900, 1800 eller 3600 mg ekstrakt svarende til 0, 1089, 2178 og 4356 µg hypericin (0, 2811, 5622 og 11244 µg total hypericin). De frivillige blev før og 4 timer efter dosering udsat for simuleret sollys (UVA- + UVB-bestråling) på en mindre del af ryggen og kun UVA bestråling på en anden del af ryggen. Det fremgår ikke af artiklen hvor velegnet lyskilden er til at generere synligt lys, der ligeledes kan aktivere hypericin. Før dosering med LI 160 blev det målt, hvilken dosis UVA bestråling der skulle til for at fremkalde minimal bruning og hvilken dosis af den simulerede bestråling, der skulle til for at fremkalde minimal hudrødmen. En statistisk signifikant svagt forøget fotosensibilisering blev observeret i den højeste dosis, bestemt som en reduktion i den bestråling, der skulle til for at give minimal bruning efter bestråling med UVA, mens der ingen påvirkning af det bestrålningsniveau, der skulle til for at fremkalde rødmen. Der var ikke effekt ved lavere doseringer af *H. perforatum*.

I det andet forsøg blev 50 frivillige (23 kvinder og 27 mænd) doseret med 600 mg *H. perforatum*-ekstrakt tre gange dagligt svarende til en daglig dosis på 2178 µg hypericin (5622 µg totalhypericin) i 15 dage. Efter de 15 dage blev de frivillige udsat for lysbestråling. Dette førte til en svagt forøget fotosensibilisering både ved simuleret sollys og UVA bestråling. Dette blev bestemt som en reduktion i den minimale strålingsdosis af simuleret sollys, der førte til rødmen, og en reduktion i den minimale UVA bestråling, der førte til bruning af huden. I ingen af studierne kunne der findes en korrelation mellem forøget fotosensibilisering og niveauet af totalhypericin i plasma. Forfatterne bemærker, at eftersom forsøget blev gennemført ved bestråling af et lille stykke hud, kan den fotosensibiliserende effekt muligvis være større, hvis en større del af kroppen bestråles på grund af systemiske effekter af lokalt aktiverede fototoksiske stoffer. Forsøgspersonernes legemsvægt blev ikke opgivet.

Fotosensibiliseringsstudie i mennesker (Schempp et al. 2003): Formålet med begge forsøg var at undersøge den fotosensibiliserende effekt af *H. perforatum* ekstraktet (LI 160/PK). Første forsøg blev udført ved, at 48 mænd blev delt i fire grupper á 12 personer, som hver fik en enkelt dosis af 6 (n=8) eller 12

(n=12) 1" tabletter. Det svarerede til en dosis på hhv. 5400 µg og 10800 µg totalhypericin. De fire grupper blev udsat for enten UVB, UVA, simuleret sollys eller synligt lys. De frivillige blev testet inden dosering på den ene underarm og 6 timer efter dosering på den anden underarm. Der blev foretaget fotometriske målinger for at bestemme graden af bruning (pigmentering) og rødmen på armene som følge af lyspåvirkningen. Indtagelse af *H. perforatum*-ekstraktet førte til en statistisk signifikant ($p=0,0471$) forøget bruning ved bestråling med UVB lys og en grænsende til statistisk signifikant ($p=0,0568$) forøget rødmen ved bestråling med synligt lys. Der blev ikke fundet nogen forskel i effekten ved indtagelse af hhv. 6 eller 12 tabletter. Der var ingen tegn på nogen effekt ved de øvrige typer af bestråling.

Andet forsøg blev udført ved, at 24 mænd blev delt i to grupper á 12 personer, som hver fik 6 " 1" tabletter første dag og herefter 3 tabletter per dag i 7 dage. Det svarer til en dosis på 2700 µg totalhypericin pr. dag. De to grupper blev udsat for enten simuleret sollys eller synligt lys. De frivillige blev testet inden dosering på den ene underarm og 6 timer efter den sidste dosering på den anden underarm. Der var ikke nogen negativ effekt af doseringen. Undersøgelsen var støttet af fabrikanten af " 1".

Fotosensibilisering – *in vitro* forsøg

Den fotosensibiliserende effekt af *H. perforatum* er primært blevet tilskrevet hypericin, men både hypericin, pseudohypericin og hyperforin har vist fototoksisk potentiale i reagensglasforsøg (*in vitro*) med hypericin som det mest potente og hyperforin som det mindst potente af stofferne (Onoue *et al.* 2011). Den mekanisme der menes at ligge bag hypericins fotosensibiliserende egenskaber er, at hypericin danner reaktivt singlet oxygen og superoxid radikaler under lyspåvirkning. Disse reaktive forbindelser kan forårsage oxidative skader på proteiner og cellens organeller, hvilket igen kan føre til ændringer i cellens normale funktioner eller slutteligt forårsage celledød (nekrose). Hypericins potente egenskab som fototoksin forsøges udnyttet eksperimentelt i kræftbehandling (Theodossiou *et al.* 2009). Forsøg med HaCaT keratinocytter *in vitro* tyder på, at rent hypericin er mere fototoksisk end en tilsvarende mængde hypericin i *H. perforatum*-urten. Schmitt *et al.* (2006) har foreslået, at dette kan skyldes, at urten også indeholder antioxidanter, der i et vist omfang modvirker hypericins fototoksiske effekt. Men det kan også skyldes at det rene stof er mere biotilgængeligt end stoffet i planten. Om en lignende effekt kan ses i den levende organisme (*in vivo*) er uafklaret.

Der har været foretaget en del forsøg for at undersøge, om hypericin kan forårsage skader på øjnene.

Fotooxiderationsforsøg med linse α -crystallin (Schey *et al.* 2000): α -Crystallin er et strukturelt protein i øjets linse, der er vigtigt for øjets gennemsigkelighed. α -Crystallin regenereres ikke, hvilket betyder, at skader er livsvarige. Proteinet blev isoleret fra kalveøjne. Rent α -crystallin blev herefter eksponeret for lys ($\lambda > 300$ nm) i kombination med 50 µM hypericin. Hypericin forårsagede fotoaktiveret polymerisering. Analyser viste desuden oxidering af aminosyrerne methionin, tryptofan og histidin. I mørke var der ingen effekt af hypericin. Forfatterne konkluderer, at hypericin i kombination med lys kan forårsage skader på linseproteiner, der kan føre til katarakt (grå stær).

Fotooxiderationsforsøg med α -crystallin samt celleforsøg med linseepitelceller fra mennesker (Ehrenshaft *et al.* 2013): α -Crystallin isoleret fra kalveøjelinsener og opløst i en vandig bufferopløsning blev tilsat brønde med eller uden indhold af 10 µM hypericin og herefter eksponeret i 40 minutter for

UVA lys eller UVA lys filtreret så kun bølgelængder under 400 nm (~ synligt lys) slap igennem. I mørke var der ingen skader på α -crystallinet, mens der opstod massiv fotoaktiveret polymerisering ved eksponering med UVA lys. Filtrering af lyset mindskede skaderne betragteligt, mens tilsætning af natriumazid (10 mM), et stof, der quencher singlet oxygen, mindskede skaderne endnu mere effektivt. Epitelceller fra linsen fra mennesker (HLE B-3 ("human lens epithelial")) blev herefter inkuberet med hhv. 0, 1, 2 eller 10 μ M hypericin. Efter vask af cellerne kunne der spores hypericin i cellens membraner samt indre dele selv ved en konc. på 1 μ M. Det blev endvidere vist, at hypericin lokaliserede sig sammen med cellernes α -crystallin. Belysning af cellerne med UVA lys førte til et kraftigt fald i den mængde α -crystallin, der kunne spores, mens der skete en akkumulering af tryptofan oxidationsproduktet N-formylkynurenin. Skaderne kunne igen mindskes, men ikke elimineres, ved at bortfiltrere lys under 400 nm. Der var også indikationer på, at hypericin (under lyspåvirkning) reagerede med proteinet actin i cellerne. Forfatterne konkludere, at hypericin har potentialet til at forårsage katarakt (grå stær) samt at brug af UV blokerende solbriller ikke nødvendigvis vil være tilstrækkeligt til at kunne forhindre skader i øjet.

Fotooxidationsforsøg på linser fra køer (Wahlman *et al.* 2003): UVB belysning førte til en forøgelse af udsivning af protein og forøget fokuseringsfejl i linser fra køer. En kombination af hypericin (1 μ M) og UVB belysning forværrede denne effekt. Forfatterne konkludere, at hypericin sammen med UVB-belysning kan føre til ændringer i linsens optiske egenskaber, proteinudfældninger og katarakt. Forfatterne anbefalede på baggrund af resultaterne, at mennesker, der indtager hypericin eller *H. perforatum*, bør beskytte deres øjne.

Celleforsøg med linseepitelceller fra mennesker (He *et al.* 2004): I forsøg med HLE B-3 ("human lens epithelial") celler blev det vist, at en hypericinkoncentration på 5 μ M i kombination med synligt lys ($\lambda < 400$ nm filtreret fra) førte til øget nekrose af cellerne. Også en koncentration på 1 μ M i kombination med UV-A lys førte til øget nekrose. Forfatterne refererer til andre artikler, der viser, at hypericin fra blodet bliver optaget i øjets linse. I linsen kan hypericin fotooxiderer linsens proteiner, hvilket fører til forvrængning af lystransmissionen gennem linsen. Forfatterne udtrykker bekymring over resultatet i og med at solbriller, der blokerer UV-A og UV-B lys, ikke vil kunne forhindre skader i øjet såfremt resultaterne kan overføres til hvad der sker *in vivo*.

Celleforsøg med pigmenterede epitelceller fra retina dvs. celler fra nethinden fra mennesker (Wielgus *et al.* 2007): I forsøg med hPRE (human retinal pigment epithelial) celler blev det vist, at en hypericin-koncentration på 0,5 μ M i kombination med bestråling med synligt lys ($\lambda < 400$ nm filtreret fra) i 10 min., fik cellerne til at ændre morfologi (form) og enkelte celler viste tegn på delvis fragmentering. Forskellige målinger blev desuden udført, hvor hPRE-celler blev udsat for 0,1, 1,0, 5,0 og 10,0 μ M hypericin og belyst i 10 min. med synligt lys. Fedtoxidationen i cellerne (målt som TBARS, Thiobarbituric Acid Reactive Substances) steg svagt (usikkert resultat) for eksponering med 0,1 og 1,0 μ M hypericin og markant fra 5,0 μ M. Membranskader på cellerne (målt som udsivning af laktat dehydrogenase, LDH) steg markant fra 1,0 μ M hypericin eksponering. Det totale indhold af glutathion i cellerne faldt jævnt fra 0,1 μ M til 10 μ M hypericineksponering. Der var ikke tegn på DNA-skader i hverken mitokondrier eller cellekerner. I alle forsøg var der kontroller, hvor cellerne blev holdt i mørke. Her var der ingen effekt af hypericin. Den anvendte dosering af lys var i alle tilfælde mindre end den dosis, der dag-

ligt rammer den menneskelige nethinde. Forfatterne advarer om, at personer, der indtager hypericin, bør beskytte deres øjne mod stærkt sollys eller kunstig lys.

Genotoksicitet & fotogenotoksicitet

Hypericin og *H. perforatum* er blevet testet for genotoksicitet (skader på arveanlæggene) både *in vitro* og *in vivo* (herunder en undersøgelse af planten i musespottest) i en del forsøg, der er opsummeret af SCF (2002) og Det Europæiske Lægemiddelagentur (EMA (2009)). Alle på nær et forsøg var negative eller resultaterne var for uklare til, at der kunne drages konklusioner. Et enkelt forsøg i Ames' test af hypericumekstrakt viste et svagt positivt resultat, der blev forklaret som en effekt af quercetin (et stof der findes vidt udbredt i mange fødevarer). SCF (2002) bemærkede, at flere af undersøgelseerne havde kvalitative mangler. Se også studiet udført af Ondrizek *et al.* (1999) beskrevet under afsnittet om reproduktions- og udviklingstoksicitet.

Hypericin er blevet undersøgt for fotogenotoksicitet i to forsøg med brug af UV bestråling. Til sammenligning er den daglige UV eksponering (håndledsmålinger) for en gennemsnits udendørsarbejdende dansker (gartner) 1,4 SED (standard erythema dose) og 3,8 SED for de mest eksponerede udendørsarbejdende. Forfatterne anslog tillige, at eksponeringen af ansigtet er dobbelt så stor som håndleds-eksponeringen. Dette svarer til daglige eksponeringer på hhv. 0,028 J/cm² og 0,076 J/cm² (Thieden *et al.* 2004). For soldyrkere blev den daglige maksimale dose bestemt til 25,9 SED og 32,6 SED for hhv. soldyrkning i Nordeuropa og Sydeuropa. Dette svarer igen til eksponeringer af ansigtet på 0,52 J/cm² og 0,65 J/cm² for disse "worst case" eksponeringer. Hypericin har et absorptionsmaksimum omkring 590-600 nm i det synlige område (orange lys) og absorptionen tiltager igen i den nedre del af UVA området fra ca. 350 nm med dobbelte maksima omkring 325 nm i UVA området og 290 nm i UVB området (Traynor *et al.* 2005). Det er således omkring disse bølgelængder, at stoffet er mest fototoksisk, hvilket blandt andet er demonstreret ved at hypericins evne til at dræbe cancerceller er markant større ved 593 nm end ved 514 nm (Head *et al.* 2006). Vores eksponering for synligt lys udgør imidlertid 40 % af den samlede stråling fra solen sammenlignet med 5 % for UV lys, hvoraf langt størstedelen er fra bølgelængder over 325 nm (IARC 1992). Hertil kommer at bølgelængder på 600 nm, i modsætning til UV, kan trænge igennem ca. 5 mm muskelvæv (Waser & Falk 2007), og således må forventes at påvirke ikke blot hypericin i lymfen men også hypericin i plasma hvor koncentrationen af hypericin er markant højere end i lymfen. Bestråling med UV lys (180 - 400 nm) som anvendt i de to beskrevne fotogenotoksicitetsforsøg er derfor ikke nødvendigvis det mest oplagte valg ved fototoksicitets- og fotogenotoksicitetsforsøg af hypericin.

In vitro fotogenotoksicitet af hypericin (Kersten *et al.* 1999): Fotogenotoksicitet blev studeret i en mikronukleus test med "Chinese hamster V79" celler. Cellerne blev udsat for 0, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0 og 5,0 µM hypericin i kombination med enten mørke eller to forskellige doseringer af simuleret sollys svarende til 0,1/0,0033 og 0,3/0,01 J UVA/UVB per cm². Fotoinduceret cytotoxicitet (fototoksicitet) kunne registreres ved 0,1 µM ved den højeste lysdosering og ved 0,5 µM for den mellemste lysdosering. Ved højere koncentrationer var cytotoxiciteten for omfattende til, at der kunne foretages måling af fotogenotoksiciteten. Ved 0,1 µM hypericin og ved den højeste lysdosering var der en fordobling af antallet af celler med mikrokerner. I mørke var der hverken tegn på cytotoxicitet eller ændrin-

ger i antallet af celler med mikrokerner. Forfatterne konkluderede, at hypericin er fototoksisk og svagt fotogenotoksisk på V79 celler *in vitro*. Hypericins potente fototoksicitet besværliggør dog denne type studier.

In vitro fotogenotoksicitet af hypericin (Traynor et al. 2005): Fotogenotoksicitet blev studeret i HaCaT keratinocytter fra mennesker. HaCaT celler blev udsat for 0, 0,1, 0,2, 0,5, og 1,0 μM hypericin i kombination med enten 0, 0,4 eller 4 J/cm^2 UVA belysning. Fototoksicitet kunne måles fra 0,1 μM ved begge doser UVA belysning. IC_{50} værdier på 0,06 og 0,36 μM hypericin blev beregnet for hhv. 0,4 eller 4 J/cm^2 UVA belysning. DNA-skader blev målt som DNA strengbrud i "comet assay". Ved den kraftige UVA belysning og laveste hypericindosering var der en statistisk signifikant forøgelse af DNA-skader (ca. 40 % DNA-migration, sammenholdt med ca. 10 % i kontrollen). Der var en koncentrationsafhængig forøgelse af DNA-skader (målt som % DNA i halen af "kometen"). Ved den lave UVA belysning var der også en koncentrationsrelateret forøgelse af DNA-skader fra 0,2 μM hypericin, som dog kun var statistisk signifikant ved den højeste koncentration (25 % DNA-migration sammenholdt med ca. 10 % i kontrollen). Der var ingen effekt af hypericin i mørke. Hypericin er meget fotocytotoksisk, og den genotoksiske effekt af hypericin sås overvejende ved meget cytotoxiske koncentrationer (60-90 % ved 4J, og ca 50 % ved 0,4 J), hvilket øger muligheden for falsk positive resultater. Forfatterne konkluderede, at hypericin er fototoksisk og inducerede primære DNA-skader (DNA-strengbrud) i forbindelse med lave UVA doser i HaCaT celler *in vitro*, *in vivo* kan primære DNA-skader repareres af DNA-"repair enzymer", men nedsat kapacitet af "DNA repair"-kapacitet kan være en væsentlig risikofaktor i følsomme populationer af mennesker

Undersøgelse for carcinogenicitet (kræftfremkaldende effekter)

Ingen publicerede forsøg.

Reproduktionsforsøg og fosterskader

Der foreligger nogle undersøgelser af *H. perforatum*s effekter, men der mangler stadig velgennemførte undersøgelser, der følger guideline for flere af de kritiske effekter.

SCF (2002) refererede til et pilotforsøg fra 1998, hvor mus efter dosering med 136 mg urt/kg/dag under drægtigheden og 14 dage før denne, havde reduceret kuldstørrelse og reduceret legemsvægt ved fødsel. Undersøgelsen var kun publiceret i et abstrakt.

In vitro studie af effekten af *H. perforatum* på kønsceller fra hamster (Ondrizek et al. 1999): Ægceller og sædceller (spermatozoer) blev udsat for forskellige urter enkeltvis herunder *H. perforatum*. Kønscellerne blev udsat for *H. perforatum* i koncentrationer på hhv. 0,06 og 0,6 mg urt/ml (uopløselige dele over 0,8 μm var bortfiltreret). Det fremgår ikke om der var tale om frisk eller tørret urt. Man så på om ægget kunne blive penetreret af spermatozoer efter behandling med urten i 1 time. Spermatozoer blev udsat for urten i 7 dage og herefter undersøgt for denaturering af spermatozoernes DNA samt undersøgelse for mutationer i genet BRCA1 exon 11. Ved eksponering for 0,6 mg urt/ml blev ægcellerne ikke penetreret af spermatozoer, mens der ved eksponering for 0,06 mg urt/ml ikke var nogen effekt.

For spermatozoerne var der en statistisk signifikant denaturering af DNA for begge koncentrationer af urt. Ved den høje koncentration var der næsten intet intakt DNA tilbage og levedygtigheden var under 10 %. Den høje koncentration af urt førte ligeledes til punktmutationer i DNAet. Forfatterne nævnte, at skader på genet for BRCA1 exon er blevet kædet sammen med udvikling af brystkræft og kræft i æggestokkene. Det fremgår ikke artiklen under hvilke lysforhold forsøget blev udført.

In vitro teratogenicitetsstudie af hypericin med brug af rotteembryoner (Chan *et al.* 2001): Embryoner fra rotter blev udtaget efter 9½ dages drægtighed og dyrket *in vitro* i 48 timer i vækstmedium med følgende koncentrationer af hypericin: 0, 14,2 (0,03), 28,4 (0,06), 71,0 (0,14), og 142,0 (0,28) ng/ml (μ M). Embryonernes størrelse og morfologi blev herefter undersøgt. Embryoner udsat for de to højeste doser af hypericin havde en statistisk signifikant reduktion i scoringen af den normale morfologi samt færre somitter. For den morfologiske score var der en dosis-respons effekt fra den laveste til den højeste koncentration. Forfatterne konkluderer, at hypericin er et potentielt teratogen i rotteembryoner (dvs. et stof der fremkalder misdannelser) ved hypericinkoncentrationer, der er opnåelige ved klinisk brug af *H. perforatum*. Det fremgår ikke af artiklen under hvilke lysforhold, forsøget blev udført.

In vitro teratogenicitetsstudie af hyperforin med brug af embryonale stamceller fra mus (Nakamura *et al.* 2013): Embryonale stamceller fra mus (R1; SCRC-1011) blev udsat for forskellige doser af hyperforin. Hyperforins effekt på viabilitet (levedygtighed), cellevækst, genekspression og cellernes differentiering til cardiomyocytter blev undersøgt. Cellernes viabilitet var reduceret efter 7 dages inkubation med hyperforin ved en koncentration over 1 μ M. Eksponering i 72 timer viste statistisk signifikant hæmning af cellernes vækst ved 5 μ M eller højere. Differentieringen til cardiomyocytter var reduceret fra omkring 1 μ M og effekten forstærkedes med stigende hyperforinkoncentrationer. Nakamura *et al.* (2013) vurderede, at data indikerede, at de doser der bruges i klinisk behandling er sikre, men at større doser måske kan være forbundet med risiko for embryotoksicitet (toksisk virkning i de tidlige fosterstadier) og teratogenicitet (misdannelser).

Fosterudviklingsstudie på mus (Rayburn *et al.* 2000): I alt 90 CD-1 hunmus blev delt i to grupper, der fik en dosering på 0 (kontrol) eller 180 mg *H. perforatum*/kg legemsvægt/dag. Doseringen blev givet ved at foderet indeholdt 0,75 mg *H. perforatum*/g foder. Foderindtaget/pr.kg legemsvægt ændrede sig i løbet af drægtighedsperioden hvilket vil sige at doseringen reelt startede ved 180 mg *H. perforatum*/kg legemsvægt/dag og faldt til 150 mg *H. perforatum*/kg legemsvægt/dag på dag 11 i drægtighedsperioden. Der er formodentligt tale om at dyrene fik et standardiseret ekstrakt (Basic Organics, Inc.), men det fremgår ikke klart af artiklen. Dyrene blev doseret i to uger før og under drægtigheden. Ungerne blev vejjet ved fødslen og testet i forskellige adfærdstest (evne til at bruge lyd ved adskillelse fra moderen, motoriske evner, stedsans, interesse for udforskning, angst, sociale interaktioner, undertrykkelse af angst, aggression (kun hanner). Ungernes reproduktive evner blev ligeledes testet (2 dyr af hver køn pr. kuld blev bugt til parring). Doseringen med *H. perforatum* havde ingen påvirkning af moderdyrenes tilvækst og der var ingen tegn på at doseringen påvirkede dyrenes reproduktive evner (evne til at blive drægtige og antal levedygtigt afkom). Fødselsvægten blandt hanmus hvis mødre fik *H. perforatum* var statistisk signifikant lidt lavere ($1,68 \pm 0,02$ g vs $1,75 \pm 0,02$ g) og der var stadig vægtforskel 5 dage efter fødslen. For hunner var der også forskel men forskellen var ikke statistisk signifikant. Selv om der var nogle enkelte testdage hvor der blev set en forskel i adfærdstestene, så

var der ingen varige forskelle i nogen test over tid. Der var ingen forskel i ungerens reproduktive evner. Samlet set peger studiet på, at hvis der overhovedet var en effekt af doseringen med *H. perforatum*, så var der tale om en mild og temporær påvirkning på afkommet i de udførte adfærdstest. Der blev dog fundet en mindre reduktion af fødselsvægten for hanmuseunger (4 %).

Fosterudviklingsstudie på mus (Rayburn *et al.* 2001b): I alt 40 CD-1 hunmus blev delt i to grupper, der fik en dosering på 0 (kontrol) eller 180 mg *H. perforatum*/kg legemsvægt/dag. Det fremgår ikke klart af artiklen i hvilken form *H. perforatum* blev givet til musene men formodentlig er der tale omsamme produkt som anvendt af Rayburn *et al.* (2000). Dyrene blev doseret i to uger før og under drægtigheden. Ungerne blev vejjet, målt og museungernes videre tilvækst og udvikling blev fulgt. Ungerne fik lov til selv at få afkom, som ligeledes blev undersøgt.

Legemsvægten dag 1, 3 og 5 efter fødslen af de unger, hvis mødre havde fået *H. perforatum* var marginalt mindre (3-4 %) end for kontrolholdet. Effekten var kun statistisk signifikant for hanner på dag 1, men at der er en effekt, bestyrkes af at den samme påvirkning af fødselsvægten også blev set i et tidligere studie (Rayburn *et al.* 2000). Der var en forsinkelse i fremkomsten af tænder i overmundet blandt unger, hvis mødre havde fået *H. perforatum* (kun statistisk signifikant for hanner). Der var ikke yderligere påvirkning af de målte udviklingsparametre eller synlige anormaliteter. Der var ligeledes ingen tegn på effekt af *H. perforatum* doseringen på ungerens fertilitet eller påvirkning af anden generationsafkommet (vægt, kropslængde og omkredsen af hovedet).

Fosterudviklingsstudie på mus (Rayburn *et al.* 2001a): Forsøget blev udført som beskrevet i Rayburn *et al.* (2001b), bortset fra, at antallet af CD-1 mus var reduceret til 25 (13 *Hypericum*-doserede, 12 kontrol dyr). Ungerne blev herefter udsat for fem forskellige test for at undersøge, om *H. perforatum* påvirkede dyrenes kognitive evner. I en enkelt af de udførte labyrinttest ("Morris Spatial Maze") var hunungerne langsommere til at gennemføre testen end kontrolholdet. Resultatet var konsistent for 5 testsessioner, men kun statistisk signifikant for session 2 og 4. I en afsluttende 6 session, hvor der blev undersøgt for antal passager af den centrale platform, blev der ikke registreret nogen forskel. Der var ingen tegn på effekt hos hannerne. I de øvrige test var der ikke effekt af *H. perforatum*-doseringen. Forfatterne vurderer den fundne effekt som værende en mild påvirkning af hunrotternes kognitive evner. Der blev ikke foretaget histopatologiske undersøgelser i nogen af de tre studier udført af Rayburn *et al.*

Reproduktionsstudie på rotter (Borges *et al.* 2005): 30 inseminerede Wistar hunrotter blev delt i to grupper og doseret med enten saltvand eller saltvand tilsat et tørret methanolekstrakt af *H. perforatum* (Jarsin) i en dosis på 36 mg ekstrakt/kg legemsvægt. Doseringen foregik fra dag 9 til 15 i drægtigheden. Dyrene blev aflivet på dag 21 af drægtigheden. Moderdyrene blev undersøgt for ændringer i legemsvægt, organvægte (nyre, lever og ovarier), foderindtag og kliniske tegn på toksicitet. Desuden blev livmodere undersøgt for antallet af resorptioner og implantationer. Der var ingen tegn på toksiske effekter af ekstraktet på moderdyrene. Der var ikke nogen forskel i vægtene af fostrene eller moderkagen mellem de to grupper. Der blev ikke foretaget histopatologiske undersøgelser.

Fosterudviklingsstudie på rotter - mandlig reproduktion (Vieira *et al.* 2013a): I alt 19 Wistar rotter blev delt i to grupper, der fik en dosering på 0 (10 dyr, kontrol) eller 100 mg *H. perforatum*/kg legems-

vægt/dag (9 dyr). Der blev brugt tørret *H. perforatum* fra et herbarium (alder af herbarium ukendt). Materialet blev opslæmmet i vand og tween og doseret til dyrene via gavage. Forsøgsbetingelserne var, at dyrene blev holdt under 12 timers mørke og 12 timers kunstig lys pr. dag. Doseringen startede fra dag 1 i drægtigheden til 21 dage efter fødslen. Kun hanrotteunger blev undersøgt. Der blev ikke fundet nogen forskel i legemsvægt eller anogenital afstand hos ungerne på dag 0, eller dag 21 efter fødslen. Der blev ikke fundet nogen statistisk signifikante forskelle mellem de to grupper i dyrenes adfærd på dag 35 efter fødslen (pelspleje, bevægelser, habituering). Doseringen med *H. perforatum* havde ingen påvirkning på vægten af testiklerne, bitestiklerne, prostata eller sædblæren (100 dage gamle unger). Der var ingen påvirkning af sædproduktionen eller hanrotternes evner og lyst til at gennemføre parringen. Testosteron niveauet var lavere hos de *H. perforatum* doserede dyr (5,6 ng/ml vs. 4,1 ng/ml) men forskellen var ikke statistisk signifikant. En histopatologisk undersøgelse af testiklerne fandt ingen forskelle mellem kontroldyr og *H. perforatum* doserede dyr (øvrige væv blev ikke undersøgt).

Adfærdsforsøg på rottemødre – adfærdspåvirkning af moderdyr (Vieira et al. 2013b): 40 Wistar hunrotter blev delt ligeligt i fire grupper, der fik en dosering på hhv. 0, 36, 72 eller 144 mg *H. perforatum* ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag. Forfatterne angiver indholdet af hypericin (totalhypericin ?) til 0,3 % af ekstraktet svarende til 108, 216 eller 432 µg/kg legemsvægt pr. dag. Rotterne blev parret og doseret via gavage igennem hele drægtigheden. Moderdyrene blev udsat for en række adfærdstest ("hole-board test", "tail suspension test", "forced swim test") på dag 10 og 60 efter doseringens ophør. Der var ingen effekt af doseringen på dyrenes vægt. Dyrenes adfærd i den højst doserede gruppe var statistisk signifikant påvirket efter både 10 og 60 dage. Hunrotterne udviste generelt et højere aktivitetsniveau i alle de udførte test, hvilket muligvis kan skyldes nedsat frygtsomhed. Der var ligeledes tegn på at også dyr i den næsthøjeste dosering var påvirket om end i mindre grad. Studiet indikerer at *H. perforatum* kan føre til en længerevarende måske permanent adfærdspåvirkning hos rotter.

Fosterudviklingsstudie på rotter – adfærdspåvirkning af unger (Campos et al. 2017b): 40 drægtige Wistar hunrotter blev delt ligeligt i fire grupper, der blev doseret med enten 0, 36, 72 eller 144 mg *H. perforatum* ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag. Forfatterne angiver indholdet af hypericin (totalhypericin ?) til 0,3 % af ekstraktet svarende til 108, 216 eller 432 µg/kg legemsvægt pr. dag. Rotterne blev doseret via gavage fra dag et i drægtighedsperioden og frem til ungerne blev født. Dyrene blev holdt under 12 timers mørke og 12 timers kunstig lys pr. dag. Ungerne fik lov at blive hos moderen igennem hele dieperioden hvorefter de blev fjernet. Efter 90 dage blev unger af hankøn udsat for en række adfærdstest ("hole-board test", "forced swim test", "elevated plus maze test") samt test af dyrenes balance og udholdenhed "rotarod test" samt test af den tid rotterne sov efter behandling med pentobarbital. 10 tilfældigt udvalgte hanrotteunger blev udvalgt til hver test. Behandlingen havde ingen påvirkning på dyrenes legemsvægt efter 90 dage. Unger fra de to højeste doserede grupper havde en statistisk signifikant reduktion i den tid de formåede at holde sig på en roterende stang. Hertil kom en forøget pentobarbital induceret søvnlængde for unger af de mødre der fik den højeste dosering af *H. perforatum*. Som det også blev set hos moderdyr testet i et tidligere tilsvarende studie (Vieira et al. 2013b), så havde ungerne generelt et højere aktivitetsniveau i alle de udførte test, muligvis relateret til mindre frygtsomhed blandt ungerne. Der var ligeledes tegn på at også dyr i den næsthøjeste dosering til dels var påvirket om end i mindre grad. Der er således tegn på at behandlingen havde en længerevarende måske permanent adfærdspåvirkning hos rotteungerne. En fluorescens test blev endvidere udført i et

separat forsøg på organer fra moderdyr doseret fra dag 19-21 af drægtigheden og på deres afkom. Doseringer var de samme som i hovedforsøget. Der blev set en statistisk signifikant forøgelse af fluorescensen i hjernen hos rotteunger af mødre doseret med *H. perforatum* (hos mødrene var der ingen klar effekt). Dette kan tyde på at et eller flere stoffer fra ekstraktet når dyrenes hjerner. Men i og med at testen er uspecifik så er brugbarheden af testen, begrænset.

Fosterudviklingsstudie på rotter - smertepåvirkning og konvulsion (Campos *et al.* 2017a): Dyrene er doseret som beskrevet under Campos *et al.* (2017b), men i stedet for test på 90 dage gamle hanrotteunger blev der brugt hunrotteunger. Rotteungeren blev udsat for en række test af deres reaktioner som følge af smertepåvirkning og inducering af konvulsion. Generelt viste forsøgene at hunrotteungerne reaktioner var påvirket af deres mødres dosering med *H. perforatum* under graviditeten, primært blandt de unger hvis mødre havde fået den højeste dosering. Denne type forsøg er dog ikke normalt anvendt ved toksikologiske testning, så deres anvendelighed i forhold til risikovurdering af *H. perforatum* kan diskuteres. Forsøgene indikerer dog at *H. perforatum* kan have en længevarende, muligvis permanent, neurologisk påvirkning af rotteungerne.

Fosterudviklingsstudie på rotter (Gregoretti *et al.* 2004): 18 Wistar hunrotter blev delt i tre grupper på hver 6 dyr og doseret med sonde med 0, 100 eller 1000 mg *H. perforatum*-ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag. Forfatterne angiver indholdet af totalhypericin som 0,3 % af urten svarende til 300 eller 3000 µg/kg legemsvægt pr. dag. Planten blev givet som et methanolekstrakt af urten. Ekstraktet blev opløst i vand. Methanolen blev afdampet fra ekstraktet før opløsning af ekstraktet i vand (personlig kommunikation Dr. Giuliana Decorti). Kontrolldyrene fik en tilsvarende mængde vand. Tre moderdyr fra hver gruppe blev doseret 2 uger før drægtigheden, under drægtigheden samt 21 dage efter fødslen. For de tre andre moderdyr startede doseringen først ved fødslen og de følgende 21 dage. Dyrene blev holdt under 12 timers mørke og 12 timers kunstig lys pr. dag. Efter fødslen blev antal unger i alle kuld reduceret til tre hunner og tre hanner. Moderdyrene blev vejlet under drægtigheden og ungerne ugentligt fra dag 0 til dag 21. Antallet af levende unger ved fødslen, og kønsfordelingen af ungerne blev registreret. Ved dag 0 (kun grupper doseret før og under drægtigheden) og dag 21 blev der udtaget 2 unger (1 af hvert køn) til histopatologisk undersøgelse af lever, nyrer, lunger, hjerte, hjerne og tarmsystem.

Der var ingen effekt af doseringen på moderdyrenes eller ungernes vægt, antallet af levende unger eller kønsfordelingen. Den histopatologiske undersøgelse af ungerne viste patologiske vævsforandringer i lever og nyrer i de grupper, der blev doseret med 100 og 1000 mg *H. perforatum*/kg legemsvægt/dag. Dette var tilfældet både dag 0 og dag 21 i dyr doseret før, under og efter drægtigheden samt i de dyr, der kun blev doseret efter drægtigheden. Forandringernes sværhedsgrad på lever og nyrer var dosisafhængig således, at for dyr doseret med 100 mg/kg/dag i 21 dage var de fleste forandringer små, mens forandringerne i 1000 mg/kg/dag gruppen var moderate til svære. Der blev ikke fundet forandringer i kontrolldyrene og der blev ikke fundet forandringer i de øvrige undersøgte væv efter dosering med *H. perforatum*. Forandringerne var værre hos de unger, der kun blev doseret gennem brystmælk sammenlignet med de unger der kun blev doseret under fostertilstanden hvilket kan indikere en vis beskyttende effekt af livmoderen, en mere effektiv metabolisering/udskillelse af de skadelige stoffer hos moderdyrene, eller at ungernes udvikling er mere følsom efter fødslen. Forfatterne konkluderede, at forsøget pegede på en betydelig toksisk effekt af *H. perforatum* hos de nyfødte unger

og efterlyser større og mere omfattende forsøg på rotter og andre dyr. En svaghed ved studiet er dets begrænsede størrelse. Det er i denne sammenhæng interessant, at hypericin ifølge en undersøgelse af brystmælk ikke overføres til modermælken (Klier *et al.* 2002). Studiet er dog meget svækket af, at der kun er foretaget målinger på en enkelt kvinde. Hyperforin derimod udskilles i brystmælken i begrænset omfang. Et forsøg af Klier *et al.* (2006) hvor brystmælken fra 5 mødre der dagligt tog 900 mg perikon ekstrakt (LI 160) viste at koncentrationen af hyperforin i mælken er ca. 1/10 del af koncentrationen i moderens plasma. Plasmakoncentrationen af hyperforin var lav hos nyfødte, hvis mødre indtog *H. perforatum*. De nyfødte blev i forhold til deres legemsvægt kun eksponeret for 1–2,5 % af den dosis mødrene indtog.

Fosterudviklingsstudie på rotter (Kahyaoglu *et al.* 2018): 54 Wistar hunrotter blev delt i tre grupper på hver 18 dyr og doseret via drikkevandet svarende til doser på hhv. 0, 100 og 300 mg *H. perforatum*-ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag. Der var tale om et kommercielt ekstrakt (Solgar). Forfatterne angiver ikke indholdet af totalhypericin. Ekstraktet blev opløst i drikkevandet. Dyrene blev doseret en uge før drægtigheden samt under drægtigheden. Lige efter fødslen blev unger og moderdyr aflivet. Det fremgår ikke af studiet om der var påvirkning af modedyrene. Antallet af gravide hunrotter lå på 8 (kontrol dyr), 6 (100 mg/kg) og 3 (300 mg/kg) for de tre doseringsgrupper, hvilket peger på ekstraktet havde en negativ effekt på hunrotternes reproduktionsevne. Der var ingen synlige defekter på afkommet, men der sås en reduceret fødselsvægt blandt ungerne fra de *H. perforatum* doserede grupper. Det fremgår dog ikke om effekten var statistisk signifikant. I lighed med Gregoretti *et al.* (2004) studiet, så viste de histopatologiske undersøgelser af ungerne, tegn på patologiske vævsforandringer i lever og nyrer i de grupper der blev doseret med 100 og 300 mg *H. perforatum*/kg legemsvægt/dag. Generelt er beskrivelsen af studiet og dets resultater meget mangelfulde. Det er dog væsentligt for vurderingen, at de eneste to publicerede fosterudviklingsstudier hvor der er foretaget histopatologiske undersøgelser af ungerne, begge har fundet tilsyneladende meget ensartede vævsforandringer i lever og nyrer.

Epidemiologiske undersøgelser

Undersøgelse af indtagelsen af *H. perforatum* under graviditeten (Moretti *et al.* 2009): Undersøgelsen blev udført som en sammenligning mellem kvinder, der var eksponeret for *H. perforatum* (n=54) under graviditeten (som minimum under første trimester), en gruppe af depressive kvinder behandlet med konventionel medicin (n=56) og en gruppe af raske kvinder (n=56). Kvinderne, der indtog *H. perforatum*, fik i gennemsnit 615 mg/dag, formodentlig som et ekstrakt. Forskellige faktorer som spontan abort, fødemetode (naturlig/kejsersnit), for tidlig fødsel, fødselsvægt og misdannelse blev sammenlignet mellem de tre grupper. Der var ingen statistisk signifikante forskelle mellem de målte parametre for de undersøgte grupper. Der var dog visse forskelle. Gruppen der fik *H. perforatum* havde det højeste antal spontane aborter på 20 % mod gruppen, som fik konventionel medicin (13 %) og raske kvinder (9 %). Forfatterne påpeger, at der er studier, der viser en sammenhæng mellem depression og forøget hyppighed af spontane aborter. Dette passer dog ikke godt sammen med, at gruppen, der fik konventionel medicin var den mest depressive både før og efter fødsel. Gruppen der fik *H. perforatum* havde det laveste antal for tidlige fødsler på 5 %, mod gruppen som fik medicin (21 %) og raske kvinder (13 %). Misdannelser blev kun registreret i gruppen, der fik *H. perforatum* og i gruppen, der fik konventionel

medicin mod depression (2 børn i hver gruppe). Ifølge forfatter ligger hyppigheden af misdannelser i de to grupper på niveau med den generelle befolkning.

Anvendeligheden af en sammenligning af de kvinder, der tog *H. perforatum*, med gruppen der fik konventionel medicin er tvivlsom i og med, at det er uvist om disse to grupper kan siges at være identiske i deres udgangspunkt. Det meget lave antal deltagere i studiet er en anden kraftig begrænsning af studiet.

Undersøgelse af indtaget af *H. perforatum* under amning (Lee et al. 2003):

Studiet er udført som en sammenligning mellem børn, hvis mødre brugte *H. perforatum* (n=33) mens de ammede, med børn fra en gruppe af depressive mødre, der ikke indtog *H. perforatum* (n=101) samt børn af raske kvinder i samme alder og samme antal fødsler (n=33). Gennemsnitligt anvendte mødrene i den første gruppe *H. perforatum* i 2,1 måned, men med en stor standardafvigelse på 3,5 måned. Der var ingen forskel i mødrenes evne til at producere mælk og ingen forskel i børnenes legemsvægt. I gruppen af *H. perforatum*-doserede kvinder var der blandt børnene 2 tilfælde af kolik samt 3 tilfælde af sløvhed/døsighed mod 1 tilfælde af kolik i hver af de to andre grupper. Ingen af tilfældene krævede lægebehandling. Antallet af kvinder, der tog traditionel antidepressiv medicin, var større i den *H. perforatum* doserede gruppe end i gruppen af depressive kvinder, der ikke anvendte urten. Det meget lave antal deltagere i studiet for ikke at tale om, at kvinder, der indtog *H. perforatum* samtidig tog traditionel antidepressiv medicin er en kraftig begrænsning i tolkningen af undersøgelsen. Forfatterne tilråder forsigtighed med at anvende *H. perforatum* under amning.

Undersøgelse af sammenhæng mellem indtag af *H. perforatum* indtag og grå stær (katarakt) (Booth & McGwin 2009):

Undersøgelsen er baseret på en spørgeskemaundersøgelse, som blev besvaret af 30.981 personer af begge køn i alderen 40 år og opefter i USA. Et af spørgsmålene var, om personen havde brugt en droge inden for de sidste 12 måneder. Hvis de svarede ja, blev de bedt om at beskrive, hvilke droger de havde brugt. Personerne blev desuden spurgt, om de inden for de sidste 12 måneder havde fået af vide af en læge, at de havde katarakt. Efterfølgende blev de indsamlede data brugt til at undersøge sammenhængen mellem indtag af *H. perforatum* og rapportering af katarakt. Efter justering for alder og køn var resultatet, at deltagere, der oplyste, at de havde katarakt, havde en 59 % større sandsynlighed for at de ligeledes rapporterede et forbrug af *H. perforatum*. Effekten var statistisk signifikant på et 5 % niveau (OR, 1,59; 95% CI 1,02-2,46). Studiet har dog en række svagheder, idet der ikke blev rapporteret i hvilke doser deltagerne tog *H. perforatum*, hvilke produkter der blev taget, produkternes indhold af totalhypericin, samt længden af eksponeringsperioden. Så det er ikke muligt og afgøre, om der er en årsagssammenhæng mellem dosering og udvikling af katarakt. En undersøgelse baseret på selvrapportering vurderes som svagere, fordi deltagerne ikke nødvendigvis giver korrekte oplysninger bevidst eller ubevidst. Endelig kan der være konfunderinger, dvs. andre årsager til de observerede forskelle, som der ikke er korrigeret for i undersøgelsen. Forfatterne konkluderer, at deres resultater bakked op af *in vitro* studier, der viser en mulig risiko for udvikling af katarakt som følge af indtag af *H. perforatum* (hvilket er korrekt).

Interaktioner mellem plante og medicin

H. perforatum er kendt som en af de planter, der mest markant kan ændre den medicinske effekt af en lang række lægemidler. Interaktioner mellem plante og medicin kan være voldsomme og livstruende for patienter, der får visse typer af medicin. *H. perforatum* inducerer flere cytochrom P450 enzymer (CYP3A4, CYP2E1 og CYP2C19) samt ekspressionen af P-glycoprotein, som er af betydning for en af de klinisk vigtigste transportmekanismer over membraner. Det er primært stoffet hyperforin, der kædes sammen med disse effekter (Borrelli & Izzo 2009). Der foreligger et betydeligt antal videnskabelige artikler, der dokumenter disse effekter. Lægemiddelstyrelsen advarede i 2000 om netop sådanne interaktioner. Eksempelvis kan *H. perforatum* ændre den medicinske effekt af blodfortyndende midler (warfarin), p-piller og midler mod HIV. Yderligere informationer om interaktioner set efter indtagelse af naturlægemidler med prikbladet perikon kan findes på Lægemiddelstyrelsens hjemmeside "<http://www.interaktionsdatabasen.dk/>" ved søgning på "perikon". Her er oplistet (d. 9/10-2018) 20 kritiske interaktioner og 17 potentielt problematiske interaktioner.

Opsummering

Nedenfor er opsummeret de toksikologiske effekter, som er omtalt i den videnskabelige litteratur.

Fotosensibilisering – hud: Fotosensibilisering er en tilstand, hvor indtagelse og absorption af indholdsstof(fer) fra en plante i kombination med sollys forårsager reaktioner i huden. Der kan ses symptomer, der kan ligne eksem eller solskoldning med rødmen og ødem (væske i huden) og også alvorligere skader i huden (Cooper & Johnson 1988). *H. perforatum* er en fotosensibiliserende plante, hvilket klart er vist ved forsøg med drøvtyggere. Fotosensibiliseringen skyldes primært indholdet af naphthodianthrone (e.g. hypericin). Et enkelt indtag af 3 g tørret urt/kg legemsvægt hos drøvtyggere (kalve og får) udsat for sollys har vist at kunne forårsage forskellige skadevirkninger eks. hudirritation, rødmen, hævelser, nervøsitet, nedtrykthed, forvirret adfærd, hyperventilering, feber og diarré. Indtagelse af 1 g tørret urt/kg legemsvægt gav ikke anledning til effekter i disse forsøg. Et studie har rapporteret om indtagelse af 4 g frisk urt (~ 0,4 – 0,8 g tørret urt)/kg legemsvægt i 14 dage førte til alvorlig fotosensibilisering hos får. Som beskrevet i rapporten så kan plantens indhold af totalhypericin variere kraftigt, hvilket sammen med forskelle i daglig lyspåvirkning samt doseringslængde kan forklare forskellen mellem studierne.

Undersøgelser af relativt høje doser af totalhypericin (> 5000 µg) hos mennesker har vist en svag fotosensibiliserende effekt på huden. I undersøgelser, hvor man har set på bivirkninger ved indtagelse af ekstrakt af planten som lægemiddel er der rapporteret forskellige skadelige virkninger som udslet, kløe, rødmen i huden, som kunne være symptomer på fotosensibilisering. I de doser, der er undersøgt som lægemidler har symptomerne været svage og reversible. De kliniske undersøgelser forholdt sig ikke til, om og i hvilket omfang forsøgspersonerne blev eksponeret for sollys.

Fototoksisk påvirkning af øjne: Forsøg med får har vist, at indtagelse af 4 g friske plant/kg legemsvægt i 14 dage kan forårsage kraftige øjenskader som følge af skader på hornhinden (cornea), der bliver uklar (blindhed). Ligeledes har flere *in vitro* forsøg (reagensglasforsøg) vist, at hypericin under lyspå-

virkning kan forårsage skader på linsens α -crystalin proteiner, på øjets linse og på to forskellige typer humane epitelceller, der findes i øjet (linseceller og retinale celler). Forsøg *in vitro* har vist at hypericin kan trænge ind i øjevævet, hvor det blandt andet binder sig til α -crystalin. Linsens α -crystalin proteiner gendannes ikke, hvilket vil sige at skader på α -crystalinet er livsvarige og minimale skader kan således akkumulere over tid.

Skader er blevet registreret ned til koncentrationer på 1 μM hypericin og der var ligeledes tegn på stigende fedtoxidation i cellerne helt ned til 0,1 μM . Der foreligger ikke målinger af hypericinkoncentrationen i øjet, men en koncentration på 0,1 μM er i plasma målt ved indtagelse af en enkelt dosis på anslået ca. 2100 μg hypericin. Da halveringstiden for hypericin i mennesker er målt til mellem 25-48 timer, vil daglig dosering bevirke, at en stor del af dosen vil være tilstede i kroppen hele dagen igennem. Såfremt den virkningsmekanisme, som er dokumenteret i *in vitro* forsøg, også er aktiv *in vivo*, så antages den primære skadevirkning at være katarakt (grå stær). *In vitro* resultaterne passer desuden godt med at hypericin under lyspåvirkning danner reaktivt singlet oxygen og superoxid radikaler, som kan forårsage oxidative skader på proteiner og organeller i cellen.

Udover hypericin er også pseudohypericin og hyperforin fotooxidative stoffer, med hypericin som det mest potente og hyperforin som det mindst potente af de tre stoffer. En enkelt undersøgelse fra USA fandt, at deltagere, der rapporterede, at de havde katarakt, havde en 59 % større sandsynlighed for at de samtidigt rapporterede om et forbrug af *H. perforatum*. Undersøgelsen tyder på, at der hyppigere ses grå stær hos mennesker, der indtager produkter med *H. perforatum* end hos personer, der ikke indtager planten.

Øjet må betragtes som et særligt sårbart organ i forhold til fototoksiske effekter. Ovenstående resultater dokumenterer, at hypericin potentielt er skadelig for øjne der udsættes for lys. Men de foreliggende data er ikke anvendelige til at afgøre, hvilken dosis af *H. perforatum* eller koncentration af hypericin alene eller hypericin i kombination med pseudohypericin og hyperforin, der kan føre til øjenskader. De nuværende resultater peger på et behov for velgennemførte kroniske toksicitetsundersøgelser for at afklare i hvilken koncentration hypericin er skadeligt for øjet. Der mangler ligeledes studier til at afklare om hyperforin, der kan findes i store mængder i planten (op til 6 % af tørvægten), bidrager til denne effekt.

Genotoksicitet (påvirkning af arveanlæg/DNA): Et enkelt *in vitro* forsøg har vist denaturering af DNAet og punktmutationer i sædceller fra hamstere. De øvrige genotoksiske forsøg, *in vitro* og *in vivo*, viste ikke tegn på, at hverken hypericin eller *H. perforatum* er genotoksiske. Samlet set er der ikke tilstrækkelig dokumentation til at vurdere, om urt eller hypericin er genotoksiske.

Fotogenotoksicitet (fotoinduceret påvirkning af arveanlæg/DNA): To *in vitro* forsøg har vist fotogenotoksicitet af hypericin. På dette grundlag konkluderes det, at hypericin er fotogenotoksisk *in vitro*. Hypericin inducerer såvel primære DNA-skader som kromosomaberrationer *in vitro* ved doser af UVA bestråling, der svarer til den daglige eksponering som soldyrkere kan blive udsat for i Nordeuropa. Imidlertid vanskeliggøres tolkningen af resultaterne af, at den laveste fotogenotoksiske koncentration (0,1 μM) også var stærkt cytotoxisk (dvs. toksisk for cellerne) ved UV bestråling. Det skal bemærkes, at omtrent tilsvarende koncentrationer af total hypericin er målt i plasma hos mennesker efter et enkelt

indtag af 5400 µg totalhypericin, mens koncentrationen var meget lavere i huden (~0,01 µM). Hvorvidt de genotoksiske DNA skader set *in vitro* også kan genfindes *in vivo* er uafklaret. Resultaterne giver anledning til en vis betænkelighed for, at *H. perforatum* kan forøge risikoen for kræft, særligt i de dele af kroppen, der eksponeres for sollys.

Reproduktions- og udviklingstoksicitet: Et *in vitro* studie udført på rotte embryoner indikerer, at hypericin er teratogent (forårsager misdannelser) og et *in vitro* studie med embryonale musestamceller indikerer at hyperforin måske også kan være embryotoksisk og teratogent. *In vivo* studier er dog nødvendige, hvis der skal kunne foretages en pålidelig vurdering af, hvorvidt hypericin eller hyperforin er skadelig for fostre.

Der er udført en række dyreforsøg, der undersøger forskellige effekter ved indtag af urteekstrakter. To musestudier viste en meget svag effekt på fødselsvægten og et studie en svag påvirkning af indlæringssevnen hos hunungerne (dosering 180 mg ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag). Der blev ikke udført histopatologiske undersøgelser af forsøgsdyrene.

Ingen effekter på fostrenes fødselsvægt blev set i et drægtighedsstudie udført på rotter ved en dosering på 36 mg/kg legemsvægt pr. dag og et andet studie af hanrotteunger hvis mødre havde været doseret under graviditeten, viste ingen effekt på ungerens reproduktionsevner (100 mg ekstrakt/kg legemsvægt/kg).

I hvad der formodentlig er samme studie er der i tre artikler af rapporteret at dosering af moderdyrene med 144 mg ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag havde en effekt på adfærden af både moderdyrene og deres hanrotteunger (forøget aktivitetsniveau). Hanrotteungerne havde desuden en reduceret balancsevne, en effekt der også sås ved en halvt så høj dosering. Hunrotteungerne blev brugt i et smerteforsøg hvor der også blev set en påvirkning af dyrenes smertetolerance. Der var i alle tilfælde tale om en længevarende, muligvis permanent påvirkning af forsøgsdyrene.

Et fosterudviklingsstudie udført på rotter viste vævsforandringer i lever og nyrer i afkommet både ved dosering med ekstrakt af *H. perforatum in utero* og hvis ungerne alene var doseret via brystmælk. Der blev ikke identificeret et nul effekt niveau i studiet, men svage vævsforandringer blev fundet ved en dosis på 100 mg *H. perforatum* ekstrakt/kg legemsvægt/dag. Ved en dosering på 1000 mg *H. perforatum* ekstrakt/kg legemsvægt/dag var vævsforandringerne moderate til svære. I en undersøgelse af indholdet af hypericin i modermælk fra en enkelt kvinde, blev der ikke fundet indhold af hypericin. En anden undersøgelse af 5 mødre viste, at indholdet af hyperforin var lavt i modermælk. Såfremt disse resultater kan overføres til rotter, må de observerede vævsforandringer i rotteforsøget, skyldes et eller flere andre stoffer end hypericin og muligvis også hyperforin. Selvom studiet er velgennemført er der imidlertid kun få dyr i studiet. Et nyere, men desværre dårligt af rapporteret studie, udført med et større antal rotter (dosering 100 og 300 mg ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag) viste imidlertid også klare vævsforandringer i lever og nyrer hos afkommet af de doserede dyr. Doseringen reducerede tillige rottemødrenes fertilitet. Samlet set giver dyreforsøgene anledning til bekymring for udviklingstoksicitet, særligt i forhold til vævsforandringer i lever og nyre.

Det skal understreges at sammenligning af doseringerne i de udførte dyreforsøg er meget vanskelig. Selvom der er opgivet en dosering af mængden af ekstrakt, så er der ikke information om opkoncentreringen i ekstrakterne samt fyldestgørende information om deres kemiske sammensætning. Indhol-

det af indholdsstoffer i perikon kan som tidligere omtalt være kraftigt varierende, og derfor kan forsøgsdyrene reelt være udsat for langt mere varierende koncentrationer af bioaktive stoffer end de anvendte doseringer umiddelbart måtte give indtryk af.

Der er udført to små epidemiologiske undersøgelser som på grund af deres størrelse og kvalitet ikke kan bruges til at udlede pålidelige informationer, om det er sikkert at indtage ekstrakter af prikbladet perikon under graviditet og amning.

Øvrige toksikologiske påvirkninger: I en række kliniske undersøgelser, hvor man ser på mulige bivirkninger efter anvendelse af ekstrakter af *H. perforatum* er der udover de allerede nævnte bivirkninger i huden, rapporteret træthed, uro, svimmelhed, søvnbesvær og mavesmerter hos nogle få patienter.

Et nyere 28 dages rotteforsøg viste at rotter af begge køn doseret med 300 mg *H. perforatum* ekstrakt/kg legemsvægt pr. dag havde reduceret indlæringsevne og hukommelse og i hippocampus blev der målt en reduktion i peptider der er vigtige for vedligeholdelse og udvikling af nevceller.

H. perforatum er velkendt for at kunne ændre den medicinske effekt af en lang række lægemidler, herunder blodfortyndende midler (warfarin), p-piller og midler mod HIV. Hyperforin menes at være ansvarlig for hovedparten af disse interaktioner.

Diskussion

Det har længe været kendt, at indtagelse af prikbladet perikon (*Hypericum perforatum*) kan forårsage fotosensibilisering hos mennesker, der har indtaget lægemidler med indhold af ekstrakter af planten og samtidig er blevet eksponeret for sollys. Hvor hyppigt det forekommer hos mennesker, der indtager planten eller præparater udvundet heraf er imidlertid ikke afklaret. På det nuværende grundlag vurderes det, at indtag af *H. perforatum* giver anledning til alvorlige sundhedsmæssige betænkeligheder, i forhold til om længere tids indtag kan påvirke linsens gennemskinnelighed og føre til udvikling af øjensygdommen katarakt (grå stær). De ovennævnte toksiske effekter er primært relateret til urtens indhold af hypericin og pseudohypericin. Hypericin er fundet fotogenotoksisk *in vitro*, men der mangler undersøgelser der kan afklare om indtagelse af urten kan forøge risikoen for udvikling af kræft, særligt i de dele af kroppen, der udsættes for lyspåvirkning. Der er utilstrækkelige data til at afklare om indtagelse af urten under graviditet og amning kan føre til udviklingsskader på afkommet, men de tilgængelige data for effekter på udviklingstoksicitet giver samlet set anledning til sundhedsmæssige betænkeligheder. Det skal bemærkes, at Det europæiske Lægemiddelagentur (EMA) fraråder anvendelse under graviditet og amning, når planten eller præparationer heraf anvendes som naturlægemiddel. Andre beskrevne bivirkninger ved indtag som naturlægemidler er træthed, uro, svimmelhed, søvnbesvær og mavesmerter.

Der er ikke foretaget toksikologiske undersøgelser af hypericin eller *H. perforatum*, urt, udført efter OECD testguidelines eller af en tilsvarende høj standard, herunder undersøgelse af mulig kræftfremkaldende effekter. De nuværende forsøg har enten betydelige kvalitative mangler eller har et begrænset omfang. De manglende toksikologiske data er problematiske i og med at der er tale om vurdering af en plante med en

veldokumenteret toksisk effekt. Der er således et behov for at der gennemføres toksikologiske guideline-studier, herunder undersøgelser, der tager højde for urtens fototoksiske potentiale.

TDI: Samlet set konkluderes det at der ikke foreligger tilstrækkeligt med videnskabelige data til at der kan fastsættes en sundhedsmæssig baseret grænse for et sikkert indtag af *H. perforatum*, eller en tolerabel daglig indtagelse (TDI) for hypericin og pseudohypericin. Denne vurdering er i overensstemmelse med vurderingen fra SCF (2002), som ikke kunne fastsætte en Acceptabel Daglig Indtagelse (ADI) for anvendelse af hypericin eller ekstrakter af *Hypericum* som aromastof eller kilde til aroma.

TTC - totalhypericin: Som beskrevet foreligger der mekanistiske studier der underbygger en klar mistanke om at hypericin (samt de øvrige naphthodianthrone) kan forårsage fototoksiske skader på øjnene, samt at en grænse, der sikrer mod fotosensibilisering, ikke vurderes til at være dækkende for skadevirkninger på øjnene. I tilfælde hvor der ikke foreligger tilstrækkelige data for et stof til at fastsætte en TDI, kan TTC (Threshold of Toxicological Concern) konceptet i visse situationer anvendes som et groft screeningsværktøj for i hvilket omfang indtaget af et givent stof udgør en risiko og behovet for nye toksikologiske undersøgelser (EFSA 2012, 2016). TTC-konceptet bygger på den erkendelse, at der for forskellige grupper af kemiske stoffer, kan angives et nedre eksponeringsniveau, hvorunder der er en lav sandsynlighed for at stoffet vil give anledning til skadevirkninger. Det er dog vigtigt at understrege, at en TTC værdi ikke er at sidestille med en TDI eller ADI værdi.

Både hypericin og pseudohypericin samt deres protoformer tilhører Cramer struktur klasse III (Toxtree v.2.6.13). Dette fører til en TTC på 1,5 µg/kg legemsvægt/dag. Da alle stoffer antages at have samme toksikologisk virkningsmekanisme adderes stofferne således, at den endelige TTC bliver 1,5 µg total-hypericin/dag/kg legemsvægt svarende til 90 µg/dag for en voksen (60 kg legemsvægt), hvor totalhypericin er summen af hypericin og pseudohypericin samt deres protoformer. Det betyder at hvis indholdet af totalhypericin i plantematerialet ligger på eks. 0,1 % af tørvægten, så kan der maksimalt kan doseres 90 mg tørret urt/dag til en voksen person, hvis TTC ikke skal overskrides. Indholdet af totalhypericin i *H. perforatum* er stærkt varierende. Der er rapporteret om gennemsnitlige indhold i blandinger af blomster, blomsterknopper og blade, varierende fra under 0,01 % totalhypericin op til 0,75 % i de tørrede overjordiske plantedele. Indholdet er højest i blomster/blomsterknopper.

Selvom indtaget af totalhypericin fra indtag af *H. perforatum* ligger under 1,5 µg total-hypericin/dag/kg legemsvægt, bør kraftig lyspåvirkning af kroppen i almindelighed og øjnene i særdeleshed, undgås, eftersom det ikke er afklaret, hvorvidt hypericin og pseudohypericin er eneansvarlige for urtens fototoksiske effekter. En artikel peger på, at hyperforin ligeledes har fototoksisk potentiale.

Der er dog en afgørende usikkerhed i klassifikationen efter TTC-konceptet. Såfremt et stof vurderes som genotoksisk ændres TTC til 0,0025 µg/dag/kg svarende til 0,15 µg/dag. De nuværende data peger på, at hypericin er fotogenotoksisk *in vitro*. Det er dog uafklaret, om fotogenotoksiske stoffer skal vurderes på linje med genotoksiske stoffer og der er tillige behov for *in vivo* forsøg for at afklare om hypericin også kan vurderes som fotogenotoksisk *in vivo*.

Selv om der ses bort fra totalhypericin, så fjerner det ikke de sundhedsmæssige betænkeligheder for børn, gravide og ammendes indtag af urten, eftersom de udviklingsskader der er fundet ikke kan kædes sammen med indholdet af hypericin eller andre naphthodianthroner.

TTC konceptet er ikke brugbart for selve urten.

Særlige bemærkninger vedrørende anvendelse af urten til te: Vurderingen kompliceres af, at det er uafklaret i hvilket omfang hypericinerne trænger ud i teen. De to referencer, der eksisterer, er modstridende. Hypericin og pseudohypericin kan muligvis ekstraheres ud i teen eller findes som partikler, der ikke er stoppet af teposen. Dog må det forventes, at hypericin- og hyperforinindholdet vil være betragteligt reduceret og også indholdet af pseudohypericin være reduceret i et betydeligt omfang, hvilket igen reducere den toksikologiske bekymring for indtag af te fremstillet af urten. Til gengæld kan forbrug af urten i form af te føre til et temmelig stort indtag, hvis ekstraktionsdata fra Niesel & Schilcher (1990) er korrekt, hvilket vil sige en ekstraktion på 5,5 % hypericin og 22 % pseudohypericin af den mængde, der findes i udgangsmaterialet. Eks. vil 3 kopper te dagligt (tre teskefulde pr. kop) føre til indtag af ekstraktet af 16 g tørret urt. Hvis der eksempelvis regnes på et indhold af totalhypericin på hhv. 0,03 % (meget lavt indhold) og 0,3 % (ofte rapporteret indhold) og en fordeling mellem hypericin og pseudohypericin på 1:4, så vil indtaget være 66 - 660 µg hypericin og 792 - 7920 µg pseudohypericin svarende til indtagelse af 858 - 8580 µg totalhypericin per dag. Dette er langt over, hvad der indtages via kosttilskud. Det må derfor konkluderes, at der ved indtagelse af perikonte stadig er en sundhedsmæssig bekymring vedrørende fotosensibilisering. De nuværende ekstraktionsforsøg er dog af en tvivlsom kvalitet. Der er behov for flere ekstraktionsundersøgelser.

Ud over en mulig fotosensibilisering kan indtag af urten muligvis udgøre en risiko for påvirkningen af fosteret hos gravide. Men det er ikke er klarlagt, hvilke stoffer, der forårsager de observerede effekter i dyreforsøg. Effekterne kan skyldes hydrofile stoffer, der let ekstraheres ud i teen. Det er således ikke muligt med de nuværende data at vurdere, om indtag af te udgør en større risiko (grundet større forbrug af urten) eller mindre risiko (grundet reduktion i de ekstraherede aktivstoffer) end indtag af urten via kosttilskud.

Særlige bemærkninger vedrørende øvrig anvendelse af urten: Enhver anvendelse af prikbladet perikon som egentlig fødevare (eks. anvendelse i salater) kan føre til indtagelse af høje doser af hypericin, pseudohypericin og hyperforin. DTU Fødevareinstituttet er ikke bekendt med at urten tidligere har været anvendt som en egentlig fødevare. En sådan ny anvendelse af planten vil være forbundet med alvorlige sundhedsmæssige betænkeligheder.

Særlige bemærkninger vedrørende anvendelse af *H. perforatum* og som aromastof eller fødevarer ingrediens med aromagivende egenskaber: Denne anvendelse er reguleret efter EU forordning 1334/2008. Eneste tilladte anvendelse er tilsætning til alkoholiske drikkevarer. Eftersom dette område er EU reguleret, foretages der ikke nogen toksikologisk vurdering for eksponeringen fra alkoholiske drikkevarer.

Særlige bemærkninger vedrørende anvendelse af hypericin som aromastof: Denne anvendelse er reguleret efter EU forordning 1334/2008. Ingen anvendelse er tilladt.

Referencer

- Abbet C., Mayor R., Roguet D., Spichiger R., Hamburger M. and Potterat O., 2014. Ethnobotanical survey on wild alpine food plants in Lower and Central Valais (Switzerland). *Journal of Ethnopharmacology*, 151, 624-634.
- Araya O.S. and Ford E.J.H., 1981. An Investigation of the type of Photosensitization caused by the Ingestion of St. John's Wort (*Hypericum Perforatum*) by Calves. *Journal of Comparative Pathology*, 91, 135-142.
- Bagdonaite E., Janulis V., Ivanauskas L. and Labokas J., 2012. Between Species Diversity of *Hypericum perforatum* and *H. maculatum* by the Content of Bioactive Compounds. *Natural Product Communications*, 7, 199-200.
- Bagdonaite E., Mártonfi P., Repčák M. and Labokas J., 2010. Variation in the contents of pseudohypericin and hypericin in *Hypericum perforatum* from Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 634-640.
- Barnes J., Anderson L.A. and Phillipson J.D., 2001. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 583-600.
- Biber A., Fischer H., Römer A. and Chatterjee S.S., 1998. Oral bioavailability of hyperforin from *hypericum* extracts in rats and human volunteers. *Pharmacopsychiatry*, 31, 36-43.
- Booth J.N. and McGwin G., 2009. The Association between Self-Reported Cataracts and St. John's Wort. *Current Eye Research*, 34.
- Borges L.V., do Carmo Cancino J.C.a., Peters V.M., Casas L.L. and de Oliveira Guerra M., 2005. Development of Pregnancy in Rats Treated with *Hypericum perforatum*. *Phytotherapy Research*, 19, 885-887.
- Borrelli F. and Izzo A.A., 2009. Herb-Drug Interactions with St John's Wort (*Hypericum perforatum*): an Update on Clinical Observations. *The AAPS Journal*, 11, 710-727.
- Bourke C.A., 2000. Sunlight associated hyperthermia as a consistent and rapidly developing clinical sign in sheep intoxicated by St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Australian Veterinary Journal*, 78, 483-488.
- Bourke C.A., 2003. The effect of shade, shearing and wool type in the protection of Merino sheep from *Hypericum perforatum* (St John's wort) poisoning. *Australian Veterinary Journal*, 81, 494-498.
- Bourke C.A. and White J.G., 2004. Reassessment of the toxicity of *Hypericum perforatum* (St John's wort) for cattle. *Australian Veterinary Journal*, 82, 707-710.
- Brattström A., 2009. Long-term effects of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) treatment: A 1-year safety study in mild to moderate depression. *Phytomedicine*, 16, 277-283.
- Brockmöller J., Reum T., Bauer S., Kerb R., Hübner W.D. and Roots I., 1997. Hypericin and Pseudohypericin: Pharmacokinetics and Effects on Photosensitivity in Humans. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 94-101.
- Brøndegaard V.J., 1987. Folk og flora : Dansk etnobotanik. Rosenkilde og Bagger
- Butterweck V., 2009. St. John's Wort: Quality Issues and Active Compounds. In: *Botanical Medicine: From Bench to Bedside*. Eds Cooper R, Kronenberg F. 1, Mary Ann Liebert, Inc., 69-91.
- Campos L.V., Guerra M.d.O., Peters V.M. and de Cassia da Silveira e. Sa R., 2017a. Effect of the extract of *Hypericum perforatum* on neurodevelopment of regions related to pain control and convulsion. *J. Med. Plants Res.*, 11, 107-117.
- Campos L.V., Vieira V.A., Silva L.R., Jasmin J., Guerra M.O., Peters V.M. and da Silveira e Sa R.d.C., 2017b. Rats treated with *Hypericum perforatum* during pregnancy generate offspring with behavioral changes in adulthood. *Revista Brasileira De Farmacognosia-brazilian Journal of Pharmacognosy*, 27, 361-368.
- Chan L.Y., Chiu P.Y. and Lau T.K., 2001. A study of hypericin-induced teratogenicity during organogenesis using a whole rat embryo culture model. *Fertility and sterility*, 76, 1073-1074.
- Cooper M.R. and Johnson A.W., 1988. Poisonous plants and fungi in Britain. Animal and human poisoning. The Stationary Office, 0-11-242981-5.
- Danmarks fugle og natur 2017. www.fugleognatur.dk Accessed on 24 november.
- Dorossiev I., 1985. Determination of Flavonoids in *Hypericum perforatum*. *Pharmazie*, 40, 585-586.

- EFSA (European Food Safety Authority and World Health Organization (EFSA)), 2012. Scientific Opinion on Exploring options for providing advice about possible human health risks based on the concept of Threshold of Toxicological Concern (TTC). EFSA Journal, 2012;10(7):2750, 103.
- EFSA (European Food Safety Authority and World Health Organization (EFSA)), 2016. Review of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) approach and development of new TTC decision tree. EFSA Supporting publication, 2016:EN-1006, 50.
- Eggelkraut-Gottanka S.G., Abed S.A., Müller W. and Schmidt P.C., 2002. Quantitative Analysis of the Active Components and the By-products of Eight Dry Extracts of *Hypericum perforatum* L. (St John's wort). Phytochemical Analysis, 13, 170-176.
- Ehrenshaft M., Roberts J.E. and Mason R.P., 2013. Hypericin-mediated photooxidative damage of α -crystallin in human lens epithelial cells. Free Radical Biology and Medicine, Free Radic. Biol. Med, 60, 347-354.
- EMA 2009. Assessment report *Hypericum Perforatum* L., Herba. EMA/HMPC/101303/2008, 1-77.
- Ernst E., Rand J.I., Barnes J. and Stevinson C., 1998. Adverse effects profile of the herbal antidepressant St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). European Journal of Clinical Pharmacology, 54, 589-594.
- Filippini R., Piovan A., Borsarini A. and Caniato R., 2010. Study of dynamic accumulation of secondary metabolites in three subspecies of *Hypericum perforatum*. Fitoterapia, 81, 115-119.
- Franchi G.G., Nencini C., Collavoli E. and Massarelli P., 2011. Composition and antioxidant activity *in vitro* of different St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) extracts. Journal of Medicinal Plants Research, 5, 4349-4353.
- Garrett B.J., Cheeke P.R., Miranda C.L., Goeger D.E. and Buhler D.R., 1982. Consumption of poisonous plants (*Senecio jacobaea*, *Symphytum officinale*, *Pteridium aquilinum*, *Hypericum perforatum*) by rats: Chronic toxicity, mineral metabolism, and hepatic drug-metabolizing enzymes. Toxicology Letters, 10, 183-188.
- Gray D.E., Pallardy S.G., Garrett H.E. and Rottinghaus G.E., 2003. Effect of acute drought stress and time of harvest on phytochemistry and dry weight of St. John's wort leaves and flowers. Planta Med, 69, 1024-1030.
- Gregoretti B., Stebel M., Candussio L., Crivellato E., Bartoli F. and Decorti G., 2004. Toxicity of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) administered during pregnancy and lactation in rats. Toxicology and Applied Pharmacology, 200, 201-205.
- He Y.Y., Chignell C.F., Miller D.S., Andley U.P. and Roberts J.E., 2004. Phototoxicity in Human Lens Epithelial Cells Promoted by St. John's Wort. Photochemistry and Photobiology, 80, 583-586.
- Head C.S., Luu Q., Sercarz J. and Saxton R., 2006. Photodynamic therapy and tumor imaging of hypericin-treated squamous cell carcinoma. World Journal of Surgical Oncology, 4.
- IARC (International Agency for Research on Cancer (IARC)), 1992. Solar and ultraviolet radiation (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 55). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 55, 325.
- Kahyaoglu F., Gokcimen A. and Demirci B., 2018. Investigation of the embryotoxic and teratogenic effect of *Hypericum perforatum* in pregnant rats. Turk J Obstet Gynecol, 15, 87-90.
- Kako M.D.N., Al-Sultan I.I. and Saleem A.N., 1993. Studies of Sheep Experimentally Poisoned with *Hypericum perforatum*. Veterinary and Human Toxicology, 35, 298-300.
- Kerb R., Brockmoeller J., Staffeldt B., Ploch M. and Roots I., 1996. Single-dose and Steady-State Pharmacokinetics of Hypericin and Pseudohypericin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40, 2087-2093.
- Kersten B., Zhang J., Brendler-Schwaab S.Y., Kasper P. and Mueller L., 1999. The application of the micronucleus test in Chinese hamster V79 cells to detect drug-induced photogenotoxicity. Mutation Research, 445, 55-71.
- Klier C.M., Schaefer M.R., Schmid-Siegel B., Lenz G. and Mannel M., 2002. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*): Is it Safe during Breastfeeding? Pharmacopsychiatry, 35, 29-30.
- Klier C.M., Schmid-Siegel B., Lenz G., Saria A., Lee A. and Zernig G., 2006. St. John's wort (*Hypericum perforatum*) and Breastfeeding: Plasma and Breast Milk Concentrations of Hyperforin for 5 Mothers and 2 Infants. The Journal of clinical psychiatry., 67, 305-309.
- Lee A., Minhas R., Matsuda N., Lam M. and Ito S., 2003. The Safety of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) During Breastfeeding. Journal of Clinical Psychiatry, 64.

- Luczaj L., 2010. Changes in the utilization of wild green vegetables in Poland since the 19th century: a comparison of four ethnobotanical surveys. *Journal of Ethnopharmacology*, 128.
- Luczaj L., 2012. Ethnobotanical review of wild edible plants of Slovakia. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81, 245-255.
- Luczaj L. and Szymanski W.M., 2007. Wild vascular plants gathered for consumption in the Polish countryside: a review. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3.
- Menendez-Baceta G., Aceituno-Mata L., Tardio J., Reyes-Garcia V. and Pardo-de-Santayana M., 2012. Wild edible plants traditionally gathered in Gorbeialdea (Biscay, Basque Country). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59, 1329-1347.
- Moretti M.E., Maxson A., Hanna F. and Koren G., 2009. Evaluating the safety of St. John's Wort in human pregnancy. *Reproductive Toxicology*, 28, 96-99.
- Nahrstedt A. and Butterweck V., 2010. Lessons Learned from Herbal Medicinal Products: The Example of St. John's Wort. *Journal of Natural Products*, 73, 1015-1021.
- Nakamura K., Aizawa K., Yamauchi J. and Tanoue A., 2013. Hyperforin inhibits cell proliferation and differentiation in mouse embryonic stem cells. *Cell Prolif*, 46, 529-537.
- Niesel S. and Schilcher H., 1990. Johanniskrat (*Hypericum perforatum* L.). Vergleich der Freisetzung von Hyperizin und Pseudohypericin in Abhängigkeit verschiedener Extraktionsbedingungen. *Archiv der Pharmazie*, 323, 755-755.
- Ondrizek R.R., Chan P.J., Patton W.C. and King A., 1999. An alternative medicine study of herbal effects on the penetration of zona-free hamster oocytes and the integrity of sperm deoxyribonucleic acid. *Fertility and Sterility*, 71, 517-522.
- Onoue S., Seto Y., Ochi M., Inoue R., Ito H., Hatano T. and Yamada S., 2011. In vitro photochemical and phototoxicological characterization of major constituents in St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts. *Phytochemistry*, 72, 1814-1820.
- Passalacqua N.G., De Fine G. and Guarrera P.M., 2006. Contribution to the knowledge of the veterinary science and of the ethnobotany in Calabria region (Southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2.
- Pieroni A., 1999. Gathered Wild Food Plants in the Upper Valley of the Serchio River (Garfagnana), Central Italy. *Economic Botany*, 53, 327-341.
- Pietta P., Gardana C. and Pietta A., 2001. Comparative evaluation of St. John's wort from different Italian regions. *Farmaco*, 56, 491-496.
- Poutaraud A., Di Gregorio F., Tin V.C. and Girardin P., 2001. Effect of light on hypericins contents in fresh flowering top parts and in an extract of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Med*, 67, 254-259.
- Rayburn W.F., Christensen H.D. and Gonzalez C.L., 2000. Effect of antenatal exposure to Saint John's wort (*Hypericum*) on neurobehavior of developing mice. *Am J Obstet Gynecol*, 183, 1225-1231.
- Rayburn W.F., Gonzalez C.L., Christensen H.D., Harkins T.L. and Kupiec T.C., 2001a. Impact of hypericum (St.-John's-wort) given prenatally on cognition of mice offspring. *Neurotoxicology and Teratology*, 23, 629-637.
- Rayburn W.F., Gonzalez C.L., Christensen H.D. and Stewart J.D., 2001b. Effect of prenatally administered hypericum (St John's wort) on growth and physical maturation of mouse offspring. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 184, 191-195.
- Rusalepp L., Raal A., Puessa T. and Maeorg U., 2017. Comparison of chemical composition of *Hypericum perforatum* and *H-maculatum* in Estonia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 73, 41-46.
- Rückert U., Likussar W. and Michelitsch A., 2007. Simultaneous determination of total hypericin and hyperforin in St. John's wort extracts by HPLC with electrochemical detection. *Phytochem Anal*, 18, 204-208.
- SCF 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the presence of hypericin and extracts of *Hypericum* sp. in flavourings and other food ingredients with flavouring properties. *SCF/CS/FLAV/FLAVOUR/5 ADD1 Final*, 1-19.
- Schempp C.M., Winghofer B., Langheinrich M., Schöpf E. and Simon J.C., 1999. Hypericin Levels in Human Serum and Interstitial Skin Blister Fluid after Oral Single-Dose and Steady-State Administration of

- Hypericum perforatum* Extract (St. John's Wort). Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology, 12, 299-304.
- Schempp C.M., Wingofer B., Müller K., Schulte-Mönting J., Mannel M., Schöpf E. and Simon J.C., 2003. Effect of Oral Administration of *Hypericum perforatum* Extract (St. John's Wort) on Skin Erythema and Pigmentation Induced by UVB, UVA, Visible Light and Solar Simulated Radiation. *Phytotherapy Research*, 17, 141-146.
- Schey K.L., Patat S., Chignell C.F., Datillo M., Wang R.H. and Roberts J.E., 2000. Photooxidation of Lens α -Crystallin by Hypericin (Active Ingredient in St. John's Wort). *Photochemistry and Photobiology*, 72, 200-203.
- Schmitt L.A., Liu Y., Murphy P.A., Petrich J.W., Dixon P.M. and Birt D.F., 2006. Reduction in hypericin-induced phototoxicity by *Hypericum perforatum* extracts and pure compounds. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 85, 118-130.
- Simkova K. and Polesny Z., 2015. Ethnobotanical review of wild edible plants used in the Czech Republic. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88, 49-67.
- Sõukand R. and Kalle R., 2016. Changes in the use of wild food plants in Estonia, 18th - 21st century. Estonian Literacy Museum, Springer International Publishing, 1-172.
- Southwell I.A. and Bourke C.A., 2001. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). *Phytochemistry*, 56, 437-441.
- Staffeldt B., Kerb R., Brockmüller J., Ploch M. and Roots I., 1994. Pharmacokinetics of Hypericin and Pseudohypericin After Oral Intake of the *hypericum perforatum* Extract LI 160 in Healthy Volunteers. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, 7 Suppl 1, S47-S53.
- Theodossiou T.A., Hothersall J.S., De Witte P.A., Pantos A. and Agostinis P., 2009. The Multifaceted Photocytotoxic Profile of Hypericin. *Molecular Pharmaceutics*, 6, 1775-1789.
- Thieden E., Philipsen P.A., Heydenreich J. and Wulf H.C., 2004. UV radiation exposure related to age, sex, occupation, and sun Behavior based on time-stamped personal dosimeter readings. *Archives of Dermatology*, 140, 197-203.
- Traynor N.J., Beattie P.E., Ibbotson S.H., Moseley H., Ferguson J. and Woods J.A., 2005. Photogenotoxicity of hypericin in HaCaT keratinocytes: Implications for St. John's Wort supplements and high dose UVA-1 therapy. *Toxicology Letters*, 158, 220-224.
- Umek A., Kreft S., Kartnig T. and Heydel B., 1999. Quantitative phytochemical analyses of six hypericum species growing in slovenia. *Planta Med*, 65, 388-390.
- Valvassori S.S., Borges C., Bavaresco D.V., Varela R.B., Resende W.R., Peterle B.R., Arent C.O., Budni J. and Quevedo J., 2018. *Hypericum perforatum* chronic treatment affects cognitive parameters and brain neurotrophic factor levels. *Rev Bras Psiquiatr*, 40, 367-375.
- Vieira M.L., Hamada R.Y., Gonzaga N.I., Bacchi A.D., Barbieri M., Moreira E.G., Mesquita Sde F. and Gerardin D.C., 2013a. Could maternal exposure to the antidepressants fluoxetine and St. John's Wort induce long-term reproductive effects on male rats? *Reprod Toxicol*, 35, 102-107.
- Vieira V.c.A., Campos L.V., Silva L.R., Guerra M.O., Peters V.M. and SÃi R.d.C.s.S., 2013b. Evaluation of postpartum behaviour in rats treated with *Hypericum perforatum* during gestation. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23, 796-801.
- Wahlman J., Hirst M., Roberts J.E., Prickett C.D. and Trevithick J.R., 2003. Focal Length Variability and Protein Leakage as Tools for Measuring Photooxidative Damage to the Lens. *Photochemistry and Photobiology*, 78, 88-92.
- Waser M. and Falk H., 2007. Towards Second Generation Hypericin Based Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Current Organic Chemistry*, 11, 547-558.
- Wichtl M., 2002. Teedrogen und phytopharmaka. 4, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2002, Stuttgart, Germany, 3-8047-1854-X, 305-308.
- Wielgus A.R., Chignell C.F., Miller D.S., Van Houten B., Meyer J., Hu D.N. and Roberts J.E., 2007. Phototoxicity in Human Retinal Pigment Epithelial Cells Promoted by Hypericin, a Component of St. John's Wort. *Photochemistry and Photobiology*, 83, 706-713.
- Woelk N., Burkard G. and Grünwald J., 1993. Evaluation of the of the benefits and risks of the hypericum extract LI-160 based on a drug-monitoring study with 3250 patients. *Nervenheilkunde*, 12, 308-313.

