

INSTYTUT ROŚLIN I PRZETWORÓW ZIELARSKICH
w Poznaniu

OPINIA EKSPERTA

DIOSMININ

Autor: Doc. dr hab. n. med. Przemysław M. Mrozikiewicz
Data: czerwiec 2005

SPIS TREŚCI	Strona
1. DANE OGÓLNE	3
2. RECEPTURA PRODUKTU	3
3. OMÓWIENIE RECEPTURY	3
4. UZASADNIENIE CELOWOŚCI WPROWADZENIA DO OBROTU	4
DIOSMINA	7
HEKSAFOSFORAN INOZYTOLU	11
GENISTEINA	14
KWAS ELAGOWY	19
KATECHINY HERBATY	24
5. PIŚMIENNICTWO	38

1. DANE OGÓLNE

Przedmiot oceny:

Produkt o nazwie handlowej: DIOSMININ

Producent:

KENAY A.G. ANDRZEJ GRZEGOREK

Ul. Czeszochowska 25

62-800 Kalisz

2. RECEPTURA PRODUKTU

Jedna tabletkę zawiera:

L.p.	Substancje aktywna	Ilość
1.	Diosmina	100 mg
2.	Inozytolu sześćfosforan	25 mg
3.	Genisteina	25 mg
4.	Katechiny herbaty	25 mg
5.	Kwas elagowy	25 mg
6.	Chlorofilina sodowo-miedziowa	20 mg
Substancje pomocnicze		
1.	Celuloza mikrokrystaliczna (Vivapur 101)	198 mg
2.	Karmeloza sodowa usieciowana (Vivasol)	3 mg
3.	Krzemu dwutlenek koloidalny (Aerosil)	3 mg
4.	Magnezu stearynian	3 mg
5.	Polivinylopirolidon (PVP K-30)	3 mg
6.	Polietylenoglikol	13 mg

3. OMÓWIENIE RECEPTURY

Receptura preparatu „DIOSMININ“ w zakresie substancji czynnych biologicznie jest pięcioskładnikowa. Produkt zawiera pięć składników pochodzenia roślinnego, którymi są diosmina, inozytolu sześćfosforan, genisteina, katechiny herbaty i kwas elagowy.

Zgodnie z przedstawionymi dokumentami jakość i zawartość substancji czynnych została potwierdzona przez producenta wynikami badań analitycznych.

Zalecaną dawkę jednorazową stanowi jedna tabletki, a dawkę dobową dwie tabletki. Przy tak ustalonym dawkowaniu, w odniesieniu do żadnego ze składników produktu nie występuje zastosowanie dawki leczniczej określonej/zalecanej przez Komisję E, Farmakopeę Europejską, Farmakopeę Polską, ESCOP i WHO lub inną monografię.

W ocenianym produkcie **DIOSMININ** ilość poszczególnych składników czynnych ustalona jest na poziomie wskazanym dla profilaktyki.

Jakość i ilość zastosowanych substancji pomocniczych odpowiada obowiązującym przepisom. Zawartość metali szkodliwych dla zdrowia oraz parametry mikrobiologiczne preparatu odpowiadają wymaganiom określonym w obowiązującym Rozporządzeniu Ministra Zdrowia.

4. UZASADNIENIE CELOWOŚCI WPROWADZENIA DO OBROTU

Szczegółowe dane dotyczące działania składników chemicznych zostały przedstawione w załączonej monografii. Biorąc pod uwagę spektrum działania związków obecnych w surowcach wykorzystywanych do produkcji preparatu **DIOSMININ**, a w szczególności zawartość flawonoidów, uzasadnionym wydaje się być wprowadzenie produktu na rynek konsumencki jako suplement diety.

Przegląd wybranych i dostępnych wyników badań farmakologicznych, klinicznych oraz analiza profilu bezpieczeństwa pozwala na stwierdzenie, że korzyść stosowania produktu, **DIOSMININ** jako suplementu diety przewyższa ryzyko. Na podstawie dostępnych danych bibliograficznych można przyjąć, że przedstawiona receptura produktu **DIOSMININ**, oraz zaproponowane dawkowanie substancji czynnej nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumenta, przy jednoczesnej korzyści zarówno w profilaktyce jak i poprawie ogólnego dobrostanu człowieka.

Składniki preparatu **DIOSMININ** należą do związków określanych w medycynie mianem substancji profilaktycznych, których dostarczanie nie jest niezbędne każdego dnia (w odróżnieniu od podstawowych składników odżywczych pokarmów, w tym witamin). Substancje te jednak pełnią w organizmie człowieka bardzo ważną rolę. Składniki te biorą udział w różnorodnych procesach metabolicznych, naprawczych (odtruwających) i adaptacyjnych ustroju, wpływając pośrednio na ogólny stan zdrowia, zapobiegając przy tym różnorodnym stanom patologicznym.

W skład preparatu wchodzi związek z różnych grup chemicznych odpowiedzialne za aktywność farmakologiczną produktu **DIOSMININ**. Głównym składnikiem jest związek z grupy flawonoidów diosmina. Ponadto w produkcie obecne są tu również pochodne związków flawonoidowych takie jak: katechiny herbaty, kwas elagowy, związek z grupy izoflawonów genisteina będący fitoestrogenem oraz sześćfosforan inozytolu.

Związki flawonoidowe, nazywane również flawonoidami lub bioflawonoidami, pełnią w komórce roślinnej funkcję ochronną przed chorobami oraz szkodliwym działaniem słońca, grzybów i insektów. Wprowadzone do organizmu człowieka mogą pełnić podobną rolę jak witaminy.

Najczęściej połączone są chemicznie z cukrami tworząc glikozydy i w takiej właśnie postaci są na ogół dobrze przyswajane przez organizm. Flawonoidy charakteryzują się stosunkowo szerokim spektrum aktywności biologicznej, co powoduje ich stosowanie w terapii i profilaktyce wielu schorzeń. Wpływają korzystnie na biosyntezę kolagenu i poprawiając tym samym stabilność tkanki łącznej, a więc i wygląd skóry. Zaliczane są do bardzo cenionej grupy i uważane za jedne z najlepszych w tym aspekcie substancji o właściwościach antyoksydacyjnych, czyli tzw. "zmiataczy wolnych rodników". Przynoszą korzystne efekty zdrowotne oraz opóźniają procesy starzenia. Wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwalergiczne oraz posiadają zdolność pochłaniania promieniowania ultrafioletowego, co znajduje zastosowanie w przemyśle kosmetycznym.

Dane dotyczące potencjalnego działania przeciwnowotworowego znaleziono dla wszystkich związków wchodzących w skład preparatu. Większość prac w tym kierunku stanowią badania *in vitro* oraz badania na zwierzętach, choć spotykane są już prace z udziałem ludzi. Nie zmienia to jednak faktu uzyskiwania pozytywnych wyników prowadzonych badań. Aktywność antyoksydacyjna opiniowanego preparatu przypisywana jest właściwie wszystkim jego składnikom. Dostępne dane naukowe potwierdzają takie właściwości poszczególnych związków. Ponadto główny składnik preparatu diosmina, wykazuje pozytywne działanie na tkankę naczyń krwionośnych, przez co znalazła ona zastosowanie w profilaktyce schorzeń żył. Mechanizm działania diosminy obejmuje poprawę napięcia ścian naczyń krwionośnych, zwiększenie drenażu naczyń limfatycznych, działanie ochronne mikrokrażenia w łożysku włosnikowym, hamowanie reakcji zapalnych oraz redukcję przepuszczalności naczyń włosowatych. Podobnie jak inne flawonoidy diosmina jest silnym inhibitorem prostoglandyn E2 (PGE2) i tromboksyn A2 (TxA2) jak również jest inhibitorem aktywności leukocytów ich migracji i adhezji. Diosmina wywołuje obniżenie w osoczu poziomu cząsteczek adhezji (endothelial adhesion molecules) oraz obniżenie aktywności neutrofilowej. Mechanizm ten wskazuje na działanie ochronne oraz procesy naprawcze w uszkodzonych tkankach naczyń krwionośnych. Działanie heksafluoroboranu inozytoli obecnego w produkcie skierowane jest na zapobieganie proliferacji komórek, co jest wynikiem jego zdolności do chelatowania jonów dwuwartościowych, których obecność z kolei istotna jest w procesach rozwojowych komórek (w tym komórek nowotworowych). Zawarta w produkcie genisteina posiada słabą aktywność estrogeną, wykazaną zarówno w testach *in vitro* jak i *in vivo*. Genisteina posiada również aktywność antyoksydacyjną, zdolność neutralizowania wolnych rodników oraz hamowanie peroksydacji lipidów. Ponadto genisteina przeciwdziała tworzeniu anionów ponadtlenkowych z udziałem oksydazy ksantynowej. W badaniach z udziałem zwierząt wykazano, że genisteina zwiększa aktywność przeciwutleniaczy takich jak: dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationu, katalaza i reduktaza glutationu. Słabe działanie estrogenne może również wyjaśniać potencjalne możliwości stosowania genisteiny w przypadku raka prostaty włączając w to inhibicję czynnika jądrowego (NF)-kappa B w komórkach raka prostaty, regulację transformującego czynnika wzrostu TGF- β (ang.; transforming growth factor) oraz inhibicję wzrostu stymulowaną epidermalnym czynnikiem wzrostu EGF (epidermal growth factor).

Działanie przeciwmiażdżycowe genisteiny może być związane z działaniem przeciwutleniającym oraz po części powodowanym słabym działaniem estrogennym. Kwas elagowy zawarty w produkcie Diosminin hamuje chemicznie indukowaną karcenogenezę komórek, reguluje czynnik wzrostu insuliny IGF-II i aktywuje ekspresję p53/p21 doprowadzając do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1/S i apoptozę. W badaniach in vitro wykazano, że kwas elagowy chroni komórki przed oksydacyjnym uszkodzeniem nadtlenu wodoru i bleomecyną. Kwas elagowy posiada zdolność indukowania detoksyfikacji enzymów NADPH i reduktazy chinonowej, która posiada aktywność ochronną przed czynnikami chemicznymi.

Preparat „**DIOSMININ**” można zaliczyć do grupy suplementów diety, przeznaczonych do stosowania przez osoby dorosłe, jako uzupełnienie diety w związki naturalne wykazujące właściwości antyoksydacyjne i przeciwzapalne wpływające pozytywnie na układ krwionośny i metabolizm organizmu. W oparciu o obecny stan wiedzy produkt o przedstawionym składzie może funkcjonować na rynku jako uzupełnienie diety we flawonoidy i inne związki pozytywnie wpływające na funkcje organizmu człowieka. Również przedstawione dane dotyczące bezpieczeństwa stosowania nie budzą zastrzeżeń. Na podstawie aktualnie dostępnej wiedzy korzyść stosowania preparatu DIOSMININ przewyższa ryzyko.

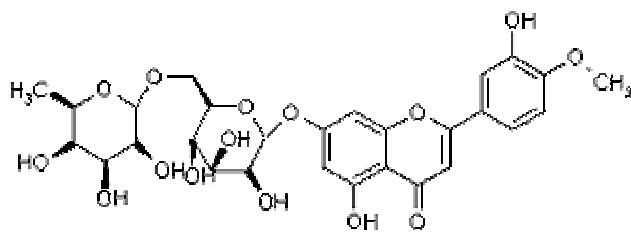
Udokumentowaniem powyższego uzasadnienia jest przedstawiona w dalszej części opracowania charakterystyka botaniczna, chemiczna oraz ocena skuteczności i bezpieczeństwa stosowania surowców roślinnych wchodzących w skład produktu **DIOSMININ**.

DIOSMINA

Dane ogólne

Diosmina jest naturalnie występującym flavonoidem glikozydowym, który izolowany jest z wielu różnych surowców roślinnych. Związek ten może być również pozyskiwany jako pochodna z innego flavonoidu hesperydyny. Po raz pierwszy diosmina została wyizolowana w roku 1925 z surowca roślinnego *Scrophularia nodosa*, a zastosowana w czystej postaci jako środek terapeutyczny w roku 1969. Diosmina uważana jest za substancję chroniącą naczynia krwionośne, używana w terapii leczenia chronicznego zapalenia żył, hemoroidów, obrzęku chłonnego (lymphedema) i żylaków. Jako flawonoid diosmina wykazuje również właściwości przeciwzapalne, zmiatające wolne rodniki i antymutagenne.

:



Rys. 1. Budowa strukturalna Diosminy

$C_{20}H_{25}N_2O_5Cl \cdot C_4H_4O_4$

Masa cząsteczkowa 609

Diosmina budowa chemiczna zbliżona jest do hesperydyny jednak różni się od niej obecnością podwójnego wiązania pomiędzy dwoma atomami w centralnym pierścieniu węglowym diosminy. Diosmina występuje w surowcach roślinnych i może być z nich bezpośrednio izolowana bądź może być wytwarzana poprzez pierwotną ekstrakcję hesperydyny ze skórki cytryny, a następnie przekształceniu hesperydyny do diosminy. Diosmina używana jest od ponad 30 lat w leczeniu zapalenia żył jak i w profilaktyce tego schorzenia, a ostatnio stosowana jest w profilaktyce innych chorób tj. nowotworów, w zespole napięcia przedmiesiączkowego, zapaleniu okrzężnicy i cukrzycy.

Biochemia i farmakokinetyka

Flawonoidy stanowią ogromną grupę związków roślinnych wykazujących podobną budowę chemiczną. Posiadają strukturę trójpierścieniową z dołączonymi grupami hydroksylowymi (OH) ([C.sub.28][H.sub.32][O.sub.15]) Diosmina w naturalnej postaci występuje jako glikozy, posiada ona cząsteczkę cukru dołączoną do jej trójpierścieniowej struktury flawonoidu.

Przeprowadzone badania farmakokinetyczne wykazały, że diosmina jest szybko transformowana przez florę jelitową do jej formy aglikonowej diosmetiny. Dopiero w tej postaci jako diosmetina jest ona absorbowana i szybko transportowana w organizmie z osoczem. Diosmetina jest degradowana do kwasów fenolowych lub ich pochodnych i wydzielana z moczem. Diosmina i diosmetina nie zaabsorbowana jest eliminowana w raz z kałem [Cova I wsp., 1992, Lyseng-Williamson i wsp., 2003].

Mechanizm działania

Mechanizm działania diosminy obejmuje poprawę napięcia ścian naczyń krwionośnych, zwiększenie drenażu naczyń limfatycznych, działanie ochronne mikrokrażenia w łożysku włosniowym, hamowanie reakcji zapalnych oraz redukcję przepuszczalności naczyń włosowatych. Podobnie jak inne flawonoidy diosmina również jest silnym inhibitorem prostoglandyn E2 (PGE2) i tromboksyn A2 (TxA2) jak również jest inhibitorem aktywności leukocytów, migracji i adhezji. Diosmina wywołuje obniżenie w osoczu poziomu cząsteczek adhezji (endothelial adhesion molecules) oraz obniżenie aktywności neutrofilowej. Mechanizm ten wskazuje na działanie ochronne oraz procesy naprawcze w uszkodzonych tkankach naczyń krwionośnych [Labrid 1994, Ramelet 2000].

Badania kliniczne

Chroniczne zapalenie żył/żylaki

Chroniczne zapalenie żył cechuje się bólem, ciężkością nóg, wrażliwością na dotyk oraz skurczami. Schorzeniu temu towarzyszy występowanie żylaków. Przeprowadzono wielośrodkowe międzynarodowe badania w 23 krajach. Badania trwały ponad 2 lata i objęły udziałem 5,052 pacjentów. Celem badania było wykazanie efektywności flawonoidów w leczeniu chronicznej niewydolności żył. Pacjenci otrzymywali 450 mg diosminy i 50 mg hesperydyny dziennie przez 6 miesięcy. Zauważono ciągłą kliniczną poprawę w okresie badania jak również poprawę w jakości życia u pacjentów [Jantet , 2002]. Podobne mieszanki flawonoidów zawierające diosminę, były również efektywne w leczeniu różnych stanów chronicznego zapalenia żył, obejmujących ich owrzodzenie [Ramelet AA. 2001; Bergan i wsp., 2001]. W innych wielośrodkowych randomizowanych badaniach, porównywano standardową terapię leczenia owrzodzeń naczyń krwionośnych z terapią wspartą mieszaniną flawonoidów zawierającą 900 mg diosminy i 100 mg hisperydyny. Standardowe postępowanie lecznicze obejmowało czyszczenie, terapia uciskowa, i pielęgnację skóry w miejscach przyległych. 47 procent pacjentów w grupie leczonej w porównaniu z 28% w grupie stosującej terapię konwencjonalną doświadczono całkowitego wyleczenia wrzodów mniejszych niż 10 cm średnicy [Glinski i wsp., 1999].

Hemoroidy

W badaniach klinicznych wykazano efektywne działanie diosminy w leczeniu ostrych i chronicznych stanów hemoroidów. W podwójnie ślepych placebo kontrolowanych badaniach 120 pacjentów wykazywało poprawę bólu, swędzenia, opuchlizny, rumienia, i krwawienia

[Godeberge 199]. Pacjenci w grupie leczonej otrzymywali mieszaninę flawonoidów (90% diosminy i 10% hisperydyny) w dawce dwóch 500 mg tabletek dziennie przez dwa miesiące.

Zastosowanie diosminy w leczeniu hemoroidów związanych z ciążą nie wywoływało niepożądanego działania na ciążę, rozwój płodu, wagę urodzeniową dziecka, wzrost niemowlęcia czy karmienie piersią. Kobiety w ciąży cierpiące na ostre hemoroidy były leczone przez 8 tygodni przed urodzeniem i cztery tygodnie po porodzie. Ponad połowa kobiet biorących udział w badaniu odczuwała poprawę po czterech dniach podawania leku [Buckshee i wsp., 1997]

Obrzęk chłonny

Diosmina pozytywnie wpływa na układ limfatyczny przez zwiększenie przepływu limfy i ciśnienia onkotycznego [Pecking i wsp. 1997; Pecking, 1995]. Mieszanina flawonoidów zawierająca diosminę była używana do leczenia wtórnego obrzęku chłonnego w konwencjonalnej terapii raka. Wyniki wykazały poprawę symptomów i objętości kończyny; obniżenie objętości spuchniętej kończyny wynosiło 6,8 procent [Pecking, 1995]. Poprawie uległy również parametry funkcjonowania układu limfatycznego.

Cukrzyca

Diosmina wykazuje poprawę wskaźników krwi towarzyszących cukrzycy. Parametry krwi, glikacji i stresu oksydacyjnego były mierzone u pacjentów z cukrzycą typu pierwszego przed i po podaniu mieszaniny flawonów zawierających diosminę. Obniżenie poziomu Ale w hemoglobinie, było związane ze zwiększeniem poziomu peroksydazy glutationu [Manuel i wsp., 1999] wykazując długoterminowe obniżenie poziomu glukozy i zwiększenie aktywności przeciwutleniającej. Diosmina normalizuje szybkość filtracji kapilarnej i zapobiega ischemi u cukrzyków. Badania właściwości reologicznych cukrzycy typu I wykazały że diosmina może ułatwiać hemoreologiczne polepszenie wywołane obniżeniem RBC agregacji, co obniża przepływ krwi, wywołując redukcje zarówno zastoju płynu krążącego i ischamię [Lacombe i wsp., 1988; Lacombe i wsp 1989; Valensi i wsp., 1996].

Stany nowotworowe

Diosmina była badana na wielu modelach zwierzęcych i liniach komórkowych ludzkich nowotworów gdzie wykazano, że wykazuje ona działanie chemoprewencyjne i antyproliferacyjne [Kuntz i wsp 1999; Yang i wsp. 1997; Tanaka i wsp 1997; Tanaka i wsp., 1997; Tanaka i wsp., 1997]

Inne wskazania

Pozytywne efekty podawania diosminy wykazano również w leczeniu innych schorzeń tj. w zastoju żylnym [Ramelet, 2001], gojeniu ran [Hasanoglu i wsp., 2001], syndromie przedmiesiączkowym [Serfaty 1997] oraz infekcjach wirusowych [Bae 2000].

Interakcje

Diosmina może wywoływać obniżenie RGC agregacji i lepkości krwi [Lacombe i wsp., 1988]. Brak jest udokumentowanych przypadków reakcji niepożądanych pomiędzy diosminą, a innymi produktami leczniczymi. Należy jednak zachować ostrożność przy łączeniu diosminy z aspiryną lub innymi produktami wpływającymi na lepkość krwi. Badania u zdrowych ochotników wskazują, że diosmina ma działanie hamujące na enzymy cytochromowe P- 450, co może mieć wpływ na farmakokinetykę przyjmowanych równocześnie leków. Pacjenci przyjmujący metronidazol po 9 dniach przyjmowania 450 mg diosminy wykazywali zmiany w stężeniu metronidazolu w osoczu. Zmiany stężeniu tego związku jak i jego metabolitów występowały również w moczu, w porównaniu z grupą kontrolną [Rajnarayana i wsp., 2003].

Toksyczność i działanie uboczne

W badaniach na zwierzętach mieszanina flawonów zawierająca 90% diosminy i 10% hesperydiny wykazywała LD50 w dawce wyższej niż 3g/k. Dodatkowe badania na zwierzętach wykazały brak ostrej lub chronicznej toksyczności po podaniu doustnym przez 13 i 26 tygodni dawki odpowiadającej 35 krotnej dziennej dawki rekomendowanej [Meyer, 1994].

Diosmina uważana jest za związek nie posiadający działania mutagennego i nie wykazuje działania na funkcje rozrodcze [Meyer, 1994].

Dawkowanie

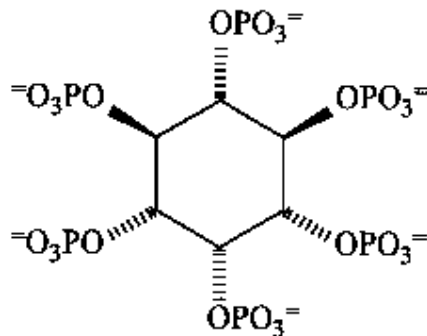
Standardowa dawka diosminy wynosi 500 mg dwa razy dziennie. Dla dawki uderzeniowej stosuje się 1,000 mg trzy razy dziennie przez 4 dni a następnie 1000 mg dwa razy dziennie przez 3 dni i 500 mg dwa razy dziennie przez dwa miesiące.

HEKSAFOSFORAN INOZYTOLU

Opis ogólny

Heksafosforan inozytoli, znany również pod nazwą fitynianu, jest składnikiem większości ziaren zbóż i nasion, występującym wspólnie z włóknikiem pokarmowym. Związek ten jest źródłem mioinozytoli w diecie. Heksafosforan inozytoli odpowiedzialny jest za magazynowanie ponad 80 % całkowitej zawartości fosforanów w zbożach i warzywach strączkowych. Fitynian ma silne właściwości chelatujące jony dwuwartościowe takie jak: magnez, wapń i cynk. Wyniki niektórych badań sugerują, że fitynian może spowalniać tempo wzrostu guzów [Graf i wsp., 1990; Hendler i wsp., 2001].

Oprócz określenia fitynian, heksafosforan inozytoli określany jest również jako heksafosforan mioinozytoli oraz „*myo*-inositol 1,2,3,4,5,6-heksakisphosphate”. W literaturze można również spotkać określenia InsP_6 i IP-6 będące skrótami nazwy heksafosforan inozytoli. Budowa strukturalna podana jest na rycinie X [Shamsuddin, 1995; Hendler i wsp., 2001].



Ryc. 2. Budowa strukturalna heksafosforanu inozytoli.

WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOLOGICZNE

Działanie

Heksafosforan inozytoli rozpatrywany jest wstępnie jako czynnik zapobiegający proliferacji. Może również posiadać aktywność przeciwutleniającą [Porres i wsp., 1999; Hendler i wsp., 2001].

Mechanizm działania

Niektórzy badacze sugerują, że zapobieganie proliferacji przez heksafosforan inozytolu może być wynikiem jego zdolności do chelatowania jonów dwuwartościowych, których obecność z kolei istotna jest w procesach rozwojowych komórek (w tym komórek nowotworowych) [Graf i wsp., 1990].

Dostępne są również informacje, jakoby heksafosforan inozytolu razem z inozytolem ulegał metabolizmowi do trójfosforanów inozytolu, które najprawdopodobniej mają wpływ na sygnały komórkowe i regulacje wzrostu komórek [Hendler i wsp., 2001].

Chelatowanie jonów żelaza przez heksafosforan inozytolu mogłoby hamować reakcję Fentona, w której powstają reaktywne formy tlenu [Porres i wsp., 1999].

Kolejnym proponowanym mechanizmem pozytywnego wpływu heksafosforanu inozytolu jest wzmocnienie aktywności tzw. naturalnych „zabójców” komórek (ang.: natural cell killer).

Farmakokinetyka

Nie jest wyjaśnione, w jakim stopniu heksafosforan inozytolu ulega absorpcji u ludzi po jego spożyciu. Heksafosforan inozytolu może częściowo ulegać hydrolizie do mioinozytolu.

Wskazania

Dostępne są wstępne dane na temat możliwości zastosowania heksafosforanu inozytolu w terapii niektórych nowotworów [Hendler i wsp., 2001].

Badania *in vitro* oraz na zwierzętach

Dostępne są informacje na temat przeprowadzonych kilku badań *in vitro* oraz na zwierzętach sugerujące, że heksafosforan inozytolu może hamować niektóre nowotwory, zwłaszcza nowotwory nabłonkowe włączając w to raka piersi i żołądka. Stwierdzono również, wykorzystując model zwierzęcy, że heksafosforan inozytolu może najprawdopodobniej również hamować ludzkiego mięśniakomięsaka prążkowanego. Ciągłe jednak istnieje potrzeba dalszych badań dotyczących możliwości stosowania heksafosforanu inozytolu w terapii nowotworowej. W literaturze można również spotkać dane epidemiologiczne sugerujące, że fitynian pokarmowy wykazuje działanie zapobiegające skutkom aktywności szkodliwych związków chemicznych [Porres i wsp., 1999; Hendler i wsp., 2001, Porres i wsp., 1999; Jariwalla i wsp., 1988, 1999; Vucenik i wsp., 1998].

PROFIL BEZPIECZEŃSTWA

Przeciwwskazania

Nie znaleziono.

Środki ostrożności

Kobiety ciężarne oraz karmiące piersią nie powinny stosować suplementacji produktami zawierającymi heksafosforan inozytolu do czasu pojawienia się dokładnych danych dotyczących bezpieczeństwa stosowania [Hendler i wsp., 2001].

Działania niepożądane

W raporcie sporządzonym na podstawie badań, podczas których heksafosforan inozytolu podawano w dawce 8,8 g przez kilka miesięcy, nie stwierdzono żadnych działań niepożądanych [Hendler i wsp., 2001].

Interakcje

Heksafosforan inozytolu może tworzyć chelaty z dwuwartościowymi jonami takimi jak; magnez, wapń, cynk czy żelazo, które występują w pożywieniu lub suplementach jony te zawierających. Heksafosforan inozytolu może również wchodzić w interakcje z białkami żywności [Porres i wsp., 1999].

Przedawkowanie

Nie znaleziono informacji na temat przedawkowania.

DAWKOWANIE

Brak danych.

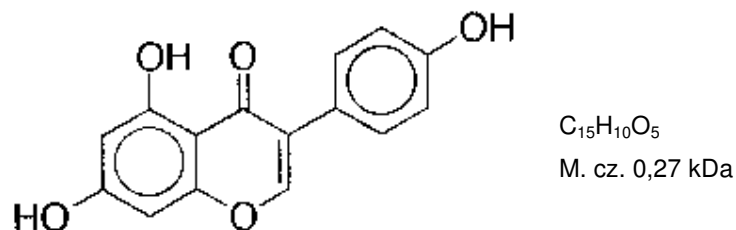
GENISTEINA

Opis ogólny

Genisteina należy do izoflawonów będących klasą flawonoidów. Zaliczana jest również do fitoestrogenów. Fitoestrogeny są niesteroidowymi składnikami roślinnymi posiadającymi aktywność zbliżoną do aktywności, jaką wykazują estrogeny. Genisteinie przypisuje się słabe właściwości estrogenne i antyestrogenne [Wang i wsp., 1996; Hendler i wsp., 2001].

Genisteina jest aglikonem (aglukonem) genistyny. Naturalnie izoflawony występują jako glikozydy genisteiny jak również glikozydy 6''-O-malonylogenistyny i 6''-O-acetylodaidzyny. Genisteina i jej glikozydy występują głównie w roślinach strączkowych takich jak: soja (nasiona) oraz ciecierzycą. Nasiona soi i inne przetwory ją zawierające są głównym źródłem opisywanych substancji. Żywność oparta o soję niefermentowaną np.: tofu zawiera duże ilości genisteiny głównie w formie glikozydu. Żywność wykorzystująca soję fermentowaną taka jak tempeh czy miso zawiera wysoki poziom aglikonów [Davis i wsp., 1999; Hendler i wsp., 2001].

Genisteina jest substancją stałą, praktycznie nierozpuszczalną w wodzie. Jej masa cząsteczkowa wynosi 270,24 Da. Do określenia genisteiny używa się również nazw takich jak: 5,7-dihydroksi-3-(4-hydroksyfenyl)-4*H*-1-benzopyran-4-on i 4',5,7-dihydroksyizoflawon. Genistyna jest znacznie lepiej rozpuszczalna w wodzie niż genisteina i określana jest często jako 7-beta glukozyd genisteiny. Na rycinie 2 przedstawiono strukturalny wzór budowy genisteiny.



Ryc. 3. Budowa strukturalna Genisteiny.

Preparaty spotykane na rynku najczęściej zawierają genisteinę w formie jej beta-glukozydu, genistyny [Hendler i wsp., 2001].

WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOLOGICZNE

Działanie

Genisteina posiada działanie estrogenne i antyoksydacyjne [Wang i wsp., 1996; Wei i wsp., 1995]. Dostępne są również informacje o jej właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwmiażdżycowych [Dalu i wsp., 1998; Barnes, 1995a, 1995b; Davis i wsp., 1999]

Mechanizm działania

Genisteina posiada słabą aktywność estrogeną, którą badano zarówno w testach *in vitro* jak i *in vivo*. W tych drugich aktywność estrogena odpowiadała około jednej trzeciej aktywności, jaką posiada glicytyna oraz była cztery razy większa od aktywności daidzeiny [Wang i wsp., 1996; Lamartiniere, 2000].

Genisteina posiada również aktywność antyoksydacyjną. Wymieniana jest tu zdolność neutralizowania wolnych rodników oraz hamowanie peroksydacji lipidów. Ponadto genisteina przeciwdziała tworzeniu anionów ponadtlenkowych z udziałem oksydazy ksantynowej. W badaniach z udziałem zwierząt wykazano, że genisteina zwiększa aktywność przeciwutleniaczy takich jak: dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationu, katalaza i reduktaza glutationu [Wei i wsp., 1995].

Dostępne są również informacje na temat mechanizmów, według których genisteina działałaby przeciwnowotworowo. Podaje się tu mechanizm regulacji apoptozy, inhibicji angiogenezy, inhibicji topoizomerazy II oraz inhibicji kinazy tyrozynowej. Słabe działanie estrogenne może również wyjaśniać potencjalne możliwości stosowania genisteiny w przypadku raka prostaty włączając w to inhibicję czynnika jądrowego (NF)-kappa B w komórkach raka prostaty, regulację transformującego czynnika wzrostu TGF- β (ang.; transforming growth factor) oraz inhibicję wzrostu stymulowaną epidermalnym czynnikiem wzrostu EGF (ang.: epidermal growth factor). Nie jest jednak do końca jasny mechanizm potencjalnego, przeciwnowotworowego działania genisteiny [Dalu i wsp., 1998; Fotsis i wsp., 1993; Lamartiniere, 2000; Constantinou i wsp., 1995; Davis i wsp., 1999, 2000].

Działanie przeciwmiażdżycowe może być związane z działaniem przeciwutleniającym. Ponadto dostępne są informacje na temat działania genisteiny obniżającego poziom lipidów, jednak nie znane są bliższe dane na ten temat. Działanie przeciwmiażdżycowe może po części być powodowanym słabym działaniem estrogenym genisteiny [Hendler i wsp., 2001].

Słaby efekt estrogenny może być pomocny w przypadku osteoporozy zapobiegając resorpcji kości i stymulując wzrost gęstości kości. Ponadto stwierdzono badając szczury, że genisteina podtrzymuje bełeczkową tkankę kostną. Jednakże mechanizm potencjalnego działania przeciw osteoporozie nie jest do końca wyjaśniony [Hendler i wsp., 2001].

Farmakokinetyka

Farmakokinetyka genisteiny u ludzi jest złożona i nie w pełni poznana. Główna forma występująca w środkach dietetycznych i suplementach jest glikozyd genistyny. Genistyna może ulegać hydrolizie do genisteiny z kwasem HCl w żołądku lub poprzez beta-glukozydazy obecne w żywności. Jednakże większość spożytej genistyny dociera do przewodu jelita grubego, gdzie bakterie jelitowe z pomocą beta-glukozydazy bakteryjnej przeprowadzają hydrolizę genistyny do genisteiny. Dalej genisteina ulega absorpcji lub jest metabolizowana w świetle jelita grubego do dihydrogenisteiny i 6'-hydroksy-O-dezmetylangolenzynygenisteina absorbowana z jelita grubego, a także z jelita cienkiego, jest transportowana do wątroby. Tam ulega koniugacji z glukuronianem i siarczanem z udziałem enzymów fazy II (UDP-glukuronozylotransferazy i sulfotransferazy). Koniugaty glukuronianu i siarczanu z genisteiną ulegają wydaleniu wraz z moczem i żółcią. Koniugaty te mogą ulegać również wtórnemu rozbięciu, a uwolniona genisteina może być ponownie absorbowana w krążeniu wątrobowo-jelitowym [Hendler i wsp., 2001].

Istnieje dosyć duża różnica między danymi na temat absorpcji i metabolizmu przyjętej genistyny i genisteiny. Dostępne są dane sugerujące, że genisteina wykazuje większą biodostępność niż genistyna. Jednakże inne źródła sugerują, że stopień absorpcji genisteiny jest podobny do absorpcji aglikonu i glikozydu [Hendler i wsp., 2001].

Wskazania

Pojawiające się nowe badania zarówno *in vitro*, jak i badania na zwierzętach sugerują, że genisteina może znaleźć zastosowanie w przypadku zapobiegania i terapii nowotworów, zwłaszcza nowotworów piersi i prostaty [Dalu i wsp., 1998; Fotsis i wsp., 1993; Lamartiniere, 2000; Barnes, 1995a; Davis i wsp., 1999]. Dostępne są wstępne dane sugerujące, że izoflawonoidy zawarte w soi, w tym genisteina, mogą być pomocne w problemach związanych z okresem menopauzalnym włączając w to osteoporozę, oraz uderzenia gorąca [Hendler i wsp., 2001].

Dane epidemiologiczne od dłuższego już czasu sugerowały możliwość ochraniającego działania izoflawonów obecnych w diecie przed różnego rodzaju nowotworami. Stosunkowo duża ilość spożywanych produktów sojowych, w niektórych rejonach Azji koreluje ze

zredukowaną ilością przypadków zachorowań na raka piersi bądź prostaty. Ponadto, niektóre badania przedstawiają, że odporność na nowotwory obniża się u następnych generacji Azjatów, którzy wyemigrowali z kontynentu np. do Stanów Zjednoczonych, co najprawdopodobniej związane jest ze zmianą nawyków żywieniowych i spadkiem ilości przyjmowanych wraz z pokarmem izoflawonów [Lamartiniere, 2000; Geller i wsp., 1998].

Badania *in vitro* oraz na zwierzętach

W badaniach przeprowadzonych na szczurach, którym podawano genisteinę w okresie okołoporodowym, wykazano jej działanie chroniące potomstwo przed indukowanymi chemicznie nowotworami sutka. Badania te sugerują, że właściwe stosowanie genisteiny w okresie okołoporodowym może przyczynić się do wystąpienia trwałej ochrony przeciw nowotworom piersi. Badacze zakładają również, że efekt taki u ludzi może być obserwowany przy stosowaniu genisteiny we wczesnych latach rozwoju człowieka. Istnieje jednak potrzeba wykonania wielu badań, aby wnioski te jednoznacznie potwierdzić [Lamartiniere, 2000; Barnes, 1995a].

Dostępne są również badania wykazujące, że genisteina może hamować rozwój raka prostaty. Badania te przeprowadzono w warunkach *in vitro*. Jedne z ostatnich badań *in vitro* sugerują, że genisteina może wykazywać zarówno działanie chemoprotektywne, jak i terapeutyczne w przypadku nowotworów prostaty niezależnie od reaktywności androgenów. Dalsze prace, szczególnie przeprowadzenie badań klinicznych, powinny być przeprowadzone w celu otrzymania jednoznacznych wyników [Dalu i wsp., 1998; Davis i wsp., 1999, 2000].

PROFIL BEZPIECZEŃSTWA

Przeciwwskazania

Genisteiny nie powinny przyjmować osoby, które wykazują nadwrażliwość na jakiegokolwiek produkty zawierające genisteinę bądź genistynę [Hendler i wsp., 2001].

Środki ostrożności

Kobiety ciężarne oraz karmiące piersią nie powinny stosować suplementacji produktami zawierającymi genisteinę bądź genistynę do czasu pojawienia się dokładnych danych dotyczących bezpieczeństwa stosowania [Hendler i wsp., 2001].

Mężczyźni z nowotworem prostaty powinni omówić możliwość stosowania produktów zawierających genisteinę / genistynę z lekarzem przed ich użyciem [Hendler i wsp., 2001].

Kobiety z guzami związanymi z receptorami estrogenowymi powinny zachować ostrożność w używaniu preparatów zawierających genisteinę / genistynę. Używanie tych preparatów może wystąpić jedynie w wyniku zalecenia i pod nadzorem lekarza [Hendler i wsp., 2001].

Używanie preparatów zawierających genisteinę / genistynę zostało powiązane z niedoczynnością tarczycy [Hendler i wsp., 2001].

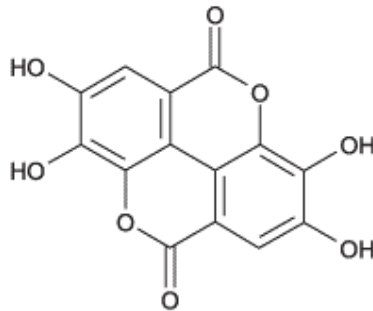
DAWKOWANIE

Genisteina dostępna jest w preparatach izoflawonowych. Standardowy preparat przygotowany z soi zawiera genisteinę głównie w postaci genistyny, jak również daidzyny i glicytyny. Procentowa zawartość różnych izoflawonów zawartych w soi znajduje odzwierciedlenie w opracowanych preparatach wynosi odpowiednio: ok. 50 % dla genistyny, 38 % dla daidzyny, 12 % dla glicytyny. Typowa dawka dzienna izoflawonów soi wynosi 50 mg, w czym zawarte jest 25 mg genistyny, 19 mg daidzyny i 6 mg glicytyny. Zazwyczaj w preparatach izoflawonowych 40 % składu stanowią izoflawony soi, tak więc aby przyjąć 50 mg izoflawonów soi należy spożyć 125 mg preparatu sojowego.

KWAS ELAGOWY

Opis ogólny

Kwas elagowy jest związkem, fenlowym który stał się znany jako potencjalny czynnik antykarcenogeny i antymutageny. Posiada również właściwości przeciwbakteryjne. Uważa się, że kwas elagowy nie występuje w roślinach w czystej postaci. Polimery kwasu galowego oraz heksahydroksydifenyl (HHDP) połączone są centralnie do glukozy tworząc klasę związków znanych jako elagitaniny. Grupa HHDP tworzona jest z dwóch grup kwasu galowego połączonych cząsteczką kwasu garbnikowego. Kwas elagowy powstaje w momencie rozerwania wiązania pomiędzy grupą HHDP, a cząsteczką kwasu garbnikowego i następujących po tym spontanicznych przegrupowań cząsteczek. Kwas elagowy działa jako wyłapywacz cząsteczek chemicznych wywołujących procesy nowotworzenia. Kwas elagowy zapobiega wiązaniu karcenogenów do kwasów nukleinowych redukując incydent powstawania komórek nowotworowych w ludzkich liniach komórkowych wystawionych na działanie czynników kancerogennych.



Ryc. 3. Budowa strukturalna Kwasu elagowego.

Mechanizm działania

Kwas elagowy hamuje chemicznie indukowaną karcenogenezę komórek przelyku u zwierząt [Siglin i wsp., 1999] reguluje czynnik wzrostu insuliny IGF-II [Narayanan s 2001] i aktywuje ekspresję p53/p21 doprowadzając do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1/S i apoptozę [Narayanan i wsp., 1999]. Badania *in vitro* wykazały, że kwas elagowy chroni komórki przed oksydacyjnym uszkodzeniem nadtlenku wodoru i bleomecyną [Festa i wsp., 2001]. Kwas elagowy posiada zdolność indukowania detoksyfikacji enzymów NADPH i reduktazy chinonowej, która posiada aktywność ochronną przed czynnikami chemicznymi [Barch i wsp., 1994]. Przeciwnie, cytochromy p 450 są hamowane przez kwas elagowy, zapobiegając metabolizowaniu karcenogenów w bardziej mutagenne formy [Barch i wsp., 1994].

Farmakokinetyka

Elagitaniny z jagód i orzechów są hydrolizowane w jelicie cienkim do kwasu elagowego. Badania na modelu zwierzęcym wykazały, że kwas elagowy jest kolejno metabolizowany przez mikroflorę jelitową jelita cienkiego. Po zaabsorbowaniu kwasu elagowego i jego metabolitów, są one lokalizowane w tkankach płuc i w mniejszym ilościach w tkankach wątroby [Boukharta i wsp., 1992]. Metabolity kwasu elagowego są wydalane z organizmu zarówno z moczem jak i kałem [Doyle i wsp., 1080]

W przeprowadzonym badaniu ochotnikowi podawano sok z owoców granatu w ilości 180 ml, zawierający 25 mg kwasu elagowego i 318 mg hydrolizowalnych elagitanin jako punikalaginy głównego elagitaninu owoców. Wyniki wskazały, że kwas elagowy był wykrywalny w najwyższym stężeniu (31.9 ng/ml) godzinę po podaniu i był szybko eliminowany po 4 godzinach. Krzywa kalibracyjna dla kwantyfikacji kwasu elagowego była liniowa ($r^2 = 0.9975$). W badaniach na zwierzętach wykazano, że kwas elagowy wykazuje słabą absorpcję i duże powinowactwo do białek. [Seeram i wsp., 2004].

Działanie kwasu elagowego na enzymy cytochromowe P450

Kwas elagowy wykazywał redukcję incydentów hepatokarcenogenezy indukowanej N-2-fluorenylacetamidem u szczurów i guza przełyku indukowanego N-nitrozometylbenzylaminą (NMBA). W badaniu określano zmiany w ekspresji i aktywności cytochromów P450 i enzymów fazy II po podaniu kwasu elagowego. Próbkę tkanek wątrobowych i przełyka pobrano od 344 szczurów karmionych dętą zawierającą 0.4 lub 4.0 g/kg kwasu elagowego EA przez 23 dni. Całkowita zawartość P450 obniżyła się o 25% a P450 2E1-katalizującego reakcję p-nitrofenolo hydroksylację obniżyła się o 15%. Nie zaobserwowano zarówno w ekspresji jak i aktywności w przypadku P450 1A1, 2B1 lub 3A1/2 oraz aktywności cytochromu b5. Aktywność redukująca P450 obniżyła się o 28%. Ekspresja mikrosomalnej hydrolazy epoksydowej (mEH) została obniżona o 85% po podaniu kwasu elagowego, jednak aktywność tego enzymu nie zmieniła się. Aktywność enzymów wątrobowych S-transferazy glutationu (GST), reduktazy NAD(P)H:chinonowa i glukuronozulotransferazy UDP (UDPGT) zwiększyła się o odpowiednio o 26, 17 i 75%. W tkankach przełyku nie wykazano różnic w ekspresji P450 1A1.

Wyniki wskazują że kwas elagowy wywołuje obniżenie wątrobowych P450 ze znaczącym działaniem na wątrobowy P450 2E1, zwiększenie pewnych enzymów wątrobowych GST, NAD-(P)H:QR i UDPGT i obniżenie ekspresji wątrobowej mEH. Hamuje również aktywność katalityczną niektórych izoenzymów P450 w warunkach *in vitro*. Dlatego działanie chemoprotekcyjne kwasu elagowego skierowane przeciwko różnym chemicznym czynnikom indukującym nowotworzenie może być związane z obniżeniem szybkości metabolizmu tych kancerogenów przez enzymy P450 wywołane zarówno bezpośrednio inhibicją aktywności katalitycznej jak i ekspresji genetycznej. Dodatkowo działanie na ekspresję enzymów fazy II

wzmacnia zdolność tkanek docelowych do detoksykacji reaktywnych substancji pośrednich [Ahn i wsp., 1996]

Wykazano, że chroniczne podawanie czterochlorku węgla w dawce 0.15, (20 dawek) wywoływał działanie hepatotoksyczne. Podawanie tego związku wywoływało podniesienie poziomu transaminazy glutaminiano-pirogronianowej w surowicy i w wątrobie, alkaicznej fosfatazy i peroksydazy lipidowej. Klinicznym skutkiem podawania czterochlorku węgla jest zwłóknienie tkanki wątrobowej jak również podniesienie wątrobowej hydroksyproliny. Doustne podawanie kwasu elagowego wywoływało znaczącą redukcję podniesionego poziomu enzymów, peroksydazy lipidowej i wątrobowej hydroksyproliny i oczyszczenie tkanki wątrobowej. Wyniki doświadczenia wskazują że doustne podawanie kwasu elagowego może zapobiegać toksycznemu działaniu czterochlorku węgla i późniejszemu zwłóknieniu tkanki wątrobowej [Thresiamma i wsp., 1996]

Działanie hamujące aktywność DNA gyrazy.

Wykazano, że kwas elagowy hamuje aktywność DNA gyrazy E. coli z tą samą siłą co kwas nalidyksynowy [Weinder-Wells i wsp., 1998].

Działanie hamujące proliferację komórek

Hamujące działanie na proliferację komórek kwasu elagowego było badane na ludzkich komórkach śródbłonna z żyły pępowinowej (HUVEC), komórkach fibroblastów HEL 299, komórkach Caco-2, MCF-7 piersi, Hs 578T piersi i komórkach raka prostaty DU 145. Kwas elagowy w stężeniu w zakresie 10-100 micromol/L nie wywoływał różnicowania prawidłowych komórek fibroblastów podczas 24 godzinnej inkubacji. Wzrost bioluminescencji adenozyntrifosforanu (ATP) około 18-21% był obserwowany w prawidłowych komórkach inkubowanych w kwasie elagowym. Kwas elagowy przy stężeniu 1-100 $\mu\text{mol/L}$ hamował proliferację i formowanie się komórek HUVEC i wykazywał silne działanie hamujące proliferację w liniach komórkowych okrężnicy, piersi, i prostaty. Najbardziej wrażliwymi komórkami były Caco-2, a najbardziej wrażliwe linie komórkowe raka. Kwas elagowy indukował śmierć komórek poprzez apoptozę jak wykazano przez mikroskopowe badanie morfologiczne komórek. Kwas elagowy indukował redukcję różnicowania się nowotworowych linii komórkowych przez obniżenie poziomu ATP w tych komórkach. Indukcji apoptozy towarzyszyło obniżenie poziomu metalloproteinazy-2 (pro-MMP-2 lub gelatinazy A), pro-matrix metalloproteinazy-9 (pro-MMP-9 gelatinazy B) i czynnika wzrostu (vascular endothelial growth factor - VEGF(165)). Wyniki wskazują że kwas elagowy wykazuje selektywną cytotoksyczność i aktywność hamująca proliferację oraz indukuje apoptozę w liniach komórkowych Caco-2, MCF-7, Hs 578T, i DU 145 bez jakiegokolwiek toksycznego działania na zdrowe komórki. Zaobserwowano że mechanizm apoptozy indukował w komórkach podanych działaniu kwasu elagowego był związany

obniżeniem powstawania ATP, ważnego czynnika warunkującego żywotność komórek nowotworowych [Losso i wsp., 2004]

Badania na zwierzętach

W badaniu na zwierzętach szczurom podawano doustnie kwas elagowy pozyskany z ekstraktu liści granatu. Kwantyfikację kwasu elagowego określono przy pomocy metody HPLC. Krzywa kalibracyjna dla kwasu elagowego była liniowa ($r^2=0.9998$) i osiągnęła wartość w zakresie 0.026-1.3 $\mu\text{g/ml}$. Maksymalne stężenie kwasu elagowego w osoczu wносиło 213 ng/ml zaledwie 0.55 godziny po doustnym podaniu ekstraktu w dawce 0.8 g/kg . Farmakokinetyczny profil wskazuje że kwas elagowy jest słabo absorbowany i szybko eliminowany po podaniu doustnym ekstraktu z liści granatu, a częściowa absorpcja tego kwasu zachodziła w żołądku [Lei F i wsp., 2003].

Kwas elagowy został przedstawiony na modelu zwierzęcym hamując wzrost guza indukowanego przez karcenogeny chemiczne, takie jak polycyclic aromatic hydrocarbons, N-nitrosamines, aflatoxins and aromatic amines [1-5]. Inne badania wykazały, że kwas elagowy stosowany na skórę myszy efektywnie hamował aktywność indukowaną TPA dekarboksylazę ornityny, produkcję nadtlenu wodoru syntezę DNA. [6,7]. Badania na modelu zwierzęcym wykazały również, że doustne podawanie kwasu elagowego znacząco redukowało poziom peroksydacji lipidów oraz wątrobową dihydroksy proline. Badania wskazują również, że doustne podawanie kwasu elagowego może zapobiegać toksyczności czterochlorku węgla i późniejszemu zwłóknieniu płuc [9].

Wpływ kwasu elagowego na cykl komórkowy

Działanie kwasu elagowego na cykl komórkowy, syntezę DNA, apoptozę i hamowanie proliferacji komórek przeprowadzono na nowotworowych liniach komórkowych (CaSki) przenoszące wirusa HPV16, którego produkt genu E6 wywołuje utratę funkcji białka p53. Dla określenia czy działanie kwasu elagowego jest wywierane przez poprzez modulację cyklu komórkowego oraz dla zbadania stanu działania p53, w badaniu analizowano ekspresję p53 i p21 MRNA lini komórkowych CaSki w warunkach kwasu elagowego jak i bez kwasu oraz w sposób zależny od dawki i czasu.

Wykazano, że komórki CaSki wykazywały wrażliwość na działanie kwasu elagowego indukującego zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 w ciągu 24-48 godzin. 82% komórek traktowanych kwasem elagowym (10⁻⁵ M) przez 48 godzin wykazywało zatrzymanie w fazie G1, podczas gdy w komórkach pozbawionych kwasu elagowego tylko 30% było w fazie G1. Mechanizm działania kwasu elagowego indukującego zatrzymanie cyklu komórkowego, obniżenie syntezy DNA ze zwolnieniem szybkości mitozy i indukowanie apoptozy nie jest jednak do końca jasny. Możliwe jest, że wszystkie te działanie kwasu elagowego są konsekwencją pojedynczej reakcji, w których kwas elagowy inicjuje kaskadę reakcji

prowadzących do zatrzymania cyklu komórkowego oraz redukcji wzrostu komórki. Przeważająca część czynników odpowiedzi na kwas elagowy może modulować apoptozę, obejmując czynniki wzrostu, wewnątrzcząsteczkowe cząsteczki transdukcji sygnałów i białka jądrowe regulujące ekspresję genów oraz replikację DNA i genów regulujących cykl komórkowy. Proces prowadzący do naprawy DNA obejmuje regulację białka p21 w poprzez mechanizm zależny od białka p53. Komórkach CaSki kwas elagowy nie indukuje znaczącego wzrostu poziomu białka p53 MRNA jednak oznaczono zwiększony poziom p21 MRNA po inkubacji komórek w kwasie elagowym. Aktywacja p21 przez kwas elagowy może zachodzić zarówno poprzez mechanizm niezależny od p53 jak i w sposób niezależny od p53 nie związany ze zmianami poziomu białka p53. W badaniach określających mechanizm śmierci komórki wykazano możliwość udziału kaspazy, receptora śmierci aktywującego śmierć komórki, który jest niezależny od p53 [18,19]. Jednak ciąg sygnałów indukowanych przez kwas elagowy regulujący ekspresję p21 niezależnie od p53, i szlak sygnałów prowadzący do indukcji p21 jest niejasny. Hamowanie proliferacji komórek nowotworowych i indukowanie śmierci komórki potwierdza rolę kwasu elagowego jako czynnika chemo prewencyjnego.

Ostatnie badania wskazały, że kwas elagowy wykazuje aktywność przeciwko liniom komórkowym nowotworów wątroby, prostaty, okrężnicy i przelyku [Tanaka i wsp.1988; Stoner i wsp., 1999; Narayanan I wsp.,2002; Narayanan s 2001] Inne badania wykazuje, że kwas elagowy jest silnym antyoksydantem. [Festa i wsp., 2001] Działanie przeciwnowotworowe kwasu elagowego nie było jednak wykazane w badaniach przeprowadzonych na ochotnikach. Kwas elagowy uzyskiwany z żywności jest bezpieczny i nie wykazuje działania toksycznego.

Działania niepożądane

Kwas elagowy nie wykazuje działań niepożądanych. Przyjmowanie kwasu elagowego może jednak wywoływać wzrost ciśnienia krwi.

Interakcje

Brak jest danych dotyczących interakcji kwasu elagowego z lekami lub suplementami diety.

Dawkowanie

Brak jest danych dotyczących rekomendowanej dawki dziennej dla kwasu elagowego. Produkty obecne na rynku zawierają od 20 do 800 mg kwasu elagowego jako dawka dobową.

KATECHINY HERBATY

Opis ogólny

Camelia sinensis to wiecznie zielony krzew z rodzaju *Camelia*, dorastający do 6 m wysokości (w kulturze 1-1.5m) z ząbkowanymi, skórzastymi listkami, długości 7-10 cm o kształcie eliptycznolancetowatym. Ma białe do różowych, duże i wonne kwiaty osadzone w kątach liści oraz małe brunatne, zdrewniałe owoce będące torebkami [Podbielkowski, 1985]. Krzewy herbaciane rosną na obszarach tropikalnych i subtropikalnych wokół równika. Do optymalnej wegetacji potrzebują ciepła i wiele wilgoci. Mogą być uprawiane do wysokości 2500 m.n.p.m. Najlepsze herbaty pochodzą z krzewów uprawianych na wysokości ponad 1200 m.n.p.m. Krzewy herbaciane mogą być użytkowane do 50 lat, choć w rejonie Dardżyling w Indiach rosną krzewy mające 150 lat. Na ostateczny smak i jakość herbaty wpływają: klimat, gleba, opady oraz wysokość n.p.m., a także sposób zbierania liści i ich obróbka. Z krzewu zbiera się jedynie górne listki pozostawiając kwiaty oraz owoce [PDR, 2000; Podbielkowski, 1985].

Monografie

Surowiec oraz roślina macierzysta posiadają monografie w Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis [1992]

Skład chemiczny

- Polifenole: większość z nich to flawanole, potocznie zwane katechinami (10-25%):
epigalokatechina (3-6%), galusan epigalokatechiny (9-13%), galusan epikatechiny (3-6%), epikatechina, (1-3%) galokatechina (3-4%), katechina (1-2%) [Graham, 1992; Teuscher, 1993; Zuo i wsp., 2002];
- Alkaloidy purynowe (ok.4% suchej masy): kofeina (zawartość w zależności od stadium rozwoju liści 2.9%-4.2%), teobromina (0.15-0.2%), teofilina (0.02-0.04%) [PDR, 2000];
- Flawonoidy: kwercetyna, kempferol, myrecetyna [PDR, 2000];
- Kwasy fenolowe: kwas galusowy, p-kumarowy, kawowy [Yang i wsp., 1993; Teuscher, 1993] pochodne kwasu kawowego: kwas chlorogenowy, teogalina [PDR, 2000];
- Aminokwasy, m.in. teanina [Yang i wsp., 1993];
- Witaminy: C, E, B, niewielka zawartość wit. K
- Jony nieorganiczne: potas, glin, wysoka zawartość fluorków (130-160 mg/kg) [PDR, 2000]

Zawartość i skład katechin, kwasów fenolowych i kofeiny w herbacie różnią się w zależności od gatunku, pory roku, wieku rośliny, warunków uprawy i w szczególności stopnia fermentacji podczas produkcyjnego procesu przetwarzania [Zuo i wsp., 2002].

WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOLOGICZNE

Badania wykazały, że katechiny z zielonej herbaty posiadają różnorodne właściwości farmakologiczne, włączając przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe i przeciwbakteryjne.

Działanie zapobiegające nowotworom zielonej herbaty i jej głównej substancji czynnej galusanu epigalokatechiny (EGCG) zostało poparte rezultatami badań epidemiologicznych, nieklinicznych i klinicznych oraz na kulturach komórkowych. Badania *in vitro* na kulturach komórkowych pokazują, że polifenole z herbaty indukują apoptozę i zatrzymanie cyklu komórkowego w komórkach nowotworowych, ale nie w ich normalnych odpowiednikach. Polifenole wpływają na kilka szlaków transdukcji sygnałów, w tym na ten, w którym pośredniczy czynnik wzrostu, aktywowana przez mitogen kinaza białkowa oraz na szlak degradacji ubikwityna/proteosomy. Badania epidemiologiczne sugerują, że spożywanie zielonej herbaty obniża ryzyko nowotworów. Badania na zwierzętach ujawniły, że terapia zieloną herbatą hamuje zapadalność na nowotwory i mnogość w różnych organach, takich jak skóra, płuca, wątroba, żołądek, sutek i okrężnica [Chung i wsp., 2003].

Działanie przeciwutleniające

Zarówno zielona jak i czarna herbata zawierają znaczne ilości polifenoli, którym przypisuje się wywieranie korzystnego wpływu na zdrowie człowieka. W zielonej herbacie dominują polifenole z grupy katechin. *In vitro* związki te wykazują działanie przeciwutleniające- unieszkodliwiają wolne rodniki tlenowe i azotowe oraz chelatują jony metali przejściowych aktywnych w reakcjach redukcji i utleniania. Polifenole mogą również działać niebezpośrednio jako antyoksydanty inhibując czynniki transkrypcyjne wrażliwe na zmiany równowagi redox, czynnik jądrowy κ B oraz aktywator białek-1; mogą inhibować enzymy „pro-osiydacyjne”, takie jak indukowalna syntaza tlenu azotu, lipoksygenaza, cyklooksygenaza, oksydaza ksantynowa; ponadto mogą indukować enzymy antyoksydacyjne fazy II, takie jak S-transferaza glutationowa i dysmutaza ponadtlenkowa [Frei i wsp., 2003].

W modelach zwierzęcych miażdżycy tętnic w większości badań wykazano, że podawanie herbaty zwiększa odporność lipoprotein na utlenianie *ex vivo*, zwykle poprzez wydłużanie czasu zwłoki peroksydacji lipidów, w której uczestniczy miedź. Podawanie flawonoidów z zielonej herbaty (8g/kg diety) szczurom z nieznacznym niedoborem witaminy C w znaczący sposób wydłużało fazę zwłoki w peroksydacji LDL, w której pośredniczyła miedź [Kasaoka i wsp., 2002].

U szczurów karmionych dietą z wysoką zawartością tłuszczów, podawanie zwierzętom zielonej herbaty zapobiegało inukowanemu przez etanol wzrostowi w wiązaniu 4-hydroksynonenalu (produkt rozpadu hydroperoksydowanych lipidów) do białek wątroby oraz wyraźnie zmniejszało występowanie zmian nekrotycznych wywoływanych przez etanol [Arteel i wsp., 2002].

Działanie przeciwnowotworowe

Wykazano, że zielona herbata, wyciągi z zielonej herbaty oraz galusan epigalokatechiny hamują kancerogenezę indukowaną przez różnorodne kancerogeny w modelach nowotworów u gryzoni. Aktywność chemoprewencyjna zielonej herbaty została wykazana w odniesieniu do następujących organów docelowych: okrężnica, dwunastnica, przełyk, żołądek, jelito grube, wątroba, płuca, sutek, skóra. Głównym aktywnym biologicznie polifenolem z zielonej herbaty, najobficiej w niej występującym i posiadającym najsilniejsze właściwości przeciwutleniające jest galusan epigalokatechiny. Badania pokazały, że właściwości przeciwnowotworowe zielonej herbaty związane są z działaniem antyoksydacyjnym, hamowaniem rozwoju nowotworu, podziałów komórkowych i indukowaniu enzymów detoksyfikacyjnych fazy II [Yang i wsp., 1993; Chung i wsp., 2003].

Skóra

Miejscowe podawanie frakcji polifenoli z zielonej herbaty lub ich głównego składnika EGCG hamowało inicjację nowotworu wywoływaną przez 7,12-dimetylo-benzoantracen (DMBA) i diolepoksyd benzoapirenu (BPDE) oraz promocję wywołaną przez 12-tetradekanoylforbol-13-octan, (TPA), telocydynę i kwas okadaikowy u myszy Sencar i CD-1 [Wang i wsp., 1991; Khan i wsp., 1988; Wang i wsp., 1989; Katiyar i wsp., 1992; Huang i wsp., 1992; Wang i wsp., 1990; Wang i wsp., 1992 i 1987; Yoshizawa i wsp., 1987 i 1992]. Polifenole podawane w ten sam sposób hamowały tworzenie się nowotworu, również, kiedy czynnikiem indukującym był 3-metylocholanren (3-MC) oraz światło ultrafioletowe [Wang i wsp., 1989 i 1991]. Podobnie, napar z zielonej herbaty oraz polifenole podawane w wodzie pitnej inhibowały inicjację nowotworu przez DMBA, jego promocję przez TPA oraz onkogenezę wywoływana przez promienie UV u myszy [Wang i wsp., 1989 i 1992; Katiyar i wsp., 1992].

Płuca

Wu i wsp. [1987] wykazali, że m.in. zielona herbata hamowała powstawanie nowotworu płuc indukowanego przez uretan u myszy Kunming. Doustne podawanie naparu z zielonej herbaty (0.65% lub 1.25%) jako źródła wody pitnej samcom myszy A/J podczas i po traktowaniu kancerogenem (N-nitrozodietylamina) inhibowało proces nowotworzenia w płucach. Podobne rezultaty obserwowano z bezkofeinowym wyciągiem z zielonej herbaty (0.6%) w odniesieniu do

onkogenezy w płucach indukowanej przez kancerogen zawarty w tytoniu- 4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanon (NNK). Skuteczność zielonej herbaty podawanej w trakcie okresu traktowania kancerogenem wynosiła ok. 65% [Wang i wsp., 1992]. Zahamowanie procesu nowotworowego nastąpiło również, gdy w okresie podawania NNK myszom A/J (11,7 mg/kg przez doustną intubację raz w tygodniu przez 10 tygodni) podawano także 2%-owy wyciąg z zielonej herbaty lub EGCG [Xu i wsp., 1992]. Doustne podawanie 1.25%-owego naparu z zielonej herbaty myszom A/J przez cały okres trwania eksperymentu doprowadziło do statystycznie znaczącej inhibicji onkogenezy indukowanej przez BP lub NDEA [Wang i wsp., 1992].

Przełyk

Doustne podawanie 2%-owych naparów z pięciu rodzajów herbat (w tym także z zielonej) jako jedyne źródła wody podczas trwania eksperymentu hamowało onkogenezę u szczurów indukowaną przez N-nitrozometylobenzyloaminę (NMBzA). Częstość występowania nowotworów zmniejszyła się o 26-53%, a mnogość o 58-75% [Han i wsp., 1990]. Podawanie 0.6% wyciągu z bezkofeinowej zielonej herbaty szczurom rasy Sprague-Dawley podczas traktowania zwierząt NMBzA (2.5 mg/kg, wstrzykiwane podskórnie dwa razy w tygodniu przez 5 tygodni) lub po zmniejszyło mnogość i rozmiary brodawczaków przełyku [Yang i wsp., 1992].

Żołądek

Doustne podawanie naparów z zielonej herbaty myszom w trakcie lub po ukończeniu traktowania zwierząt następującymi kancerogenami: NDEA, NMBzA, N-nitrosakozyną, BP, hamowało procesy nowotworzenia w żołądku [Wang i wsp., 1992; Gao i wsp., 1992].

Dwunastnica i jelito cienkie

Doustne podawanie myszom 0.005% EGCG (85% czystości) w wodzie pitnej hamowało tworzenie się guzów w dwunastnicy indukowane przez N-etylo-N'-nitro-N-nitrozoguanidynę [Fujita i wsp., 1989]. W modelu kancerogenezy wielonarządowej, w którym szczurom przez 4 tygodnie podawano mieszaninę pięciu kancerogenów, Ito i wsp. [1992] wykazali, że polifenole z zielonej herbaty w stężeniu 1% hamowały tworzenie się gruczolaków i gruczolakoraków w jelicie cienkim.

Okreźnica

Doustne podawanie szczurom 0.01% lub 0.1% polifenoli z zielonej herbaty w wodzie pitnej przez 10 tygodni po zaprzestaniu podskórnego podawania azoksymetanu spowodowało zahamowanie kancerogenezy w okreźnicy [Yamane i wsp., 1991].

Wątroba

W badaniu przeprowadzonym przez Chen i wsp., [1987], u szczurów, które przebywały na diecie z dodatkiem 5% liści z zielonej herbaty od dziesiątego dnia przed rozpoczęciem podawania aflatoksyny B₁ do trzeciego dnia po skończeniu jej podawania, miała miejsce statystycznie znacząca inhibicja γ -glutamyl transpeptydazo-pozytywnych ognisk w wątrobie indukowanych przez aflatoksynę. Doniesiono również, że 2.5% dodatek liści z zielonej herbaty w diecie powodował hamowanie hepatokancerogenezy u szczurów indukowanej przez NDEA [Li i wsp., 1991]. Roztwór 0.05% lub 0.1% EGCG wykazywał skuteczność w hamowaniu rozwoju spontanicznego wątrobiaka u samców myszy [Yang i wsp., 1993].

Trzustka

W modelu kancerogenezy, w którym złotym chomikom Syryjskim podano N-nitrozo-bis(2-oksopropyl)aminę a następnie narzucono im dietę składającą się z DL-etioniny i L-metioniny mającą pobudzić rozwój nowotworu, suplementacja diety zwierząt polifenolami z zielonej herbaty (500 mg/kg na dzień) podczas stadium promocji zmniejszyła kancerogenezę w trzustce [Harada i wsp., 1991].

Gruzoł sutkowy

W doświadczeniu, w którym samice myszy C3H/HeN karmiono kompleksem polifenoli z zielonej herbaty oraz wodorotlenkiem glinu (0.2%) od momentu narodzin do 330 dnia życia wyraźnie zahamowane zostało spontaniczne tworzenie się guzów sutka [Hara, 1992].

Działanie przeciwnowotworowe i immunomodulacyjne

Badano dynamiczne zmiany komórkowych funkcji odpornościowych i działanie przeciwnowotworowe wyciągu z zielonej herbaty (GTE) u myszy BALB/c obciążonych nowotworem puchliny brzusznej Ehrlicha (EAC), i mięsaka S-180. Dojelitowe iniekcje GTE w dziennej dawce 80 mg/kg pobudzały podziały limfocytów T u myszy z S-180. Aktywność komórek Natural Killer wzrosła z 10.7% w grupie kontrolnej do 41% w grupie traktowanej GTE. Dzienna dawka 50 mg/kg GTE hamowała rozwój nowotworu Ehrlicha i HAC, a długość życia zwierząt z nowotworem Ehrlicha wzrosła o 128%. Przy podaniu doustnym GTE w dawce 500 mg/kg skutecznie hamował wzrost nowotworu Ehrlicha, ze stosunkiem wynoszącym ok. 32% [Yan, 1992].

Działanie przeciwzapalne

W badaniu przeprowadzonym na samcach szczurów rasy Wistar zwierzęta poddano niedokrwieniu serca (30 min) i reperfuzji (do 2h). Pod koniec okresu reperfuzji zwierzętom podawano EGCG (10 mg/kg/h) lub podłoże, natomiast przez cały okres reperfuzji podawano EGCG (10 mg/kg/h). U szczurów, którym podawano podłoże rozległe uszkodzenie mięśnia sercowego było powiązane z infiltracją neutrofilów do tkanek, jak to określono przez zbadanie aktywności mieloperoksydazy, oraz z podwyższonym poziomem fosfokinazy kreatyniny i interleukiny-6 w osoczu. Te wydarzenia związane były z degradacją w cytozolu inhibitora kappa B-alfa, aktywacją kinazy inhibitora kappa B, fosforylacją c-Jun i późniejszą aktywacją jądrowego czynnika kappaB i białka aktywującego 1 w sercu objętym zawałem. Terapia *in vivo* EGCG zredukowała uszkodzenia w mięśniu sercowym i aktywność mieloperoksydazy. Po podaniu EGCG poziom interleukiny-6 oraz fosfokinazy kreatynowej uległ zmniejszeniu. To korzystne działanie EGCG związane było ze zmniejszonym wiązaniem do DNA jądrowego czynnika kappa B i białka aktywującego-1. Wyniki badania wskazują, że EGCG jest korzystny w terapii uszkodzenia mięśnia sercowego poprzez hamowanie szlaków NF-kappa B i AP-1 [Aneja i wsp., 2004].

Hussain i wsp. [2004] wykazali, że galusan epigalokatechiny z zielonej herbaty inhibuje cyklooksygenazę 2 (COX-2) w komórkach ludzkiego nowotworu prostaty wrażliwych na androgeny LNCaP i niewrażliwych na androgeny PC-3, nie wpływając przy tym na ekspresję COX-1 zarówno na poziomie mRNA jak i białka.

Działanie hipolipidemiczne

Muramatsu i wsp. [1986] badali działanie katechin na metabolizm lipidów u samców szczurów karmionych przez 28 dni 25% dietą kazeinową zawierającą 15% smalcu i 1% cholesterolu. Katechiny pozyskane z proszku z zielonej herbaty dodano w stężeniu 1 i 2% do diety cholesterolowej. Dodatek katechin w stężeniu 2% w niewielkim stopniu obniżył wzrost zwierząt. Katechiny spowodowały spadek poziomu całkowitego cholesterolu, estrów cholesterolu, HDL i LDL w osoczu oraz indeksu aterogennego, natomiast nie wpłynęły na poziom glukozy w osoczu i hematokryt. Waga wątroby, całkowite stężenie lipidów i cholesterolu w tym narządzie u szczurów karmionych dietą cholesterolową wzrosły bardziej niż u szczurów kontrolnych, ale dodanie katechin do diety cholesterolowej spowodowało obniżenie się tych parametrów. Suplementacja diety katechinami wywołała wzrost wydalania lipidów i cholesterolu w kale. Rezultaty te wskazują, że katechiny redukują hipercholesterolemię u szczurów karmionych dietą bogatą w cholesterol.

W doświadczeniu przeprowadzonym przez Yamaguchi i wsp. [1991] badano zapobiegawcze działanie wyciągu z zielonej herbaty wobec hiperlipidemii i akumulacji lipidów w wątrobie i aorcie myszy karmionych przez 14 dni dietą aterogenną wzbogaconą w 1.5% cholesterolu,

0.5% kwasu żółciowego i 5% kwasu linolowego. Zwierzętom podawano wyciąg z zielonej herbaty w wodzie pitnej w dawkach 50, 100 i 200 mg/kg/dzień. Sześć tygodni po rozpoczęciu eksperymentu terapia wyciągiem z zielonej herbaty zapobiegła wzrostowi cholesterolu w surowicy spowodowanemu przez dietę aterogenną, podobnie w sposób dawko-zależny wyraźnie zapobiegła wzrostowi poziomu peroksydowanych lipidów w surowicy. Ponadto, wykazywała tendencję do zapobiegania wzrostowi fosfolipidów w surowicy i obniżania poziomu acylotransferazy lecytynowo-cholesterolowej, natomiast nie miała wpływu na poziom trójglicerydów i cholesterolu HDL. Podawanie zwierzętom wyciągu z zielonej herbaty w dawce 50 i 100 mg/kg/dzień zapobiegało wzrostowi poziomu cholesterolu w wątrobie, poza tym wyciąg ten w sposób dawko-zależny zapobiegał wzrostowi poziomu cholesterolu, zwłaszcza zestryfikowanego, w aorcie.

Działanie przeciwpróchnicze

Związki polifenolowe z zielonej herbaty skutecznie hamowały przyczepianie się bakterii szczepu JC-2 *Streptococcus mutans* do dysków hydroksyapatydowych pokrytych śliną oraz wytwarzanie nierozpuszczalnych w wodzie glukanów z sukrozy przez bakteryjne glukozylotransferazy. Wśród testowanych katechin najsilniej hamował aktywność tych enzymów galusan epigalokatechiny i galusan epikatechiny. Ponadto, u szczurów wolnych od patogenów a zainfekowanych szczepem JC-2 *S. mutans* i karmionych dietą sprzyjającą rozwojowi próchnicy i/lub pijących wodę zawierającą 0.05% polifenoli zanotowano znacznie niższy wskaźnik próchnicy w porównaniu ze szczurami nie otrzymującymi polifenoli z zielonej herbaty [Otake i wsp., 1991]

Działanie przeciwbakteryjne i bakteriobójcze

Toda i wsp., [1989] wykryli, że wyciągi z liści Japońskiej zielonej herbaty hamowały wzrost różnych bakterii powodujących biegunki. Testowane wyciągi wykazywały aktywność przeciwbakteryjną względem *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *V. mimicus*, *Campylobacter jejuni*, *Plesiomonas shigelloides*, natomiast nie wpływały na wzrost *V. fluvalis*, *A. sobria*, *A. hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, enteronwazyjnej ,wywołującej krwawienia jelitowe, jelitowo patogennej i jelitowo toksykogennej *E. coli*, *Enterobacter cloacae* lub *Yersinia enterocolitica*. Herbata miała działanie bakteriobójcze wobec *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* nawet w stężeniach powszechnie spożywanych jako napój w codziennym życiu

Działanie zapobiegające otyłości

W badaniu przeprowadzonym przez Zheng i wsp. [2004] samice myszy ICR karmiono przez 16 tygodni dietą zawierającą 2% sproszkowanej zielonej herbaty i dietą zawierającą 0.3% katechin,

0.05% kofeiny i 0.03% teaniny, co odpowiadało ich stężeniu w diecie z 2% proszkiem herbacianym, pojedynczo i w kombinacji. Podczas tego okresu, co miesiąc mierzono masę ciała i spożycie pokarmu, tkankę tłuszczową w nerkach, nadnerczach, wątrobie, śledzionie, mózgu, przysadce i wewnątrz otrzewnej oraz poziom lipidów w surowicy i wątrobie. Waga ciała uległa zwiększeniu, natomiast waga wewnątrzotrzewnowej tkanki tłuszczowej uległa znacznemu zmniejszeniu u zwierząt karmionych dietą zawierającą zieloną herbatę, kofeinę, teaninę, kofeinę i katechiny, kofeinę i teaninę, kofeinę plus katechiny i teaninę. W porównaniu z grupą kontrolną waga wewnątrzotrzewnowej tkanki tłuszczowej u zwierząt karmionych kofeiną i katechinami obniżyła się o 76.8 %. Stężenie trójglicerydów (TG) i niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych (NEKT) uległo obniżeniu przez działanie zielonej herbaty, katechin i teaniny, ponadto kofeina i katechiny, kofeina i teanina oraz kofeina plus katechiny i teanina również spowodowały obniżenie poziomu NEKT w surowicy. W porównaniu z kontrolą, katechiny oraz katechiny i teanina wywołały znaczący spadek poziomu TG w wątrobie. Wyniki te wskazują, że kofeina i teanina na pewno odpowiadały za hamujące działanie sproszkowanej zielonej herbaty na wzrost masy ciała i akumulację tłuszczów, co więcej wykazano, że katechiny i kofeina miały synergistyczne działanie przeciw otyłości.

Farmakokinetyka

Ludzie

W badaniu klinicznym ustalono bezpieczeństwo stosowania i farmakokinetykę polifenoli z zielonej herbaty po 4 tygodniach codziennego podawania galusanu epigalokatechiny lub Polifenonu E (określona, bezkofeinowa mieszanina polifenoli z zielonej herbaty) oraz wpływ przyjmowania polifenoli z zielonej herbaty na indukowany przez działanie promieni UV rumień. Zdrowi uczestnicy (40 kobiet i mężczyzn) o II lub III typie skóry w skali Fitzpatricka po dwu tygodniowym okresie wprowadzającym zostali losowo przydzieleni do jednej z pięciu grup (po 8 osób w każdej): otrzymujących 800 mg EGCG raz dziennie, 400 mg EGCG dwa razy dziennie, 800 mg EGCG jako Polifenon E raz dziennie, 400 mg EGCG jako Polifenon E dwa razy dziennie lub placebo raz dziennie. Przed, w pierwszym dniu i po czterotygodniowym okresie terapii zbierano próbki krwi i dokonywano analiz w celu ustalenia farmakokinetyki, bezpieczeństwa i aktywności biologicznej polifenoli. Podczas czterotygodniowej terapii uczestnicy odnotowali następujące działania niepożądane: gazy, rozstrój żołądka, nudności, zgaga, ból brzucha, zawroty głowy, bóle głowy, bóle mięśniowe. Miały one łagodne nasilenie i częstość ich występowania była taka sama w grupach zażywających polifenole i w grupie placebo. Nie zaobserwowano znaczących zmian w ilości krwinek, i profilu chemicznym krwi po podawaniu polifenoli. U uczestników przyjmujących po 800 mg polifenoli, po 4 tygodniach obszar pod wykresem zależności stężenia EGCG w osoczu od czasu wzrósł o ponad 60 %. Nie zaobserwowano znaczących zmian w farmakokinetyce EGCG po podawaniu polifenolu w dawce 400 mg dwa razy dziennie. Przyjmowanie polifenoli nie zapewniało ochrony przeciwko indukowanemu przez promieniowanie UV rumieniowi [Chow i wsp., 2003].

Badano metabolizm katechin po pojedynczym podaniu naparu z zielonej herbaty. Zdrowi ochotnicy (n=6), po siedmiodniowym okresie przebywania na diecie wolnej od flawonoidów, spożyli 300 ml naparu z zielonej herbaty (zawierał ok. 400 mg katechin), po czym nie przyjmowali napojów i pokarmów bogatych w fenole. Próbki osocza zebrano od nich przed, 1,2,3,4 i 5 godzin po wypiciu herbaty, natomiast próbki moczu przed oraz pomiędzy 0-6, 6-24, 24-36 i 36-48 godziną po suplementacji. W próbach osocza wykryto galusan epigalokatechiny i galusan epikatechiny, które osiągnęły maksymalne stężenie (2µM) po 2 godzinach od momentu spożycia herbaty. W próbkach moczu zebranych pomiędzy 6 a 48 godziną wykryto końcowe metabolity katechin, w tym kwas 4-hydroksybenzoesowy, 3,4-dihydroksybenzoesowy, kwas 3-metoksy-4-hydroksy-hipurowy i 3-metoksy-4-hydroksy-benzoesowy (waniliowy), całkowita zawartość tych metabolitów osiągnęła średnią wartość 60 mg [Pietta i wsp., 1998].

Zwierzęta

W badaniu przeprowadzonym na samcach szczurów rasy Sprague Dawley (waga 210-230 g) oceniono wchłanianie i doustną biodostępność trzech rodzajów katechin: epikatechiny (EC), galusanu epikatechiny (ECG) i galusanu epigalokatechiny (EGCG). Zwierzętom podawano albo dożylną (50 mg/kg m.c.) albo doustną (5000 mg/kg) dawkę frakcji katechinowej pozbawionej kofeiny zawierającą EC (5%), EGCG (50%) i ECG (13%). Stężenie tych związków zmierzono za pomocą HPLC w osoczu, moczu i kale. Do oznaczeń farmakokinetycznych wykorzystano podejście nieprzedziałowe. Wyniki wykazały, że maksymalne stężenie (15-112 µg/ml) katechin zostaje osiągnięte 2 h po podaniu a objętość dystrybucji wynosi 30-63 l/kg. Absolutna biodostępność EC, EGCG i ECG wyniosła odpowiednio 0.39, 0.14 i 0.06, natomiast końcowy czas półtrwania eliminacji katechin po podaniu doustnym wynosił 451-479 min i był 1.4-10 razy dłuższy niż ten obserwowany przy podaniu dożylnym. Ta rozbieżność w końcowej eliminacji, niskim tempie i stopniu wchłaniania wskazywały na możliwość kinetyki flip-flop. Odzysk z moczu wynosił odpowiednio 0.17-4.72% po podaniu doustnym i 2.11-14.2% po podaniu dożylnym. Niska dostępność układowa katechin z herbaty mogła być wynikiem powolnego wchłaniania, efektem wysokiego pierwszego przejścia i rozległą dystrybucją tkankową [Zhu i wsp., 2000].

Wskazania

- w zaburzeniach żołądkowych, migrenie, objawach zmęczenia, wymiotach i przy bieguncie, również jako środek pobudzający [PDR, 2000];
- w homeopatii w zaburzeniach sercowo-naczyniowych, bólach głowy, w stanach pobudzenia i depresji, w dolegliwościach żołądkowych [PDR, 2000];
- w medycynie indyjskiej w terapii biegunek, utraty apetytu, migreny, bólów serca, gorączki i zmęczenia [PDR, 2000];

- w medycynie chińskiej w terapii migreny, nudności, biegunek towarzyszących malarii i zaburzeniach trawienia i w profilaktyce nowotworów [PDR, 2000].

Badania kliniczne

Działanie przeciwutleniające

Wiele badań potwierdza hipotezę o bardzo dużym znaczeniu oksydacyjnego uszkodzenia DNA, lipidów i białek w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych i nowotworów. Organizm człowieka generuje powstawanie rodników tlenowych i azotowych, którym często wewnętrzne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej nie są w stanie się przeciwstawić, dlatego antyoksydanty przyjmowane wraz z dietą mogą mieć szczególne znaczenie w zapobieganiu przewlekłym chorobom. Zielona i czarna herbata są bogate w polifenole o właściwościach przeciwutleniających, które mogą korzystnie wpływać na organizm ludzki [Frei i wsp., 2003; Rietveld 2003].

W badaniu równoległym przeprowadzonym przez Serafini i wsp. [1996] piętnastu uczestników podzielono na 3 grupy: w grupie pierwszej ochotnicy wypili zieloną herbatę (6g/300 ml), w drugiej czarną herbatę (6g/300ml) a w trzeciej wodę (300 ml). Wykazano znaczący i silny wzrost wartości TRAP (zdolność całkowitego zmiatania wolnych rodników w osoczu) pomiędzy 30-tą a 60 min. po jednorazowym spożyciu herbaty (>34% w grupie zielonej herbaty i >29% w grupie, która przyjęła czarną herbatę). Zdolność unieszkodliwiania wolnych rodników powróciła do swojego początkowego poziomu po 80 min.

Umiarkowany wzrost wydolności antyoksydacyjnej osocza wykryto u 10 młodych, zdrowych ochotników, którzy spożyli zieloną herbatę trzykrotnie, w tygodniowych odstępach, w zwiększających się ilościach (150, 300 i 450ml). W pierwszym tygodniu wykryto niewielki wzrost wartości TEAC (wydajność antyoksydacyjna ekwiwalentów Troloxu) w porównaniu z wartością wyjściową. Po podwojeniu i trzykrotnym zwiększeniu dawki zielonej herbaty osiągnięto progresywny, znaczący wzrost TEAC (ok.12.7%). W badaniu tym nie prowadzono terapii kontrolnej. Oprócz pobrania próbek krwi od ochotników przed rozpoczęciem spożywania zielonej herbaty [Sung i wsp., 2000].

Właściwości przeciwutleniające wyciągu z zielonej herbaty wykazano u 20 osób przebywających na kontrolowanej diecie z wysoką zawartością kwasu linolowego połączonej z suplementacją herbatą lub placebo. Przyjmowanie wyciągu z zielonej herbaty (3g/dzień) przez 4 tygodnie znacząco (o 21%) obniżyło stężenie MDA (malonodialdehydu) w osoczu w porównaniu z 42% wzrostem poziomu tego związku w osoczu osób przyjmujących placebo. Status antyoksydacyjny, którego wskaźnikiem było stężenie witaminy E w osoczu, poziom

zredukowanego i utlenionego glutationu oraz witaminy C w surowicy nie uległ zmianie w obydwu przypadkach [Freese i wsp., 1999].

Zapobieganie nowotworom

Nakachi i wsp. [1998] przeprowadzili dwuczęściowe studium przypadków chorobowych 472 japońskich kobiet z nowotworem piersi w stadium I, II lub III. W pierwszej części badania określono związki pomiędzy spożywaniem zielonej herbaty przed początkiem nowotworu klinicznego a różnymi parametrami ocenionymi podczas zabiegów operacyjnych. Odkryto, że zwiększone spożycie zielonej herbaty było ściśle związane ze zmniejszoną liczbą przerzutów do pachowych węzłów chłonnych wśród pacjentek w wieku przedmenopauzalnym ze stadium I i II nowotworu piersi oraz ze zwiększoną ekspresją receptora progesteronowego (PgR) i estrogenowego (ER) u pacjentek w wieku pomenopauzalnym. W drugiej części badania określono powiązania pomiędzy spożywaniem zielonej herbaty przez pacjentki a rokowaniami dotyczącymi nowotworu piersi. Odkryto, że zwiększone spożycie zielonej herbaty związane było ze zmniejszeniem nawrotów nowotworu w stadium I i II; częstość nawrotów wynosiła 16.7% wśród pacjentek spożywających powyżej pięciu lub pięć filiżanek herbaty dziennie i 23.3% wśród kobiet spożywających poniżej czterech lub cztery filiżanki tego napoju dziennie przez okres siedmiu lat. Względne ryzyko nawrotu wyniosło 0.564 (przy 95% przedziale ufności wynosiło ono 0.350-0.911) po dostosowaniu do innych czynników stylu życia. Nie obserwowano poprawy rokowań dla III –go stadium nowotworu piersi. Autorzy wywnioskowali, że zwiększone spożycie zielonej herbaty przed początkiem nowotworu w postaci klinicznej jest wyraźnie powiązane z lepszymi rokowaniami dla nowotworu w stadium I i II, związek ten może wynikać z modyfikującego działania zielonej herbaty na cechy kliniczne nowotworu.

Wykazano, że w układzie pokarmowym zielona herbata aktywuje wewnątrzkomórkowe przeciwutleniacze, hamuje tworzenie prokancerogenów, hamuje angiogenezę i podziały komórek nowotworowych. Badania nad profilaktycznym działaniem zielonej herbaty w odniesieniu do nowotworu przełyku przyniosły sprzeczne rezultaty, ale istnieje wiele doniesień na temat odwrotnej korelacji pomiędzy spożywaniem herbaty a zachorowaniami na nowotwór okrężnicy i żołądka. Zielona herbata jest skuteczna w zapobieganiu próchnicy zębów i zmniejszaniu wchłaniania cholesterolu i lipidów w układzie pokarmowym, co jest korzystne dla osób z zaburzeniami sercowo-naczyniowymi. Katechiny z zielonej herbaty są dobrze wchłaniane, dlatego picie zielonej herbaty jest prostym i skutecznym sposobem zapobiegania zaburzeniom żołądka i jelit [Koo i wsp., 2004].

W Chinach przeprowadzono zakrojone na szeroką skalę, obejmujące 2226 uczestników badanie kontrolowanych przypadków chorobowych, do którego włączono świeżo zdiagnozowane przypadki nowotworów (931 okrężnicy, 884 odbytnicy, 451 trzustki) u osób w

wieku 30-74 lata. Kontrole wybrano i dopasowano do przypadków chorobowych uwzględniając kryteria wieku i pici. Przedziały ufności dla każdego rodzaju nowotworu związane ze spożyciem zielonej herbaty otrzymano po dostosowaniu do wieku, dochodów, wykształcenia i palenia papierosów, dodatkowe kryteria: dieta i rozmiary ciała miały minimalny wpływ. Odkryto, że wraz ze wzrostem spożycia herbaty zmniejszała się tendencja do występowania wszystkich trzech rodzajów nowotworów, jednak najsilniej zaznaczała się w przypadku nowotworów odbytnicy i trzustki. U kobiet spożywających największe ilości zielonej herbaty (> lub = 200 g/miesiąc) ryzyko nowotworu okrężnicy było mniejsze o 33% nowotworu odbytnicy o 43% i nowotworu trzustki o 47% (p wynosiło odpowiednio 0.07, 0.001 i 0.008). U mężczyzn spożywających największe ilości zielonej herbaty (> lub = 300 g/miesiąc) ryzyko nowotworu okrężnicy było mniejsze o 18%, odbytnicy o 43% i trzustki o 47% w porównaniu z mężczyznami, którzy nie pili regularnie zielonej herbaty (p wyniosło odpowiednio 0.38, 0.04 i 0.04). Wyniki te dostarczają dalszych dowodów potwierdzających tezę, mówiącą, że picie zielonej herbaty może obniżyć ryzyko zachorowań na nowotwory okrężnicy, odbytnicy i trzustki [Ji i wsp., 1997].

Zapobieganie chorobie wieńcowej

Sano i wsp. [2004] przeprowadzili badanie mające na celu ustalenie czy spożywanie zielonej herbaty jest proporcjonalnie skorelowane ze zmniejszoną częstością występowania choroby wieńcowej i rokowaniami odnośnie naczyń wieńcowych i mózgowych. Badana grupa pacjentów składała się z 203 osób, które zostały poddane angiografii tętnic wieńcowych (109 pacjentów ze znaczącym zwężeniem tętnic i 94 bez). Zanalizowano czynniki sprzyjające chorobie wieńcowej (nadciśnienie, hiperlipidemia, wysoki poziom kwasu moczowego, palenie papierosów, otyłość), następnie śledzono występowanie zaburzeń w funkcjonowaniu naczyń sercowych i mózgowych. Spożycie zielonej herbaty było wyraźnie wyższe u pacjentów bez choroby wieńcowej niż u tych z chorobą (5.9 ± 0.5 vs 3.5 ± 0.3 filiżanki/dzień; $p < 0.001$), przy czym 47% uczestników wypijało ponad 3 filiżanki herbaty dziennie (1 filiżanka = 120 ml herbaty). Obserwowano odwrotny związek między spożyciem zielonej herbaty a częstością występowania choroby wieńcowej ($p < 0.001$).

Działanie hipoglikemiczne

Tsuneki i wsp. [2004] badali wpływ spożycia zielonej herbaty na metabolizm glukozy u zdrowych ochotników. Mierzono poziom glukozy we krwi przed, 30, 60 i 120 min. po wypiciu 1.5 g zielonej herbaty (1.5 g proszku z zielonej herbaty/ 150 ml gorącej wody) oraz gorącej wody (150 ml) bez dodatku herbaty. Tolerancja glukozy uległa znacznej poprawie po spożyciu zielonej herbaty w porównaniu z wynikami uzyskanymi po spożyciu wody (przykładowo, poziom glukozy we krwi po 30 min po spożyciu wody wynosił ok. 150 mg/dl a po spożyciu zielonej herbaty < 130 mg/dl; po 120 min. odpowiednio 120 mg/dl i 100 mg/dl). Szczegółowo, metabolizm glukozy uległ zwiększeniu u 14 uczestników, pozostał niezmienny u 3 i pogorszył

się u 5. Podstawowy poziom glukozy nie różnił się znacząco u wszystkich uczestników. Wyniki badania sugerują, że zielona herbata może mieć działanie profilaktyczne w odniesieniu do cukrzycy.

Działanie hipolipidemiczne

W przekrojowym badaniu przeprowadzonym przez Imai i wsp. [1995] ustalono związki pomiędzy spożyciem zielonej herbaty a różnorodnymi markerami surowiczymi, ze szczególnym odniesieniem do profilaktycznego działania zielonej herbaty wobec chorób sercowo-naczyniowych i niedomagań wątroby. W badaniu uczestniczyło 1371 mężczyzn w wieku ponad 40 lat, u których zanalizowano nawyki życiowe, w tym codzienne spożywanie zielonej herbaty, oraz poddano ich próbki krwi kilku oznaczeniom biochemicznym. Zwiększone spożycie zielonej herbaty związane było z obniżonym poziomem całkowitego cholesterolu w surowicy ($P < 0.001$) i trójglicerydów ($P = 0.02$) oraz zwiększonym odsetkiem cholesterolu HDL wraz ze zmniejszonym odsetkiem cholesterolu LDL i VLDL ($P = 0.02$), czego rezultatem był obniżony wskaźnik aterogenny ($P = 0.02$). Ponadto zwiększona konsumpcja zielonej herbaty, zwłaszcza powyżej 10 filiżanek dziennie, powiązana była ze zmniejszonym stężeniem aminotransferazy asparaginianowej ($P = 0.06$), transferazy alaninowej ($P = 0.07$) i ferrytyny ($P = 0.02$). Odwrotna korelacja między konsumpcją zielonej herbaty a różnymi markerami biochemicznymi, wskazuje, że zielona herbata może zapobiegać chorobom sercowo-naczyniowym i zaburzeniom pracy wątroby.

Zapobieganie próchnicy zębów

W badaniu przeprowadzonym przez Chung i wsp. [1993] wykazano, że po pięciominutowym wystawieniu na działanie naparu z polifenoli z Chińskiej zielonej herbaty (CTP) całkowicie został zahamowany wzrost *Streptococcus mutans*. Wskaźnik płytki bakteryjnej i dziąsłowy uległy znaczącemu ($p < 0.001$) obniżeniu po tym jak uczestnicy badania płukali jamę ustną i szczotkowali zęby 0.2% naparem z polifenoli z zielonej herbaty, dlatego wywnioskowano, że CTP jest skutecznym czynnikiem w profilaktyce próchnicy zębów.

Ze śliny i zębów pacjentów z próchnicą wyizolowano różnorodne bakterie, które następnie zidentyfikowano przy pomocy testów morfologicznych i biochemicznych. Wyciągi z zielonej herbaty, którymi pacjenci płukali jamę ustną, silnie hamowały wzrost następujących bakterii: *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*. Antybakteryjne działanie wyciągów zostało porównane z działaniem amoksycyliny, cefadryny i eugenolu [Rasheed i wsp., 1998].

PROFIL BEZPIECZEŃSTWA

Działania niepożądane

Ewentualne działania niepożądane związane są z zawartością kofeiny w zielonej herbacie (ok. 10-50mg/filiżankę). Nadmierne spożycie zielonej herbaty może spowodować drażliwość, bezsenność, nerwowość i tachykardię [DerMarderosian, 1999; cyt. W Altern Med. Rev 5(4) 2000].

Interakcje

Należy pamiętać, że herbata zawiera kofeinę i możliwe jest przedawkowanie tej substancji w połączeniu z innymi produktami również ją zawierającymi [PDR, 2000].

Teoretycznie, spożywanie zielonej herbaty, która zawiera kofeinę, może być związane z wystąpieniem interakcji z lekami i testami laboratoryjnymi charakterystycznych dla tego związku [PDR, 2000]. Teoretycznie zielona herbata może redukować absorpcję suplementów żelazowych [PDR, 2000]. Mleko może wiązać antyoksydanty zielonej herbaty i przez to zmniejszać efekty przeciwutleniające [Serafini i wsp., 1996].

Przedawkowanie

Przedawkowanie (ilości odpowiadające więcej niż 300 mg kofeiny, lub 5 filiżankom herbaty) może prowadzić do niepokoju, drżenia, podniesionej pobudliwości. Pierwszymi objawami zatrucia są wymioty i skurcze brzuszne. Niemożliwe jest wystąpienie śmiertelnego zatrucia [PDR, 2000].

DAWKOWANIE

Typowa dzienna dawka polifenoli wynosi od 300 do 400 mg. Trzy filiżanki zielonej herbaty zawierają od 240 do 320 mg polifenoli [PDR, 2000].

PIŚMIENICTWO

Ahn D, Putt D, Kresty L, Stoner GD, Fromm D, Hollenberg PF. The effects of dietary ellagic acid on rat hepatic and esophageal mucosal cytochromes P450 and phase II enzymes. *Carcinogenesis* 1996 Apr;17(4):821-8

Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. . Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:487-91.

Aneja R, Hake PW, Burroughs TJ, Denenberg AG, Wong HR, Zingarelli B. Epigallocatechin, a green tea polyphenol, attenuates myocardial ischemia reperfusion injury in rats. *Mol Med*. 2004 Jan-Jun;10(1-6):55-62.

Arteel GE, Uesugi T, Bevan LN, Gabele E, Wheeler MD, McKim SE, Thurman RG. Green tea extract protects against early alcohol-induced liver injury in rats. *Biol Chem*. 2002 Mar-Apr;383(3-4):663-70.

Atta-Ur-Rahman, Ngounou FN, Choudhary MI, Malik S, Makhmoor T, Nur-E-Alam M, Zareen S, Lontsi D, Ayafor JF, Sondengam BL. New antioxidant and antimicrobial ellagic acid derivatives from *Pteleopsis hylodendron*. *Planta Medica* 2001;67:335-9.

Bae EA, Han M J, Lee M, Kim DH. In vitro inhibitory effect of some flavonoids on rotavirus infectivity. *Biol Pharm Bull* 2000;23:1122-1124.

Barch DH, Rundhaugen LM, Thomas PE, Kardos P, Pillay NS. Dietary ellagic acid inhibits the enzymatic activity of CYP1A1 without altering hepatic concentrations of CYP1A1 or CYP1A1 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;201:1477-82.

Barch DH, Rundhaugen LM. Ellagic acid induces NAD(P)H:quinone reductase through activation of the antioxidant responsive element of the rat NAD(P)H:quinone reductase gene. *Carcinogenesis* 1994;15:2065-8.

Barnes S, Peterson TG. Biochemical targets of the isoflavone genistein in tumor cell lines. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1995b; 208:103-108.

Barnes S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. *J Nutr*. 1995a; 125:777S-783S.

Bergan JJ, Schmid-Schonbein GW, Takase S. Therapeutic approach to chronic venous insufficiency and its complications: place of Daflon 500 mg. *Angiology* 2001;52S\$43-S47.

Boukharta M, Jalbert G, Castonguay A. Biodistribution of ellagic acid and dose-related inhibition of lung tumorigenesis in A/J mice. *Nutr Cancer* 1992;18:181-9.

Buckshee K, Takkar D, Aggarwal N. Micronized flavonoid therapy in internal hemorrhoids of pregnancy, *Int J Gynaecol Obstet* 1997;57:145-151

Buckshee K, Takkar D, Aggarwal N. Micronized flavonoid therapy in internal hemorrhoids of pregnancy, *Int J Gynaecol Obstet* 1997;57:145-151.

Chen ZY, Yan RQ, Qin GZ, Qin LL. Effect of six edible plants on the development of AFB1-induced gamma-glutamyltranspeptidase-positive hepatocyte foci in rats. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 1987 Mar;9(2):109-11.

Chow HH, Cai Y, Hakim IA, Crowell JA, Shahi F, Brooks CA, Dorr RT, Hara Y, Alberts DS. Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res*. 2003 Aug 15;9(9):3312-9.

Chung FL, Schwartz J, Herzog CR, Yang YM. Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. *J Nutr*. 2003 Oct;133(10):3268S-3274S.

Constantinou A, Huberman E. Genistein as an inducer of tumor cell differentiation: possible mechanisms of action. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1995; 208:109-115.

Dalu A, Haskell JF, Coward L, Lamartiniere CA. Genistein, a component of soy, inhibits the expression of the EGF and Erb B2/Neu receptors in the rat dorsolateral prostate. *The Prostate*. 1998; 37:36-48.

Davis JN, Kucuk O, Sarkar FH. Genistein inhibits NF-Kappa B activation in prostate cancer cells. *Nutr Biochem*. 1999; 35:167-174.

Davis JN, Muqim N, Bhuiyan M, et al. Inhibition of prostate specific antigen expression by genistein in prostate cancer cells. *Int J Oncol*. 2000; 16:1091-1097.

Del Rio D, Stewart AJ, Mullen W, Burns J, Lean ME, Brighenti F, Crozier A. HPLC-MSn analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *J Agric Food Chem*. 2004 May 19;52(10):2807-15.

DerMarderosian A. The review of natural products. St. Louis, MO:Facts and comparisons, Wolters Kluwer Co. 1999; cyt. w *Altern Med. Rev* 2000; 5(4):372-5.

Doyle B, Griffiths LA. The metabolism of ellagic acid in the rat. *Xenobiotica* 1980;10:247-56.

Festa F, Aglitti T, Duranti G, Ricordy R, Perticone P, Cozzi R. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay. *Anticancer Res* 2001;21:3903-8.

Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, et al. Genistein, a dietary-derived inhibitor of *in vitro* angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90:2690-2694.

Freese R, Basu S, Hietanen E, Nair J, Nakachi K, Bartsch H, Mutanen M. Green tea extract decreases plasma malondialdehyde concentration but does not affect other indicators of oxidative stress, nitric oxide production, or hemostatic factors during a high-linoleic acid diet in healthy females. *Eur J Nutr*. 1999 Jun;38(3):149-57.

Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr*. 2003 Oct;133(10):3275S-84S.

Fujita Y, Yamane T, Tanaka M, Kuwata K, Okuzumi J, Takahashi T, Fujiki H, Okuda T. Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on carcinogenesis with N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in mouse duodenum. *Jpn J Cancer Res*. 1989 Jun;80(6):503-5.

Geller J, Sionit L, Partido C, et al. Genistein inhibits the growth of human-patient BPH and prostate cancer in histoculture. *The Prostate*. 1998; 34:75-79.

Glinski W, Chodynicka B, Roszkiewicz J, The beneficial augmentative effect of micronised purified flavonoid fraction (MPFF) on the healing of leg ulcers: an open, multicenter, controlled, randomized study. *Phlebology* 1999;14:151-157.

Godeberge P. Daflon 500 mg in the treatment of hemorrhoidal disease: a demonstrated efficacy in comparison with placebo. *Angiology* 1994;45:574-578.

Graf E, Eaton JW. Antioxidant function of phytic acid. *Free Rad Biol Med*. 1990; 8:61-69.

Green Tea. Monograph. *Alt Med. Rev* 2000; 5(4):372-5.

Gruenwald J, Jaenicke Ch, Brendler T, eds. PDR for Herbal Medicines. Montvale: Thomson Medical Economics; 2000. p. 369-72.

Han C, Xu Y. The effect of Chinese tea on occurrence of esophageal tumor induced by N-nitrosomethylbenzylamine in rats. *Biomed Environ Sci*. 1990 Mar;3(1):35-42.

Hara Y. Prophylactic function of tea polyphenols. Presented at the 204th American Chemical Society National Meeting. Washington, DC. August 26, 1992.

Hasanoglu A, Ara C, Ozen S, et al. Efficacy of micronized flavonoid fraction in healing of clean and infected wounds. *Int J Angiol* 2001 ; 10:41-44.

Huang MT, Ho CT, Wang ZY et al. Inhibitory effect of topical application of green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion in mouse skin. *Carcinogenesis* 1992; 13:947-54.

Hussain T, Gupta S, Adhami VM, Mukhtar H. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate selectively inhibits COX-2 without affecting COX-1 expression in human prostate carcinoma cells. *Int J Cancer*. 2004 Sep 28; [Epub ahead of print].

Imai K, Nakachi K. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. *BMJ*. 1995 Mar 18;310(6981):693-6. Comment in: *BMJ*. 1995 Aug 19;311(7003):513.

Ito N, Hirose M, Shirai T: Carcinogenicity and modification of carcinogenic response by plant phenols. In: *Phenolic Compounds in Foods and Health II: Antioxidant and Cancer prevention* (Huang MT, Ho CT, Lee CY, eds). Washington DC: Amer Chem Soc, 1992, pp 269-81.

Jantet G. Chronic venous insufficiency: worldwide results of the RELIEF study. Reflux assessment and quality of life improvement with micronized flavonoids. *Angiology* 2002;53:245-256.

Jariwalla RJ, Sabin R, Lawson S, et al. Effect of dietary phytic acid (phytate) on the incidence and growth rate of tumors promoted in Fisher rats by magnesium supplement. *Nutr Res*. 1988; 8:813-827.

Jariwalla RJ, Sabin R, Lawson S, Herman ZS. Lowering of serum cholesterol and triglycerides and modulation by dietary phytates. *J Appl Nutr*. 1990; 42:18-28.

Ji BT, Chow WH, Hsing AW, McLaughlin JK, Dai Q, Gao YT, Blot WJ, Fraumeni JF Jr. Green tea consumption and the risk of pancreatic and colorectal cancers. *Int J Cancer*. 1997 Jan 27;70(3):255-8.

Juhel C, Armand M, Pafumi Y, Rosier C, Vandermander J, Lairon D. RGreen tea extract (AR25(R)) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium in vitro. *J Nutr Biochem*. 2000 Jan;11(1):45-51.

Kasaoka S, Hase K, Morita T, Kiriya S. Green tea flavonoids inhibit the LDL oxidation in osteogenic disordered rats fed a marginal ascorbic acid in diet. *J Nutr Biochem*. 2002 Feb;13(2):96-102.

Katiyar SK, Agarwal R, Wang ZY, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate in *Camelia sinensis* leaves from Himalayan region of Sikkim: Inhibitory effects against biochemical events and tumor initiation in Sencar mouse skin. *Nutr Cancer* 1992;18:73-83.

Khan WA, Wang ZY, Bickers DR et al. Inhibition of the skin tumorigenicity of 7beta, 8alpha-dihydroxy-9alpha, 10-alpha-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene by tannic acid, green tea polyphenols and quercetin in Sencar mice. *Cancer Lett.* 1988; 42:7-12.

Koo MW, Cho CH. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *Eur J Pharmacol.* 2004 Oct 1;500(1-3):177-85.

Labrid C. Pharmacologic properties of Daflon 500 mg. *Angiology* 1994;45:524-530.

Lacombe C, Bucherer C, Lelievre JC. Hemorheological improvement after Daflon 500 mg treatment in diabetes. *Int Angiol* 1988;7:21-24.

Lacombe C, Bucherer C, Lelievre JC. Hemorheological improvement after Daflon 500 mg treatment in diabetes. *Int Angiol* 1988;7:21-24.

Lacombe C, Lelievre JC, Bucherer C, Grimaldi A. Activity of Daflon 500 mg on the hemorheological disorders in diabetes. *Int Angiol* 1989;8:45-48.

Lamartiniere CA. Protection against breast cancer with genistein: a component of soy. *Amer J Clin Nutr.* 2000; 71:1705S-1707S.

Lei F, Xing DM, Xiang L, Zhao YN, Wang W, Zhang LJ, Du LJ. Pharmacokinetic study of ellagic acid in rat after oral administration of pomegranate leaf extract. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003 Oct 25;796(1):189-94.

Li Y. Comparative study on the inhibitory effect of green tea, coffee and levamisole on the hepatocarcinogenic action of diethylnitrosamine. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 1991 May;13(3):193-5.

Losso i wsp., JN, Bansode RR, Trappey A 2nd, Bawadi HA, Truax R. In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *J Nutr Biochem.* 2004 Nov;15(11):672-8.

Manuel Y, Keenoy B, Vertommen J, De Leeuw 1. The effect of flavonoid treatment on the glycation and antioxidant status in type 1 diabetic patients. *Diabetes Nutr Metab* 1999;12:256-263.

Meyer OC. Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. *Angiology* 1994;45:579-584

Meyer OC. Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. *Angiology* 1994;45:579-584.

Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 1986 Dec;32(6):613-22.

Nakachi K, Suemasu K, Suga K, Takeo T, Imai K, Higashi Y. Influence of drinking green tea on breast cancer malignancy among Japanese patients. *Jpn J Cancer Res.* 1998 Mar;89(3):254-61.

Narayanan BA, Geoffroy O, Willingham MC, Re GG, Nixon DW. p53/p21(WAF1/CIP1) expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. *Cancer Lett* 1999 Mar 1;136(2):215-21

Narayanan BA, Geoffroy O, Willingham MC, Re GG, Nixon DW. p53/p21(WAF1/CIP1) expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. *Cancer Lett* 1999;136:215-21.

Narayanan BA, Narayanan NK, Stoner GD, Bullock BP.. Interactive gene expression pattern in prostate cancer cells exposed to phenolic antioxidants. *Life Sci* 2002;70:1821-39.

Narayanan BA, Re GG. IGF-II down regulation associated cell cycle arrest in colon cancer cells exposed to phenolic antioxidant ellagic acid. *Anticancer Res* 2001;21:359-64.

Otake S, Makimura M, Kuroki T, Nishihara Y, Hirasawa M. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Res.* 1991;25(6):438-43.

Pecking AP, Fevrier B, Wargon C, Pillion G. Efficacy of Daflon 500 mg in the treatment of lymphedema (secondary to conventional therapy of breast cancer). *Angiology* 1997;48:93-98.

Pecking AP. Evaluation by lymphoscintigraphy of the effect of a micronized flavonoid fraction (Daflon 500 mg) in the treatment of upper limb lymphedema. *Int Angiology* 1995;14:39-43.

Podbielkowski Z. Słownik roślin użytkowych. Wyd. V. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne; 1985. str. 117.

Porres JM, Stahl CH, Cheng W-H, et al. Dietary intrinsic phytate protects colon from lipid peroxidation in pigs with a moderately high dietary iron intake. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999; 221:80-86.

Rajnarayana K, Reddy MS, Krishna DR. Diosmin pretreatment affects bioavailability of metronidazole. *Eur J Clin Pharmacol* 2003;58:803-807.

Ramelet AA. Clinical benefits of Daflon 500 mg in the most severe stages of chronic venous insufficiency. *Angiology* 2001;52:S49-S56.

Ramelet AA. Clinical benefits of Daflon 500 mg in the most severe stages of chronic venous insufficiency. *Angiology* 2001;52:S49-S56.

Ramelet AA. Pharmacologic aspects of a phlebotropic drug in CVI-associated edema. *Angiology* 2000;51:19-23.

Rasheed A, Haider M. Antibacterial activity of *Camellia sinensis* extracts against dental caries. *Arch Pharm Res.* 1998 Jun;21(3):348-52.

Rietveld A, Wiseman S. Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. *J Nutr.* 2003 Oct;133(10):3285S-3292S.

Sano J, Inami S, Seimiya K, Ohba T, Sakai S, Takano T, Mizuno K. Effects of green tea intake on the development of coronary artery disease. *Circ J.* 2004 Jul;68(7):665-70.

Seeram NP, Lee R, Heber D. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Clin Chim Acta.* 2004 Oct;348(1-2):63-8

Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur J Clin Nutr.* 1996 Jan;50(1):28-32.

Serfaty D, Magneron AC. Premenstrual syndrome in France: epidemiology and therapeutic effectiveness of 1000 mg of micronized purified flavonoid fraction in 1,473 gynecological patients. *Contracept Fertil Sex* 1997;25:85-90. [Article in French]

- Shamsuddin AM. Inositol phosphates have novel anticancer function. *J Nutr.* 1995; 125:725S-732S.
- Shamsuddin AM. Reduction of cell proliferation and enhancement of NK-cell activity. 1992. United States Patent Number 5,082,833.
- Siglin JC, Barch DH, Stoner GD.. Effects of dietary phenethyl isothiocyanate, ellagic acid, sulindac and calcium on the induction and progression of N-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis* 1995;16:1101-6.
- Stoner GD, Kresty LA, Carlton PS, Siglin JC, Morse MA. Isothiocyanates and freeze-dried strawberries as inhibitors of esophageal cancer. *Toxicol Sci* 1999;52(2 Suppl):95-100.
- Sung H, Nah J, Chun S, Park H, Yang SE, Min WK. In vivo antioxidant effect of green tea. *Eur J Clin Nutr.* 2000 Jul;54(7):527-9.
- Tanaka T, Iwata H, Niwa K, Mori Y, Mori H. Inhibitory effect of ellagic acid on N-2-fluorenylacetamide-induced liver carcinogenesis in male ACI/N rats. *Jpn J Cancer Res* 1988;79:1297-303.
- Teuscher E. Camellia. In: Hänsel R, Keller K, Rimpler H, Schneider G ed. *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Drogen A-D.* Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag; 1992. s. 628-640.
- Thresiamma KC, Kuttan R. Inhibition of liver fibrosis by ellagic acid. *Indian J Physiol Pharmacol* 1996 Oct;40(4):363-6
- Toda M, Okubo S, Ohnishi R, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. *Nippon Saikingaku Zasshi.* 1989 Jul;44(4):669-72.
- Tsuneki H, Ishizuka M, Terasawa M, Wu JB, Sasaoka T, Kimura I. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC Pharmacol.* 2004 Aug 26;4(1):18.
- Valensi PE, Behar A, de Champvallins MM, et al. Effects of a purified micronized flavonoid fraction on capillary filtration in diabetic patients. *Diabet Med* 1996;13:882-888.
- Vucenic I, Kalebic T, Tantivejkulk, Shamsuddin A. Novel anticancer function of inositol hexaphosphate. Inhibition of human rhabdomyosarcoma *in vitro* and *in vivo*. *Anticanc Res.* 1998; 18:1377-1384.
- Wang TT, Sathyamoorthy N, Phang JM. Molecular effects of genistein on estrogen receptor mediated pathways. *Carcinogenesis.* 1996; 17:271-275.
- Wang ZY, Agarwal R, Bickers DR et al. Protection against ultraviolet B radiation-induced photocarcinogenesis in hairless mice by green tea polyphenols. *Carcinogenesis* 1991; 12:1527-1530.
- Wang ZY, Agarwal R, Khan WA, et al. Protection against benzo(a)pyrene and N-nitrosomethylbenzylamine-induced lung and forestomach tumorigenesis in A/J mice by water extracts of green tea and licorice. *Carcinogenesis* 1992; 13:1491-4.
- Wang ZY, Bickers DR, Mukhtar H. Protection against experimental skin chemical carcinogenesis in mice by green tea polyphenols. Presented at the international Tea-Quality-Human Health Symposium (China) 1987.p 112-3.

Wang ZY, Cheng SJ, Zhou ZC et al. Antimutagenic activity of green tea polyphenols. *Mutat Res* 1989; 223:273-285.

Wang ZY, Huang MT, Ferraro T, et al. Inhibitory effect of green tea in the drinking water on tumorigenesis by ultraviolet light and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in the skin of SKH-1 mice. *Cancer Res* 1992; 52:1162-70.

Wang ZY, Khan WA, Bickers DR et al. Protection against polycyclic aromatic hydrocarbon-induced skin tumor initiation in mice by green tea polyphenols. *Carcinogenesis* 1989; 10:411-5.

Wang ZY, Zhou ZC, Bickers DR et al. Inhibition of chemical and photocarcinogenesis in murine skin by green tea polyphenols. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1990; 31:159.

Wei H, Bowen R, Cai Q, et al. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1995; 208:124-130.

Weinder-Wells MA, Altom J, Fernandez J, Fraga-Spano SA, Hilliard J, Ohemeng K, Barrett JF. DNA gyrase inhibitory activity of ellagic acid derivatives. *Cancer Res* 2001 Aug 15;61(16):6112-9 *Bioorg Med Chem Lett* 1998 Jan 6;8(1):97-100

Wu RR, Lin YP, Chen HY. Effect of Fujian oolong tea, yasmine tea, green tea and tea standing overnight on urethan induced lung neoplasia in mice. Presented at the International Tea-Quality-Human Health Symposium (China) 1987; pp 118-9.

Xu Y, Ho CT, Amin SG, et al. Inhibition of tobacco-specific nitrosamine-induced lung tumorigenesis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as antioxidants. *Cancer Res* 1992; 52:3875-9.

Yamaguchi Y, Hayashi M, Yamazoe H, Kunitomo M. Preventive effects of green tea extract on lipid abnormalities in serum, liver and aorta of mice fed a atherogenic diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi*. 1991 Jun;97(6):329-37.