



ISSN 2241-3081

# ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS

ΤΟΜΟΣ 28 | ΤΕΥΧΟΣ II  
VOLUME 28 | ISSUE II

ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 2016  
APRIL - JUNE 2016



# Ουρολοιμία;



## Utipro Plus. Τελεία και παύλα!

### Καινοτομία στη θεραπευτική προσέγγιση των ουρολοιμώξεων

Το Utipro Plus αποτελεί καινοτόμο αγωγή για τον έλεγχο των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος και την πρόληψη των υποτροπών, που προκαλούνται από παθογόνα βακτηρίδια, όπως το *E. Coli*. Το Utipro Plus μπορεί να χορηγηθεί με την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων των διαταραχών του ουροποιητικού συστήματος ή ως αγωγή πρόληψης των υποτροπών.

Το Utipro Plus δρα σε δύο επίπεδα:

- Χάρη στο συστατικό του, Xyloglucan Gelatine, δρα απευθείας στην πηγή του προβλήματος, μειώνοντας τον πληθυσμό των παθογόνων βακτηριδίων στο έντερο και αποτρέποντας τη μετανάστευσή τους στην ουροδόχο κύστη, όπου προκαλούν τις ουρολοιμώξεις.
- Και υποστηρικτικά στην ουροδόχο κύστη, όπου χάρη στα συστατικά του Hibiscus Sabdariffa και Propolis, μεταβάλλεται το pH των ούρων σε πιο όξινο, ελέγχοντας την ανάπτυξη βακτηριδίων μέσα σε αυτή.


Μπορεί να συγχρησιμοποιηθεί με αντιβίωση για την ταχύτερη αντιμετώπιση των συμπτωμάτων σε περίπτωση λοίμωξης. Για την πρόληψη νέων υποτροπών, χορηγείται σε εύκολο δοσολογικό σχήμα του ενός καψακίου την ημέρα για 15 διαδοχικές μέρες τον μήνα. Δεν έχουν αναφερθεί ανεπιθύμητες ενέργειες ή αντενδείξεις, εκτός από σπάνιες περιπτώσεις αλλεργικών αντιδράσεων σε κάποιο από τα συστατικά του. Διατίθεται σε συσκευασία των 15 καψακίων.

Utipro Plus CE 0373



Συμβουλευτείτε τον επαγγελματία υγείας σας! Ξέρει.

 **Galenica a.e.**



Από μικροί  
ήμασταν περίεργοι ...

...να ανακαλύψουμε ποιο είναι το πιο σημαντικό πράγμα στον κόσμο. Όταν το βρήκαμε αποφασίσαμε να κάνουμε έργο ζωής την προάσπιση και εξασφάλισή του- της υγείας.

Είμαστε στο πλευρό της ιατρικής κοινότητας παρέχοντας φαρμακευτικά προϊόντα υψηλής ποιότητας, προσπαθώντας να έχουν πρόσβαση σε αυτά, όλοι οι συνάνθρωποί μας.

Παραμένουμε περίεργοι, παραμένουμε αποφασισμένοι, παραμένουμε στο πλευρό σας με τον ενθουσιασμό και την επιμονή μικρού παιδιού.

**FarmaSyn** SA  
P H A R M A C E U T I C A L S

Αθήνα: Μονής Δαμάστας 6, 12133 Περιστέρι • Τηλ: 210 5777140 • Fax: 210 5788791 • e-mail: farmasyn@otenet.gr • [www.farmasyn.gr](http://www.farmasyn.gr)  
Γραφείο Β. Ελλάδα: Μαιάνδρου & Αδμήτου 27, 56224 Εύσσμος • Τηλ: 2310 703856 • Fax: 2310 703178 • e-mail: thess@farmasyn.gr

# ΔΙΑΤΡΟΦΗ | ΥΓΕΙΑ | ΟΜΟΡΦΙΑ

# ΔΥ FORUM 2017

**Το μεγαλύτερο Διαδραστικό,  
Επιστημονικό  
και Εκθεσιακό Forum  
της χρονιάς**

**11-12**  
**ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΥ 2017**  
**ΖΑΠΕΙΟΝ ΜΕΓΑΡΟ**

Με την αιγίδα:



ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΣ  
ΙΑΤΡΙΚΟΣ  
ΣΥΛΛΟΓΟΣ



ΙΑΤΡΙΚΟΣ  
ΣΥΛΛΟΓΟΣ  
ΑΘΗΝΩΝ



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ,  
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ & ΤΟΥΡΙΣΜΟΥ



## Διατροφή Υγεία Ομορφιά

**Η συνάντηση χιλιάδων επιστημόνων υγείας, βιομηχανίας και κοινού**

ΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ

**19 Επιστημονικές Εταιρείες**



ΧΟΡΗΓΟΙ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ:



**Η ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ**



[www.dyoforum.gr](http://www.dyoforum.gr)

ΜΕ ΤΗΝ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ  
ΤΗΣ ZITA MEDICAL MANAGEMENT



1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου, Παιανία, [www.zita-group.com](http://www.zita-group.com)  
Εμπορική Διεύθυνση: Κουλουμπής Γεράσιμος, Τηλ.: +30 211 1001780



# SMECTIDRAL

Διοσμεκτίτης 3,00g • Χλωριούχο Νάτριο 0,263g • Χλωριούχο Κάλιο 0,0373g • Κιτρικό Τρικάλιο Άνυδρο 0,162g • Κιτρικό Τρινάτριο 0,147g • Γλυκόζη (άνυδρη δεξτρόζη) 1,982g

**Αντιδιαρροϊκή και ενυδατική δράση,  
χωρίς συστηματικές επιπτώσεις,  
για οξεία και χρόνια γαστρεντερίτιδα**

- ΜΕΙΩΝΕΙ ΤΑ ΕΠΕΙΣΟΔΙΑ ΔΙΑΡΡΟΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ
- ΠΡΩΘΕΙ ΤΗΝ ΑΠΟΤΟΞΙΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
- ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΕΙ ΤΗΝ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗ



**30  
ΦΑΚΕΛΑΚΙΑ  
ΜΕ ΣΚΟΝΗ ΓΙΑ  
ΠΟΣΙΜΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ**

**Με ευχάριστη  
γεύση!**

**CE 0373** Ιατροτεχνολογικό Προϊόν



Βιομηχανία Φαρμάκων & Καθλητικών  
Πειραιώς 37, 183 46 Μοσχάτο.  
Τηλ. 210 4819311-13, Fax: 210 4816790  
e-mail: info@adelco.gr, www.adelco.gr

**PHARMALINE**  
*from life to life*

Προϊόν της Pharmaline Italy  
Εισαγωγή διανομή από την  
Adelco A.E.

## ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ  
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΟΜΟΣ 28, ΤΕΥΧΟΣ ΙΙ,  
ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 2016

### ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

**A. Τσαντίλη**

Ομοτ. Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
tsantili@pharm.uoa.gr

### ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ

**Γ.Α. Καρίκας**

Καθηγητής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα Αθηνών, karikasg@teiath.gr

### ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Κ. Δεμέτζος**

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Β. Δημόπουλος**

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**N. Κόλμαν**

Galenica SA

**X. Κοντογιώργης**

PhD, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**Π. Κουρουνάκης**

Ομοτ. Καθηγητής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**Π. Μαχαίρας**

Ομοτ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Σ. Νικολαρόπουλος**

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

**Γ. Πάιρας**

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

**Ε. Παντερή**

Αναπλ. Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Δ. Ρέκκας**

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

E-mail για κατάθεση εργασιών:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»  
και οδηγίες προς συγγραφείς  
επισκεφτείτε την διεύθυνση: [www.hsmc.gr](http://www.hsmc.gr)

Τα άρθρα που δημοσιεύονται  
στην «Φαρμακευτική» καταχωρούνται  
στα Chemical Abstracts, EMBASE και SCOPUS

## PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY EDITION  
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS  
VOLUME 28, ISSUE II,  
APRIL - JUNE 2016

### EDITOR

**A. Tsantili**

Emeritus Professor, University of Athens,  
tsantili@pharm.uoa.gr

### CO EDITOR

**G.A. Karikas**

Professor, Technological Educational  
Institute of Athens, karikasg@teiath.gr

### EDITORIAL BOARD

**C. Demetzos**

Professor, University of Athens

**V.J. Demopoulos**

Professor, University of Thessaloniki

**N. Kolman**

Galenica SA

**Ch. Kontogiorgis**

PhD, University of Thessaloniki

**P. Kourounakis**

Emeritus Professor,

University of Thessaloniki

**P. Macheras**

Emeritus Professor, University of Athens

**S. Nikolaropoulos**

Associate Professor, University of Patras

**G. Pairas**

Associate Professor, University of Patras

**I. Panderi**

Associate Professor, University of Athens

**D. Rekkas**

Associate Professor, University of Athens

E-mail for manuscript submission:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

For "Pharmakeftiki" electronic edition  
and instructions to authors  
please visit [www.hsmc.gr](http://www.hsmc.gr)

Articles published in "Pharmakeftiki"  
are indexed in Chemical Abstracts,  
EMBASE and SCOPUS

Δεν φαινόμαστε,  
αλλά είμαστε δίπλα σας



**RAFARM Α.Ε.Β.Ε.** ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Κορίνθου 12, 15451 Ν. Ψυχικό, Αθήνα

Τηλ.: 210 67 76 550/1 • Fax: 210 67 76 552 • e-mail: [info@rafarm.gr](mailto:info@rafarm.gr)  
[www.rafarm.gr](http://www.rafarm.gr)

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ / CONTENTS

Διατροφικά Συμπληρώματα: Ωφέλιμα στην Υγεία του  
Ανθρώπου ή Απλώς Εφησυχασμός της Σκέψης; Κριτική  
Επισκόπηση για την Διαμάχη Ωφέλειας/Κινδύνου στα  
Διατροφικά Συμπληρώματα  
*Αθανάσιος Βαλαβανίδης* \_\_\_\_\_ 60-83

Οι Προκλήσεις της Βιοϊατρικής Τεχνολογίας στη Στοχευμένη  
Μεταφορά Φαρμάκων με Χρήση Νανοσωματιδίων  
*Γιώργος Λούντος, Ειρήνη Φραγκογεώργη, Mo Alavijeh,  
Sergey Mikhailovsky, Μαρία Γεωργίου* \_\_\_\_\_ 84-91

Παρασκευή και Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός  
Λιποσωμάτων με Ενσωματωμένα τα Φλαβονοειδή:  
Κερκετίνη, Ρουτίνη και Γενιστεΐνη  
*Ευανθία - Γεωργία Αγγελοπούλου,  
Νικολέττα Γιαταγάνη, Στέλλα Ξηρουδάκη,  
Νατάσσα Πίππα, Κώστας Δεμέτζος* \_\_\_\_\_ 92-100

Νέα Βιβλία \_\_\_\_\_ 101-103

Εκδηλώσεις \_\_\_\_\_ 104-105

Dietary Supplements: Beneficial to Human Health or Just  
Peace of Mind?

A Critical Review on the Issue of Benefit/Risk of Dietary  
Supplements  
*Athanasios Valavanidis* \_\_\_\_\_ 60-83

The Challenging Role of Biomedical Engineering in  
Nanoparticle based Drug Delivery  
*George Loudos, Eirini Fragogeorgi, Mo Alavijeh, Sergey  
Mikhailovsky, Maria Georgiou* \_\_\_\_\_ 84-91

Preparation and Physicochemical Characterization  
of Liposomes incorporating Flavonoids (quercetin, rutin  
and genistein)  
*Evanthia - Georgia Angelopoulou,  
Nicoletta Giatagana, Stella Xiroudaki,  
Natassa Pippa, Costas Demetzos* \_\_\_\_\_ 92-100

New Books \_\_\_\_\_ 101-103

Meetings \_\_\_\_\_ 104-105

**ZITA MEDICAL MANAGEMENT**  
1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου  
19002, Παιανία, Ελλάδα  
Τηλ.: + 30 211 100 1772  
E-mail: t.tassou@zita-management.com

**ZITA MEDICAL MANAGEMENT**  
1st klm Peanias - Markopoulou  
19002, Peania, Greece  
Tel.: + 30 211 100 1772  
E-mail: t.tassou@zita-management.com



  
**abasaglar**<sup>®</sup>  
insulin glargine injection  
(rDNA origin) 100 units/ml

**ΚΑΙ ΤΩΡΑ  
ΠΟΥ ΕΧΩ ΤΗΝ  
ΠΡΟΣΟΧΗ  
ΣΑΣ**

**Ας μιλήσουμε για το πώς θα βοηθήσουμε  
τους ασθενείς σας να αισθανθούν καλύτερα  
σχετικά με την έναρξη βασιικής ινσουλίνης**



**Η ABASAGLAR ενδείκνυται για τη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη σε ενήλικες,  
εφήβους και παιδιά ηλικίας 2 ετών και άνω.<sup>1</sup>**

#### 1. Π.Χ.Π. ABASAGLAR 100 units/ml KwikPen

Το φάρμακο αυτό τελεί υπό συμπληρωματική παρακολούθηση. Αυτό θα επιτρέψει τον ταχύ προσδιορισμό νέων πληροφοριών ασφαλείας. Ζητείται από τους επαγγελματίες του τομέα της υγείας να ενημερώσουν τους ασθενείς σχετικά με τα αποτελέσματα των μελετών που αφορούν ασφαλή χρήση. **ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ:** ABASAGLAR 100 μονάδες/ml ενέσιμο διάλυμα σε προγεμισμένο πένα. **ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΩΤΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ:** Κάθε ml περιέχει 100 μονάδες ινσουλίνης glargine (1 αντιστοιχούν σε 3,64 mg). Κάθε πένα περιέχει 3 ml ενέσιμο διάλυμα, που αντιστοιχούν σε 300 μονάδες ινσουλίνης. Η ινσουλίνη glargine παράγεται με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA στην *Escherichia coli*. **Θεραπευτικές ενδείξεις:** Θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη σε ενήλικες, εφήβους και παιδιά ηλικίας 2 ετών και άνω. **Δοσολογία και τρόπος χορήγησης:** Η ABASAGLAR περιέχει ινσουλίνη glargine, ένα ανάλογο ινσουλίνης με παρατεταμένη διάρκεια δράσης. Πρέπει να χορηγείται εφάπαξ ημερησίως οποιαδήποτε ώρα, αλλά κατά την ίδια ώρα κάθε ημέρα. Το δοσολογικό σχήμα (δόση και χρόνος) της ABASAGLAR θα πρέπει να εξαρτάται από τις ανάγκες του ασθενούς. Σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η ABASAGLAR μπορεί επίσης να χορηγηθεί με από του στόματος αντιδιαβητικά φαρμακευτικά προϊόντα. Η δραστηριότητα αυτού του φαρμακευτικού προϊόντος δηλώνεται σε μονάδες. Οι συγκεκριμένες μονάδες αναφέρονται αποκλειστικά στην ινσουλίνη glargine και δεν είναι όμοιες με τις Διεθνείς Μονάδες [IU] ή με τις μονάδες που χρησιμοποιούνται για να εκφράσουν τη δραστηριότητα άλλων αναλόγων ινσουλινών. **Ειδικές καταγραφές πηλοδυσμίας:** στους ηλικιωμένους με προοδευτική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε σταθερή μείωση των αναγκών σε ινσουλίνη. Σε ασθενείς με πιπαστική δυσλειτουργία, οι ανάγκες σε ινσουλίνη μπορεί να ελαττωθούν εξαιτίας της μειωμένης ικανότητας του ήπατος για γλυκογενεγένεση και του ελαττωμένου μεταβολισμού της ινσουλίνης. Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της ινσουλίνης glargine έχουν τεκμηριωθεί σε εφήβους και παιδιά ηλικίας 2 ετών και μεγαλύτερα, αλλά δεν έχει τεκμηριωθεί σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 2 ετών. **Μετάβαση από άλλες ινσουλίνες στην ABASAGLAR:** κατά την αλλαγή από μέσης ή μακράς διάρκειας δράσης ινσουλίνη σε ABASAGLAR, μπορεί να απαιτηθεί αλλαγή στη δόση της βασικής ινσουλίνης και της συγκολληόμενης αντιδιαβητικής θεραπείας. Προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος υπογλυκαιμίας, οι ασθενείς οι οποίοι αλλάζουν από ινσουλίνη NPH χορηγούμενη δύο φορές την ημέρα σε ABASAGLAR χορηγούμενη εφάπαξ ημερησίως, θα πρέπει κατά τη διάρκεια των πρώτων εβδομάδων να ελαττωθούν την ημερήσια δόση της βασικής ινσουλίνης κατά 20-30%. Κατά τις πρώτες εβδομάδες η μείωση πρέπει να γίνεται σταδιακά, να εξαρτάται από κάποια αύξηση της ινσουλίνης την ώρα του γεύματος. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα το δοσολογικό σχήμα θα πρέπει να προσαρμόζεται σταδιακά. Όπως και με άλλα ανάλογα ινσουλινών, οι ασθενείς με υψηλές δόσεις ινσουλίνης εξαιτίας των αντισωμάτων στην ανθρώπινη ινσουλίνη μπορεί να παρουσιάζουν βελτιωμένη ανταπόκριση στην ινσουλίνη με την ABASAGLAR. **Τρόπος χορήγησης:** Η ABASAGLAR χορηγείται υποδορίως και δεν θα πρέπει να χορηγείται ενδοφθάλμια. Δεν υπάρχουν κλινικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα σακχάρου ή ινσουλίνης στον ορό μετά τη χορήγηση της ινσουλίνης glargine στην κοιλιακή, γλουτιαία ή δελτοειδή περιοχή. Η ABASAGLAR δεν πρέπει να αναμιγνύεται με καμία άλλη ινσουλίνη ούτε να διαλύεται. **Αντενδείξεις:** υπερερευσιότητα στη δραστική ουσία ή σε κάποιο από τα έκδοχα. **Ειδικές προειδοποιήσεις και προφυλάξεις κατά τη χρήση:** Η ABASAGLAR δεν είναι η ινσουλίνη επιλογής για τη θεραπεία της διαβητικής ketoacidosis. Στην περίπτωση που η ρύθμιση του σακχάρου είναι ανεπαρκής ή υπάρχει τάση για επείγουσα υπογλυκαιμία ή υπογλυκαιμία θα πρέπει να ληφθούν υπόψη η συμμόρφωση του ασθενούς και η κατάρτιση του καθαρμένου θεραπευτικού σχήματος. Οι βέλτεστές των ενέσεων και η σωστή τεχνική τους καθώς και οι άλλοι σχετικοί παράγοντες. **Υπογλυκαιμία:** επειδή με την ινσουλίνη glargine ο ερεθισμός της βασικής ινσουλίνης είναι πιο σταθερός, μπορεί να αναμένεται λιγότερο κυκλική υπογλυκαιμία αλλά περισσότερο πρώιμη υπογλυκαιμία. Απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή και αυστηρά εντατικότερη παρακολούθηση του σακχάρου του αίματος σε ασθενείς στους οποίους τα υπογλυκαιμικά επεισόδια μπορεί να σχετίζονται με ιδιαίτερες κλινικές καταστάσεις. Η παρατεταμένη δράση της υποδορίας ινσουλίνης glargine μπορεί να καθυστερήσει την ανάνηψη από υπογλυκαιμία. **Συνδυασμός ABASAGLAR με ημιγλυκίνη:** έχουν αναφερθεί περιπτώσεις καρδιακής ανεπάρκειας όταν συγχρησιμοποιήθηκε η ημιγλυκίνη με ινσουλίνη, ειδικότερα σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη στην περίπτωση συνδυασμένης θεραπείας ημιγλυκίνης με ABASAGLAR. Εφάπαξ χρησιμοποιείται ο συνδυασμός, οι ασθενείς πρέπει να παρακολουθούνται για σημεία και συμπτώματα καρδιακής ανεπάρκειας, αύξηση βάρους και οίδημα. Η ημιγλυκίνη πρέπει να διακοπεί στην περίπτωση που παρουσιαστεί επιδείνωση των καρδιακών συμπτωμάτων. **Έκδοχα:** περιέχει λιγότερο από 1 mmol νατρίου (23 mg) ανά δόση, δηλ. είναι ουσιαστικά «ελεύθερο νατρίου». **Αλληλεπιδράσεις με άλλα φαρμακευτικά προϊόντα και άλλες μορφές αλληλεπιδράσεων:** ένας αριθμός ουσιών επηρεάζουν τη μεταβολισμό της γλυκόζης και μπορεί να απαιτήσουν αναπροσαρμογή της δόσης της ινσουλίνης glargine. Για τη χορήγηση άλλων φαρμακευτικών προϊόντων ταυτόχρονα με την Abasaglar 100 μονάδες/ml KwikPen θα πρέπει να συμβουλευτείτε τον γιατρό. **Γονιμότητα, κύηση και γαλουχία:** Δεν είναι διαθέσιμα κλινικά δεδομένα σχετικά με την έκθεση κατά την εγκυμοσύνη στην ινσουλίνη glargine. Τα δεδομένα από μεγάλο αριθμό εγκύων γυναικών (περισσότερες από 1000 περιπτώσεις έγκυος κύησης) τεκμηριώνουν απουσία συγκεκριμένων ανεπιθύμητων ενεργειών και δεν υπάρχει συγκεκριμένη δυσμενής ή ευνοϊκή γενετική τάση από τη χρήση της ινσουλίνης glargine. Μελέτες σε ζώα δεν έδειξαν αναπαραγωγική τοξικότητα. Η χρήση της ABASAGLAR μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική επιλογή κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, εάν είναι αναγκαία. Δεν είναι γνωστό εάν η ινσουλίνη glargine απεκκρίνεται στο ανθρώπινο γάλα. Δεν αναμένεται μεταβολική επίδραση στα θηλάζοντα νεογνά/βρέφη από τη λιγότερη ινσουλίνη glargine, επειδή η ινσουλίνη glargine είναι ένα πεπτικό που διασπάται σε αμινοξέα στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα. Σε γυναίκες που θηλάζουν μπορεί να απαιτηθεί ρύθμιση της δόσης ινσουλίνης και της διαίτης. Μελέτες σε ζώα δεν έδειξαν άμεση τοξικότητα στην γέννηση. **Επίδραση στην ικανότητα οδήγησης και χειρισμού μηχανών:** η ικανότητα του ασθενούς να συγκεντρωθεί και να αναδράσει μπορεί να επηρεαστεί εάν απαιτείται η υπογλυκαιμία ή της υπεργλυκαιμίας. **Ανεπιθύμητες ενέργειες:** η υπογλυκαιμία, γενικά ή πιο συχνά ανεπιθύμητη αντίδραση κατά την ινσουλινθεραπεία, μπορεί να εμφανιστεί αν η δόση της ινσουλίνης είναι πολύ υψηλή σε σχέση με τις απαιτήσεις για ινσουλίνη. Οι ακόλουθες ανεπιθύμητες ανεπιθύμητες αντιδράσεις από κλινικές δοκιμές παρατηρούνται παρακάτω σύμφωνα με τον προτεινόμενο ορό MedDRA κατάταξης ανά οργανικό σύστημα. **Υπογλυκαιμία:** πολύ συχνή  $\geq 1/10$ . **Αλλεργικές αντιδράσεις:** σπάνια διαταραχή και εμφάνιση παροξυσμικού - σπάνια  $\geq 1/10.000$  έως  $< 1/1.000$ . **Λευκοκυττάρωση:** όχι συχνή  $\geq 1/1.000$  έως  $< 1/100$ . **Δυσανεμία και μωλιά:** πολύ σπάνια  $< 1/10.000$ . **Παθολογική ηλιθιμότητα:** γενικά, το προφίλ ασφαλείας σε παιδιά και εφήβους (ηλικίας  $\leq 18$  ετών) είναι παρόμοιο με το προφίλ ασφαλείας των ενηλίκων. Οι αναφορές ανεπιθύμητων αντιδράσεων που ελήφθησαν από την παρακολούθηση μετά την κυκλοφορία της ABASAGLAR, περιλαμβάνουν ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε θέση της ένεσης (άλλος στη θέση της ένεσης, αντίδραση στη θέση της ένεσης) και δερματικές αντιδράσεις (εξάνθημα, κνίδωση) σε παιδιά και εφήβους (ηλικίας  $\leq 18$  ετών) έναντι των ενηλίκων. Δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία από κλινικές μελέτες ως προς την ασφαλή σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 2 ετών. **Ελλάδα:** Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων. Μεσογίων 284 GR-15562 Χαλκίδας Αθήνα. Τηλ: +30 21 32040390/337. Φαξ: +30 21 06545958. ιστοσελίδα: <http://www.efpi.gr> **Φαρμακοκοινωνικές ιδιότητες:** Φαρμακοθεραπευτική κατηγορία: Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στο διαβήτη. Ινσουλίνες και ενέσιμα ανάλογα μακράς δράσης. Κωδικός ATC: A10AE04. Η ABASAGLAR είναι bio-μοιραίο φαρμακευτικό προϊόν. Λεπτομερή πληροφοριακά στοιχεία είναι διαθέσιμα στο δικτυακό τόπο του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων: <http://www.ema.europa.eu>. **Κατάλογος εκδόχων:** εφέδρα του ψευδογλυκικού, μετακροσέλ, γλυκερόλη, υδροκλωρικό οξύ (για τη ρύθμιση του pH), υδροξείδιο του νατρίου (για τη ρύθμιση του pH), ύδαρ για ενέσιμα. **Αυθεντικότητα:** αυτό το φαρμακευτικό προϊόν δεν πρέπει να αναμιγνύεται με άλλα φαρμακευτικά προϊόντα. Διάρκεια ζωής 2 χρόνια. **Διάρκεια ζωής μετά την πρώτη χρήση:** το φαρμακευτικό προϊόν μπορεί να φυλάσσεται το μέγιστο 28 ημέρες σε θερμοκρασία έως και 30 °C και μακριά από την απευθείας έκθεση στη ζέση ή την απευθείας έκθεση στο φως. Η νέια που χρησιμοποιείται δεν πρέπει να φυλάσσεται σε ψυγείο. Το προστατευτικό κάπυ της νέιας πρέπει να τοποθετείται στην νέια μετά από κάθε ένεση για να προστατεύεται από το φως. **Ιδιαίτερες προφυλάξεις κατά τη φύλαξη του προϊόντος:** πριν από τη χρήση φυλάσσετε σε ψυγείο (2 °C - 8 °C). Μην καταψύξετε. Φυλάσσετε την προγεμισμένη πένα στο εξωτερικό καύσι για να προστατεύεται από το φως. **ΜΟΡΦΟΤΥΠΩΣΗ:** ABASAGLAR INJ.SOL.100U/ml.2 BTLX5 PF.FEN KWIKPEN x 3ML. X.T.: 71.93E. N.T.: 62.58E. A.T.: 91.50E. **ΚΑΤΑΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΕΛΤΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΕΙΑΣ:** Lilly Regional Operations GmbH, Kolblassgasse 8-10, 10330, Vienna, Austria. **ΑΡΙΘΜΟΣ(ΟΙ) ΔΕΛΤΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΕΙΑΣ:** EU/1/14/4/008 ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΝΑΒΕΒΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΚΕΙΜΕΝΟΥ Μαρτίος 2015. **ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΒΕΒΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ:** φαρμακευτικό προϊόν για το οποίο απαιτείται ιατρική συνταγή. ΕΠΙΧΡΗΣΗ/ΧΡΗΣΗ ΑΠΟ ΤΑ ΤΑΜΕΙΑ: 100% για ασθενείς με ΣΔ1 και 90% για ασθενείς με ΣΔ2.

# Dietary Supplements: Beneficial to Human Health or Just Peace of Mind? A Critical Review on the Issue of Benefit/ Risk of Dietary Supplements

Athanasios Valavanidis

Department of Chemistry, University of Athens, University Campus Zografou, 15784 Athens, Greece

## Summary

Dietary supplement can be defined as any vitamin, mineral, added chemical substances, botanical or herbal products that is added to the diet to improve human health. Scientists and health professionals agree that dietary supplements can be under certain conditions beneficial to human health, but should not replace complete and balanced daily meals of foods which are necessary for a healthful diet. The most authoritative national agency U.S. Food and Drug Administration (FDA) emphasized that “...unlike drugs, dietary supplements are not intended to treat, diagnose, prevent, or cure diseases. Dietary supplements should not make claims, such as “reduces pain” or “treats heart disease”, etc...”. Globally, dietary supplement market stood at over US\$90 billion in 2013, and on top is the US market with over 30 billion every year. For many years informed medical sources like doctors, nurses, pharmacists, nutritionists and medical authorities agree that there’s a lot of wrong information in the supplements market. Many dietary supplements, even in the USA that has some of the most experienced health agencies, managed to escape the safety tests, labeling and health regulations. From 2007, some of the most well known scientists in the USA on nutrition, metabolism and epidemiology reviewed the evidence on multivitamin/mineral supplements and concluded

that there was not sufficient evidence to recommend for or against for the prevention of chronic disease. Randomized Control Trials of dietary supplements increased substantially in the last decade in many developed countries. The results are mixed but the majority is negative for health benefits or for preventing diseases. In 2013 three papers and an overall review of the results for the last decade with the title “*Enough is enough. Stop wasting money on vitamin and mineral supplements*” was published in the prestigious medical journal *Annals of Internal Medicine* in the USA. The influence of these research results was spread to other developed countries and more critical appraisals were published on dietary supplements. This review covers the most important aspects of dietary supplements, the trends in global market, the national and international regulations of various products. Also, examines the debate and arguments of health professionals. The review examines in a systematic way the most important studies that were published in the scientific literature in the last few years on the most widespread dietary supplements and their results on benefits or risk to human health. It covers dietary supplements taken by young, elderly, pregnant women, athletes and people with deficiencies which were self-prescribed and on the international market.

**KEY WORDS:** Dietary Supplements, Balancer Diet, Vitamins, Minerals, Randomized Control Trials, Health Benefit, Risk, Global Dietary Supplements Market

\*Author for correspondence: Prof. Athanasios Valavanidis, E-mail: valavanidis@chem.uoa.gr

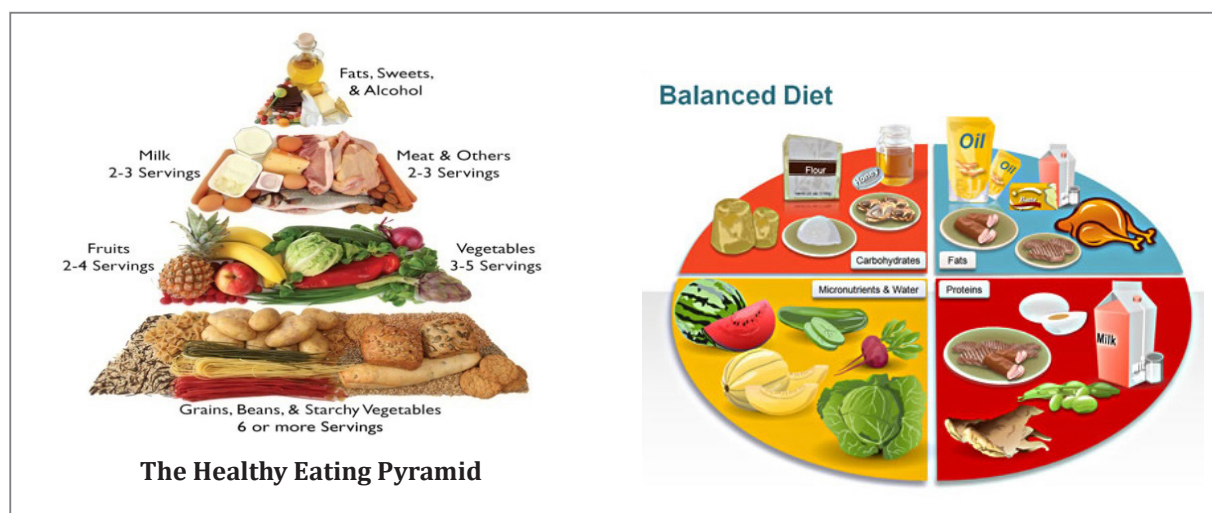
## 1. Introduction: balanced diet and dietary supplements

Dietary supplement can be defined as any vitamin, mineral, added chemical substance, herbal product, botanicals, amino acids, or other ingestible preparation that is added to the diet to benefit human health. Dietary supplements are used worldwide and represent a broad category of ingestible products that are distinguishable from conventional foods and drugs.<sup>1-5</sup>

All developed countries have special legislation concerning dietary supplement (for example, U.S. Dietary Supplement Health and Education Act, 1994). In countries, such as Australia and Canada, dietary supplements and drugs are regulated similarly, and only ingredients deemed acceptable by the Therapeutic Goods Administration of Australia or the Natural Health Products Directorate of Canada can be sold as dietary supplements. In the European Union (EU), dietary supplement regulations (Directive 2002/46/EC) often follow a case - by - case basis, depending upon the individual country and the available safety evidence for the ingredient. In China, India and Japan, where plants, herbs, botanicals and animal extracts have a long history of use as traditional medicine, regulations are different but relatively stringent in terms of safety and side effects

to humans.<sup>6-11</sup> Japan has no legal definition of dietary supplements, mostly are classified into food products or drugs. The Ministry of Health and Welfare set up the Food for Specified Health Uses (FOSHU) to provide people with accurate health information about dietary supplements and the current Japanese system for regulation of health foods is called Food with Health Claims and is made up of two categories: “Food with Nutrient Function Claims” and “Food for Specified Health Uses”.<sup>12</sup>

A fundamental question, that everybody asks these days where most people are very aware that nutrition plays a very important role in health, is, if conventional, balanced and without supplements diet can cover all the needs of the human body for a healthy lifestyle until old age. Nutritionists and health professionals argued for years that people can get the most important food requirements that their body needs each day from a conventional, balanced and regular daily diet. Today's dietary guidelines from health and nutrition agencies cover more than 40 nutrients that are subdivided into 6 categories: carbohydrates, fats, proteins, vitamins, minerals and water. Daily nutrient recommendations are collectively known as dietary reference intakes (DRIs). A healthy diet is one that favors “real” fresh whole foods that have been sustaining people throughout the millenniums. Whole foods supply the needed vi-



**Figure 1.** Conventional, balanced and healthy eating can cover all needs of the human body in terms of energy, basic nutrients (carbohydrates, proteins, fatty acids, water) and micronutrients (vitamins, minerals, antioxidants, etc)



tamins, minerals, protein, carbohydrates, fats, and fiber that are essential to good health. In contrast, commercially prepared and fast foods are often lacking nutrients and contain inordinate amounts of sugar, salt, saturated and trans - fats, all of which are associated with the development of diseases. A balanced diet is a mix of food from the different food groups (vegetables, legumes, fruits, grains, protein foods, meat, and dairy). Variety involves eating different foods from all the food groups that helps to ensure that you receive all the nutrients necessary for a healthy diet (Figure 1). The components of the Mediterranean diet have been evaluated as substantially beneficial to human health.<sup>13 - 15</sup>

The World Health Organization (WHO) makes the following recommendations for a balanced and healthy diet: a. eat roughly the same amount of calories that your body is using, b. a healthy weight is a balance between energy consumed and energy that is 'burnt off', c. limit intake of fats, and prefer unsaturated, than saturated fats and trans fats, d. increase consumption of plant foods, particularly fruits, vegetables, legumes, whole grains and nuts, e. limit the intake of sugar, salt/sodium consumption from all sources and ensure that salt is iodized, f. eat a diet with essential micronutrients such as vitamins and certain minerals.<sup>16,17</sup>

## 2. Dietary supplements: short historical overview

From the beginning of human civilization diet was mostly plant foods that could be easily gathered and seafoods. Hunter - gatherers later contributed meat products by big game. This was the diet of most humans until about 10,000 BC, at which time the development of agriculture and animal husbandry provided more meat and grains for the whole family. Nobody knew about vitamins, minerals, proteins, carbohydrates and fats and their role in human nutrition. The various people in the continents of the Earth developed nutritious local cuisines with mostly local products that sustained their health, whereas by trial and error choose a variety of foods and cooking methods that lead to physical strength, health, and fertility. The common wisdom of native cultures knew which foods and herbs had special properties

for energy, nutrition and extra health benefits for children, pregnant women and elders. Everyday diets were "supplemented" to make up for deficiencies as far back as native cultures. Native Americans, for example, knew to drink a tea made from pine bark and needles for scurvy containing high concentration of ascorbic acid, which was later found by science to be a vitamin C deficiency disease. In 1749, Dr. James Lind discovered citrus fruits prevented scurvy (high in vitamin C content).<sup>18 - 20</sup>

The discovery of the role of vitamins was a major scientific achievement in the understanding on the association of nutrition, health and disease. By the 1920s and 1930s, significant strides were being made in the world of vitamin research and mass marketing (synthesized vitamin C in 1935 and marketed as vitamin C supplement under the name Redoxon). In the nearly 75 years since the vitamin C pill was marketed, large steps have been made in the vitamin and other dietary supplement products. Increased public interest was stimulated as a result of claims (proved to be false later) made in the USA by Nobel - laureate Linus Pauling (1901 - 1994) in the 1970s, that "megadoses" of at least 10 times the RDA (Recommended Dietary Allowances) of ascorbic acid could prevent or cure the common cold, flu, and cancer.<sup>21</sup> In 1976, Pauling and Dr. E. Cameron contacted experiments and reported that a majority of 100 "terminal" cancer patients treated with 10,000 mg of vitamin C daily survived three to four times longer than similar patients who did not receive vitamin C supplements. Nevertheless, to test whether Pauling might be correct, the Mayo Clinic conducted three double - blind studies involving a total of 367 patients with advanced cancer. The studies, reported in 1979, 1983, and 1985, found that patients given 10,000 mg of vitamin C daily did not perform better than those given a placebo.<sup>22 - 25</sup> In fact, recent laboratory studies have found that vitamin C may interfere with the effectiveness of five anti - cancer drugs.<sup>26</sup>

Although health claims for a variety of vitamin supplements proved to be controversial, popular books, consumer and sport magazines, popular newspapers and TV advertisements in developed countries advertise spurious claims for various botanical herbs, and constituents of food for health benefits

and “magical” cures for a variety of diseases. The majority of these claims are not supported by scientific studies. The mainstream scientific community gradually became intrigued by the potential health benefits of dietary supplements and numerous research projects (epidemiologic, clinical, *in vivo* and *in vitro*) were initiated in the 1980s. This interest was fueled in part by studies demonstrating that nutrient antioxidants, (vitamins C and A, E and b - carotene, Selenium), have a role in protecting cells from oxidative free radical damage. Furthermore, epidemiological studies suggested that a diet rich in fruits and vegetables and abundant in antioxidants, nutrients, and other substances, reduced the risk of coronary heart disease and certain cancers. These initial promising results were not materialized by the more accurate and larger randomized controlled trials taking into account confounding factors.<sup>27 - 30</sup>

By the mid 1990s, “antioxidant” became a household word and antioxidant - fortified dietary supplements and a large range of special foods and plants appeared on the market with incredibly superficial health benefits. According to the estimates of the Nutrition Business Journal report, the global nutrition and supplements market stood at US\$96 billion in 2012. A year later, it was approximately US\$104 billion globally. U.S.A market of dietary supplements was estimated in 2015 at US\$27.2 billion. In the Natural Medicines Comprehensive Database (USA) there are more than 54,000 dietary supplement products, out of which only about 1/3 have some level of safety and effectiveness that is supported by scientific evidence. Consumer Reports magazine). Reuters 3/8/2010 [http://www.reuters.com/article/us - usa - supplements - idUSTRE6721F520100803

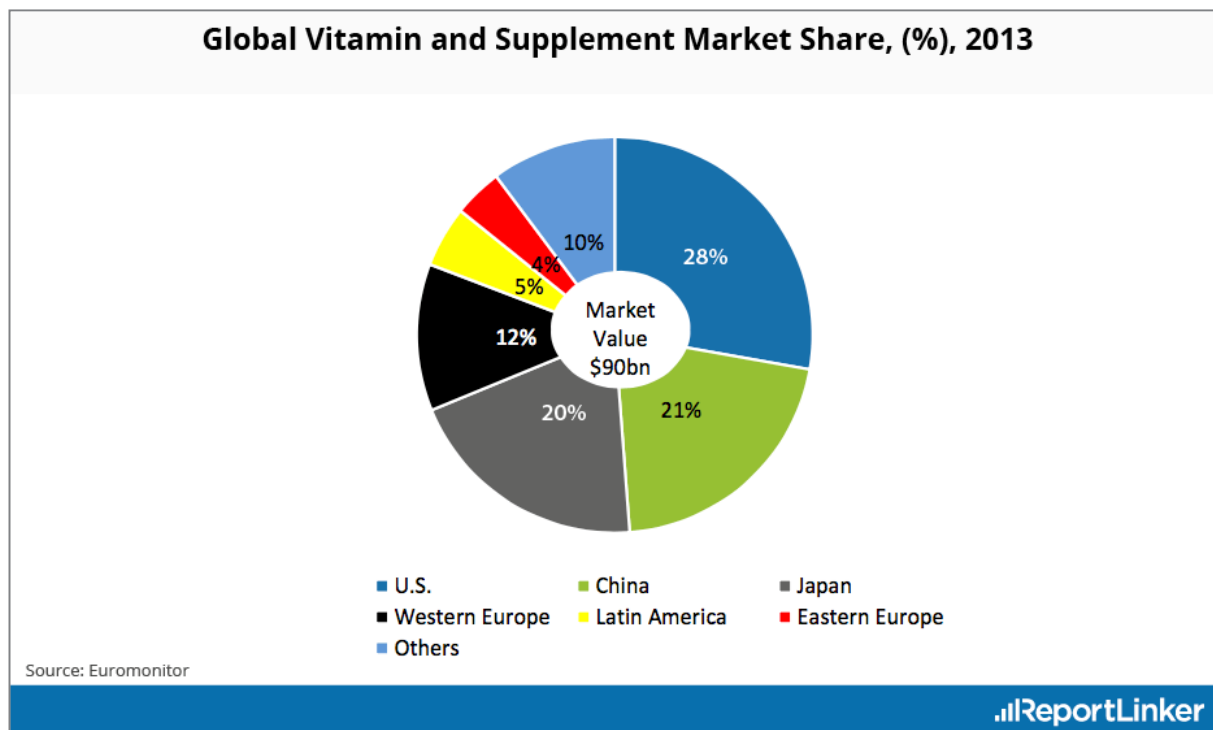
China is also another important consumer in the market. With rising disposable incomes and increasing health awareness among the Chinese people, vitamins and dietary supplements are deemed a convenient choice for consumers looking to improve their health and wellbeing. In 2016 Chinese regulators released draft regulations governing nutritional supplements, a modest step toward modernizing the health food industry in one of the world’s largest economies. A proposal from China’s Food and Drug Administration (CFDA) would create a notification

or recording system for the introduction of nutritional supplements, according to the U.S. - China Health Products Association (USCHPA), 2015 [http://www.naturalproductsinsider.com/Articles/2015/01/China - Adopts - Proposed - Notification - System - for - Nut.aspx ].

Another trend in the last decades, which is characteristic of American consumers and people from Western developed countries (Canada, W. Europe, Australia), is that increasingly large numbers of middle class people became disenchanted with rising health care costs and the perceived impersonal nature of conventional “Western” medicine. In many countries there is a dramatic rise in the popularity of various complementary and alternative practices, including Chinese herbal medicine, Ayurvedic medicine (an Indian holistic medical system incorporating foods and herbs), acupuncture, and homeopathy. During the last decade the U.S. FDA and the EU attempted to increase regulation of herbal products and other botanicals and dietary supplements, as well as health labeling and list of contents, creating a platform of basic information among consumers and forcing dietary supplements manufacturers to follow hygiene practices and safety regulations. In the USA, the Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA) of 1994 classifies herbs as dietary supplements. In the EU countries the European Traditional Herbal Medicinal Products Directive (2004/24/EC) has provided a simplified registration scheme for traditional herbal medicinal products suitable for self - medication.<sup>31 - 36</sup>

### 3. Dietary supplements global marketing with strong growth

Globally, the nutrition and supplements market stood at over US\$90 billion and in 2013 it was estimated at approximately US\$104 billion. In **Figure 2** the countries with the highest consumption rates are presented. The U.S.A market of dietary supplements was estimated in 2015 at US\$27.2 billion. Growth is expected to remain strong through the next years with expected increase between 5 - 6% per year. For comparison global sales of pharmaceuticals have reached a milestone of \$1 trillion in 2014 – and fore-



**Figure 2.** Global sales of dietary supplements are over US\$ 90 - billion (source Euromonitor). The countries with the highest consumption rates are: USA 28%, China 21%, Japan, 20%, W. Europe 12%. ReportLinker [<http://www.reportlinker.com/ci02037/Vitamin-and-Supplement.html>]. The market is full of advertisements of nutritional supplements with excessive and controversial health claims

casts continued growth with the expectation of sales reaching \$1.3 trillion by 2018.<sup>37-39</sup>

Research analysis of various sections markets with large nutrition and dietary supplements industry show interesting sale numbers and growth projections. The global sports supplements market in 2013 was worth US\$6.8 billion and growth 9%. These supplements include: whey, casein, egg white and soy proteins, amino acids, performance enhancers creatine, beta - alanine, D - ribose, Nitric oxide, testosterone, zinc and magnesium aspartate, green tea extracts for fat burning, raspberry ketones, caffeine, etc). The global fatty acids supplements (linoleic acid, eicosapentanoic, docosahexanoic, fish oil omega - 3 fatty acids, flax seed oil, evening primrose oil, etc) market was estimated with value of US\$1.9 billion in 2013 and is expected to reach in 2020 value of 4.7 billion.<sup>38,39</sup>

The global mineral supplements market is increasing due to a growing geriatric population, increasing

demand from pregnant women, and rising urban population. With the increasing population of baby boomers, spending on mineral supplements is anticipated to increase. The mineral supplements market are: macrominerals, calcium, phosphorous, zinc, alkaline pH booster, sodium, potassium, chlorine, sulfur, magnesium, and trace minerals: iron, boron, manganese, chromium, copper, iodine, cobalt, fluoride, selenium, colloidal silver. The global mineral supplements market was valued at \$9.9 million in 2014 and was expected to grow at 7.5% during the period 2015 - 2020.<sup>40</sup>

Vitamin and polyvitamin supplements are very popular and their use as supplements, supported by increasing promotion adverts in growing every year. The global vitamin supplements market, estimated to be valued at US\$37 billion in 2014, and is expected to grow at 6.5% during 2014 to 2020. This is mainly attributed to growing demand among con-



sumer about preventative healthcare. Research on the vitamin supplement demand showed that is due to the increasing cost of healthcare, with people are turning towards vitamin supplements. Vitamin supplements included Vitamin C, E, B, A, beta - carotene, K, niacin, folic acid etc).<sup>41</sup>

The growing popularity and widespread use of internet has made finding health information and dietary supplements easier and faster. Although much of the information on the internet is valuable, at the same time it allows false and misleading information and advertisements with excessive therapeutics claims. Consumers may be misled by vendors' claims that herbal products can treat, prevent, diagnose, or cure specific diseases, despite regulations prohibiting such statements. Physicians should be aware of this widespread and easily accessible information. More effective regulation is required to put this class of therapeutics on the same evidence - based footing as other medicinal products.<sup>42,43</sup> According to recent FDA testimony, dietary supplements, including vitamins, were consumed by 158 million Americans in the year 2000, that is more than 50% the US population. Surveys showed that alternative medical therapies and herbal supplements were used by over 80 million people in the USA.<sup>44,45</sup>

#### **4. Concern among health professionals for the excessive use of dietary supplements**

In the last decade national medical authorities, health professionals and nutritionists in developed countries became aware of the widespread and rapid increase of dietary supplements (DS) and excessive consumption by a wide range of the population. The global market is flooded with a variety of dietary supplements that have false therapeutic claims (difficult to test experimentally) and products which can be imported and distributed through the internet advertisements. Like drugs, dietary supplements have risks and side effects. But sellers aren't required to do research studies in people to prove that a dietary supplements are safe. And unlike drugs, DS are mostly self - prescribed with no input from informed medical sources like doctors, nurses, or pharmacists. Medical authorities agree that there's a lot of wrong information in the supplements market. Even for those who are usually well informed,

it can be hard to find reliable information about the safe use and potential risks of DS.<sup>46-48</sup>

The most commonly reported reasons for using supplements were to "improve" or "maintain" overall health. Women used calcium products for "bone health" or for improving healthy skin appearance, whereas men were more likely to report supplement use for "heart health or to "lower cholesterol". Young people use supplements to enhance body function in sports. Older adults report motivations related to heart, bone and joint, and eye health. The consumption of DS is excessive in the USA with most Americans taking multivitamins. The primary reasons given for supplement use are for overall health and wellness or to fill nutrient gaps.<sup>49,50</sup>

The concern of health professionals is that very little is known about the efficacy of DS for disease prevention and health needs. American scientists emphasize that randomized clinical trials are difficult because they tend to be short in duration, whereas many of the chronic diseases of public health concern have a long latency period (i.e., allergies, cancer, cardiovascular disease). Also, more investigations on the complex interplay of social, psychological, and economic determinants that motivate supplement choices are needed. At the same time the US FDA tracks reports of illness, injury, or reactions from dietary supplements. Recent FDA information of adverse or side effects shows that the number of reports has continued to climb each calendar year: 2010: 1,009 reports of DS for adverse health events to consumers, 2011: 2,047 reports and 2012: 2,844 reports. Exposures to supplements accounted for more than 100,000 calls to US poison control centers in 2013. Of these calls, more than 8,000 people were reportedly treated in health care facilities and 2 deaths reported to poison control centers.<sup>51</sup> Emergency health departments in the USA between 2004 - 2013 received 23.000 emergency visits per year attributed to adverse health events related to DS consumption, with 2,154 cases needing hospitalization.<sup>52</sup> Also, from 2012 to 2014 the FDA received 114 reports of adverse events (hepatitis outbreak, liver damage) involving consumers who ingested OxyELITEPro (promotes weight loss) supplements.<sup>53</sup>

From 2007, some of the most well known scientists in the USA on nutrition, metabolism and epidemiology (professors Stampfer, Willett, Harvard, School of Public Health, and Bruce Ames and Joyce McCann, Nutrition and Metabolism Center, Children's Hospital Oakland Research Center) following a National Institutes of Health, reviewed the evidence on multivitamin/mineral (MVM) supplements and concluded that there was not sufficient evidence to recommend for or against for the prevention of chronic disease. Their bottom line was: "..... everyone would agree that all persons should be encouraged to eat a good diet, but we are far from achieving this goal, especially among the poor. In most cases, a simple way to improve micronutrient status is to take an MVM. However, even if one eats an ideal diet and takes an MVM, some vitamins can remain below recommended concentrations in some groups...". "...The panel excluded this highly relevant body of evidence from consideration, and it came to the conclusion, "...The present evidence is insufficient to recommend either for or against the use of MVMs by the American public to prevent chronic disease". We contend that, by conveying the impression that long - term Randomized Controlled Trials (RCTs), which are inherently limited, represent the only scientific evidence relevant to "evidence - based decision making," the panel presents a highly biased and misleading picture...<sup>54</sup>

Many dietary supplements, even in the USA that has some of the most experienced health agencies, managed to escape the safety tests, labeling and regulations. The American agencies every year find toxic DS products in the US market that were finally recalled because they were found to contain banned toxic substances. Between 2009 and 2012, the FDA recalled 274 dietary supplements. The analysis of these DS were performed by GC - MS and found to contain toxic substances or additional pharmaceutical adulterants which were banned.<sup>55,56</sup>

### 5. Scientific papers on the role of vitamin and mineral supplements in 2013

In the last decade the Randomized Control Trials (RCTs) of dietary supplements increased substantially in many developed countries. The results are mixed

but the majority are negative in for DS promoting health or preventing diseases. In 2013 three papers and an overall review of the results for the last decade on DS with the title "*Enough is enough. Stop wasting money on vitamin and mineral supplements*" were published in the prestigious and influential medical journal *Annals of Internal Medicine* in the USA.

In the first paper scientists reviewed in a systematic way all trial evidence (carried by the U.S. Preventive Services Task Force) for the recommendation on the efficacy of vitamin supplements for primary prevention for adults with no nutritional deficiencies. The review contained 3 trials of multivitamin supplements and 24 trials of single or paired vitamins that randomly assigned to more than 400,000 participants, the authors concluded that there was no clear evidence of a beneficial effect of supplements on all - cause mortality, cardiovascular disease, or cancer.<sup>57</sup>

In the second paper, researchers evaluated the efficacy of a daily multivitamin to prevent cognitive decline among 5,947 men aged 65 years or older participating in the Physicians' Health Study II. After 12 years of follow - up, there were no differences between the multivitamin and placebo groups in overall cognitive performance or verbal memory.<sup>58</sup> These findings were compatible with a recent review of 12 fair - to good - quality trials that evaluated dietary supplements, including multivitamins, B vitamins, vitamins E and C, and omega - 3 fatty acids, in persons with mild cognitive impairment or mild to moderate dementia. None of the supplements improved cognitive function.<sup>59</sup>

In the third paper, Lamas and associates<sup>60</sup>, assessed the potential benefits of a high - dose, 28 - component multivitamin supplement in 1,708 men and women with a previous myocardial infarction participating in TACT (Trial to Assess Chelation Therapy). After a median follow - up of 4.6 years, there was no significant difference in recurrent cardiovascular events with multivitamins compared with placebo (hazard ratio, 0.89).<sup>60</sup>

The supporting editorial in the same journal,<sup>61</sup> added some previous highly relevant research papers, reviews and guidelines that have appraised the role of vitamin and mineral supplements in primary or secondary prevention of chronic disease but have

consistently found null results or possible harms.<sup>62,63</sup> Evidence involving tens of thousands of people randomly assigned in many clinical trials shows that β - carotene, vitamin E, and possibly high doses of vitamin A supplements increase mortality and that other antioxidants, folic acid and B vitamins, and multivitamin supplements have no clear health benefit.<sup>62,64</sup>

<sup>66</sup> Despite sobering evidence of no benefit or possible harm, use of multivitamin supplements increased among U.S. adults in the last decade (reaching over 30 billion in 2013). Similar trends have been observed in the United Kingdom and in other European countries.<sup>67</sup> The editorial concludes “...the message is simple conclude the scientists: Most supplements do not prevent chronic disease or death, their use is not justified, and they should be avoided...”

## 6. Arguments in support of dietary supplements and health benefits

After the publication of the scientific papers in *Annals of Internal Medicine* and the editorial “*Enough Is enough: Stop wasting money on vitamin and mineral supplements*” (2013) scientists of Oregon State University, Linus Pauling Institute (December 2013), an institute specializing on nutrition benefits of DS, carried a supporting note in their website for the balanced diet and prudent use of DS to fill the gap of useful micronutrients, vitamins and minerals for humans. Under the title “The case is far from closed for vitamins and mineral supplements”.<sup>68</sup>

“... While a well - balanced diet is the best way to get all of one’s essential nutrients, the reality is that Americans don’t get enough of them through diet alone. From the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) we know that the large majority of the US population is not “well - nourished” and falls short of getting all of their vitamins and minerals from their diet in levels recommended..” . “... Studies have shown that people who take multivitamin/mineral (MVM) supplement with the recommended doses of the most vitamins and minerals can fill most of these nutritional gaps safely and at very low cost.<sup>69,70,71</sup> Contrary to the impression that the authors (of the paper “enough is enough...”) give in their editorial, the US population is inadequate in

many vitamins and minerals, a result of the energy dense and nutrient - poor dietary pattern of Western populations, rather than over - consuming MVM and other DS. The known biological functions of vitamins and nutritionally - essential minerals are to maintain normal cell function, metabolism, growth and development, through their roles as essential cofactors in hundred of enzyme reactions and other biological processes - not to prevent or treat chronic disease. Nevertheless, the largest and longest randomized controlled trial (RCT) of MVM supplements conducted to date, the Physicians’ Health Study II (PHS II), found a significant 8% reduction in total and epithelial cell cancer incidence in male physicians, and a 12% reduction in total cancer incidence excluding prostate cancer. The PHS II also found a significant 9% reduction in the incidence of total cataract. The findings are consistent with those of several other RCTs, and are even more impressive given the fact that the conventional RCT design is strongly biased against showing benefits of essential nutrients, in contrast to pharmaceutical drugs.<sup>72 - 77</sup>

Finally, the scientists of Linus Pauling Institute concluded “... Therefore, taking a daily MVM supplement will not only help fill the known nutritional gaps in the average American diet, thereby assuming normal biological function and metabolism and supporting good health, but may also have the added benefit of reducing cancer and cataract risk - which no existing pharmaceutical drug can do. To call “the case...closed” and label MVM supplements as useless, harmful or wasteful is highly premature and unscientific, and does not serve public health”.

In the last few years numerous books and collections of scientific results were published or projected on websites of health agencies on dietary supplements, safety, cost, efficacy and health benefits vs risks.<sup>78 - 80</sup>

## 7. Recent scientific studies on vitamin and multivitamin supplements

Vitamin and multivitamin supplements in combination with calcium and antioxidants are the most widespread dietary supplements used by elderly people, pregnant women and people with disabili-



ties for improving health, perinatal depression, improvement for neurologic and cognitive function, osteoporosis and progression of cancer. However, clinical trials on the use of vitamin supplements for promotion of health and prevention of disease have failed to demonstrate the strong associations seen in observational studies.

In Western countries (US and W. Europe) it is fairly common the consumption of multivitamins among the elderly to prevent disease and improve health. In the US half of adults report using one or more DS. Although epidemiologic evidence suggests that a diet rich in fruits and vegetables does have a protective effect on health, clinical trials on the use of vitamin supplements have failed to demonstrate their health or protective benefits.<sup>81</sup>

Other scientific data summarized in a recent review (29 clinical trials involving 24,300 women) do not support that routine vitamin C supplementation alone or in combination with other supplements for the prevention of fetal or neonatal death, poor fetal growth, preterm birth or pre - eclampsia. Additionally, further research is required to elucidate the possible role of vitamin C in the prevention of placental abruption and prelabour rupture of membranes.<sup>82</sup>

A recent review examined 35 studies on diet, essential nutrients, and DS and their role in perinatal depression. The studies were grouped into four main categories based on the analysis of dietary intake: adherence to dietary patterns (9 studies); full panel of essential nutrients (6 studies); specific nutrients (including B vitamins, Vitamin D, calcium and zinc; 8 studies); and intake of fish PUFAs (12 studies). While 13 studies found no evidence of an association, 22 studies showed protective effects from healthy dietary patterns, multivitamin supplementation, fish and PUFA intake, calcium, Vitamin D, zinc and possibly selenium. Given the methodological limitations of existing studies and inconsistencies in findings across studies, the evidence on whether nutritional factors influence the risk of perinatal depression is still inconclusive.<sup>83</sup>

Another randomized controlled trial (RCT) investigated the B - 12 supplementation benefits on neurologic and cognitive function in moderately vitamin B - 12 - deficient people. Results of the RCT study

did not support the hypothesis that the correction of moderate vitamin B - 12 deficiency, in the absence of anemia and of neurologic and cognitive signs or symptoms, has beneficial effects on neurologic or cognitive function in later life.<sup>84</sup> Supplementation of vitamin B (folate, B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub>) has been investigated by a meta - analysis of 4 RCTs, for prevention or reduction in osteoporotic fracture and bone turnover. The results of this analysis failed to identify a risk - reducing effect of daily supplementation of B vitamins on osteoporotic fracture in patients with vascular disease and with relatively normal plasma Hcy (a blood test used to detect levels of homocysteine). In addition, the study did not find any positive effects of B vitamin supplementation on bone turnover.<sup>85</sup>

Older adults in most countries use vitamin supplements (vitamins A, B, C, D and E) on the promise for health improvements and prevention of degenerative diseases (mortality, cancer, cardiovascular and cerebrovascular diseases, cataracts, age - related macular degeneration and bone diseases). The results of the most important studies on vitamins were summarized in a recent review. Data from studies demonstrate considerable variations, most confirming little to no benefit following supplementation in healthy adults. However, clear roles exist for vitamin supplementation in states of deficiency and in subgroups of older adults at high risk for deficiency of specific or multiple vitamins.<sup>86</sup>

The prevention of cancer with vitamin supplements has been investigated extensively. Vitamin D is well known for its beneficial effects on health. A recent study included RCTs that compared vitamin D at any dose, duration, and route of administration versus placebo or no intervention in adults who were healthy or were recruited among the general population, or diagnosed with a specific disease. Vitamin D have been administered as supplemental vitamin D (vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol) or vitamin D<sub>2</sub> (ergocalciferol), or an active form of vitamin D (1 $\alpha$  - hydroxyvitamin D (alfacalcidol), or 1,25 - dihydroxyvitamin D (calcitriol)). Scientists concluded that, " there is currently no firm evidence that vitamin D supplementation decreases or increases cancer occurrence in predominantly elderly community - dwelling women..".<sup>87</sup> Another recent review

examined (from a systematic search of scientific literature) recent RCTs on the assessment of the effect of vitamin D supplementation on the prevention of childhood acute respiratory infections. The findings of the review indicated a lack of evidence supporting the routine use of vitamin D supplementation for the prevention of infections in healthy children; however, the findings suggested that such supplementation may benefit children previously diagnosed with asthma.<sup>88</sup>

Prostate cancer is a very important cancer for men and increasing in the last decades due to diet of red meat, processed meat products and dietary fat. Long time ago it has been advocated that vitamin and selenium supplements might play a beneficial role for the prevention of prostate cancer. A recent review collected data from a PubMed search from 1990 to 2013. Results showed that dietary supplementation did not have any beneficial effects for the prevention of prostate cancer and indeed higher doses may be associated with a worse prognosis. There is no specific evidence regarding benefits of probiotics or prebiotics in prostate cancer.<sup>89</sup>

Vitamin E supplementation and other vitamins have been advocated for positive benefits in pregnancy. A review collected 21 RCTs, involving 22,129 women, which assessed vitamin E in combination with vitamin C and/or other antioxidant agents. The data from these studies did not support routine vitamin E supplementation in combination with other supplements for the prevention of stillbirth, neonatal death, preterm birth, pre - eclampsia, preterm or term PROM or poor fetal growth.<sup>90</sup>

## **8. Calcium, vitamin D, cardiovascular risk, osteoporosis, bone fractures, etc**

Calcium (Ca) is an essential element in the human diet, but there is continuing controversy regarding its optimal intake, and its role in the pathogenesis of cardiovascular diseases, osteoporosis and bone fractures. Most studies show little evidence of a relationship between calcium intake and bone density, or the rate of bone loss. Very few food contain vitamin D. Synthesis of vitamin D occurs in the skin, after exposure to sun light (especially UV - B ra-

diation), is the major natural source in humans.<sup>91</sup> Vitamin D refers to a group of fat - soluble secosteroid compounds responsible for enhancing intestinal absorption of calcium, iron, magnesium, phosphate, and zinc. In humans, the most important compounds in this group are vitamin D<sub>3</sub> (also known as cholecalciferol) and vitamin D<sub>2</sub> (ergocalciferol). A diet deficient in vitamin D in conjunction with inadequate sun exposure causes osteomalacia (or rickets in children). Dietary supplements containing Ca and vitamin D are widespread but there is a controversy regarding their optimal intake and their role in osteoporosis.<sup>92</sup>

Studies demonstrated no relationship between dietary Ca intake and rate of bone loss over 5 years in healthy older women. A recent review analysed data from 5 recent large studies that have failed to demonstrate fracture prevention in their primary analyses. It was concluded that Ca supplements appear to have a negative risk - benefit effect, and so should not be used routinely in the prevention or treatment of osteoporosis.<sup>93</sup> On the other hand, if there are deficiencies in Ca and vitamin D in older adults health professionals recommend as a cost - effective the daily supplementation with vitamin D to prevent or decrease the rate of osteoporotic fractures. A recent study concluded that the recommendation to use dairy products as the preferred source of calcium and vitamin D in aging males and females is supported by public health and health economic analyses.<sup>94</sup>

A scientific meta - analysis investigated data from 9 trials in order to provide a quantitative assessment of the efficiency of intermittent, high dose vitamin D treatment on falls, fractures, and mortality among older adults. The high dose, intermittent vitamin D therapy did not decrease all - cause mortality among older adults. No benefit was seen in fracture or fall prevention. The risk ratio for hip fractures was 1.17 (95% Confidence Interval), while for non - vertebral fractures it was 1.06 and the risk ratio for falls was 1.02. All these results showed very small beneficial effects. Scientists concluded that supplementation of intermittent, high dose vitamin D may not be effective in preventing overall mortality, fractures, or falls among older adults.<sup>95</sup>

The Women's Health Initiative for Calcium and vitamin D supplementation Study, was a 7 year, randomized, placebo controlled trial of calcium and vitamin D (1g calcium and 400 IU vitamin D daily) in 36,282 community dwelling postmenopausal women. The study followed the Incidence of four cardiovascular events and their combinations (myocardial infarction, coronary revascularisation, death from coronary heart disease, and stroke) assessed with patient - level data and trial - level data. In meta - analyses of placebo controlled trials of Ca or Ca and vitamin D data were available for 28,072 participants from 8 trials. In total 1,384 individuals had an incident myocardial infarction or stroke. Ca or combination of Ca and vitamin D increased the risk of myocardial infarction (relative risk 1.24) and the composite of myocardial infarction or stroke (1.15). Scientists concluded that Ca supplements with or without vitamin D modestly increase the risk of cardiovascular events, especially myocardial infarction.<sup>96</sup>

### 9. Balanced diet and dietary supplements of omega - 3 fatty acids

Omega - 3 and omega - 6 fatty acids ( $\omega$  - 3 & - 6 FAs) are polyunsaturated fatty acids (PUFAs) considered to be important in human physiology. The most widely available dietary source of omega - 3 FAs is oily fish, such as salmon, herring, mackerel, anchovies, menhaden, and sardines. Omega FAs have significant influence on the ratio and rate of production of eicosanoids, a group of hormones intimately involved in the body's inflammatory and homeostatic processes, which include the prostaglandins, leukotrienes, and thromboxanes. A recent trend has been to fortify food with omega - 3 FAs supplements, such as fortified bread, pizza, yogurt, orange juice, children's pasta, milk, eggs, confections, and infant formula to reduce mainly the risk for CVDs.

A review investigated a series of 11 studies for the association of dietary supplements of omega - 3 fatty acid and risk to cardiovascular deaths with a total of 39,044 patients (after myocardial infarction, heart failure, peripheral vascular disease, etc) The average dose of EPA/DHA (fish oil containing Eico-

sa - pentaenoic Acid/ Docosa - hexaenoic Acid) was 1.8 g/day and the mean duration of follow - up was 2.2 years. Dietary supplementation with omega - 3 fatty acids significantly reduced the risk of cardiovascular deaths at 0.87, sudden cardiac death 0.87, all - cause mortality 0.92, and nonfatal cardiovascular events 0.92. The mortality benefit was largely due to the studies which enrolled high risk patients. Meta - regression failed to demonstrate a relationship between the daily dose of omega - 3 fatty acid and clinical outcome. The scientists concluded that dietary supplementation with omega - 3 fatty acids should be considered in the secondary prevention of cardiovascular events.<sup>97</sup>

A systematic review explored more than 15,000 articles in the scientific literature, including 48 randomized control trials (with 36,913 participants) and 41 epidemiological cohort studies that focused on health benefits and risks from diets with additional omega - 3 ( $\omega$  - 3) fatty acids. The health effects were concerned with cardiovascular diseases, general mortality and malignant neoplasms. The pooled estimate showed no strong evidence of reduced risk of total mortality (relative risk 0.87) or combined cardiovascular events (0.95) in participants taking additional omega - 3 fatty acids. Scientists concluded that long chain and shorter chain omega - 3 fatty acids do not have a clear effect on total mortality, combined cardiovascular events, or cancer.<sup>98</sup>

Many studies in the last decade showed that long - chain omega - 3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) or omega - 3 PUFAs are able to modulate inflammation, hyperlipidemia, platelet aggregation, and hypertension, under different mechanisms for conditioning cell membrane function and composition eicosanoid production, and gene expression. A review in 2014 analyzed the influence of omega - 3 PUFAs status and intake on brain function, cardiovascular system, immune function, muscle performance and bone health in older adults. It was found that omega - 3 fatty acids can have benefits in reducing the risk of cognitive decline in older people, but more studies are needed to confirm the role of omega - 3 ( $\omega$  - 3) in maintaining bone health and preventing the loss of muscle mass and function associated with ageing.<sup>99</sup>



Osteoporosis is a global health problem that leads to an increased incidence of fragility fracture. In the last decade there is medical recommendation of higher fish oil diet intakes. Findings from human bone cell culture experiments have revealed both benefits and detriments to bone - related outcomes depending on the quantity and source of PUFAs. Observational and randomized controlled trials (RCTs) have produced enough data to suggest that higher fatty fish intake is strongly linked with reduced risk of fragility fracture. Human studies largely support that a greater intake of total PUFAs, total n - 6 ( $\omega$  - 6 FAs) fatty acid, and total n - 3 ( $\omega$  - 3) fatty acid, contributed for higher bone mineral density and reduced risk of fragility fracture.<sup>100</sup> Also, omega fatty acids in combination with other antioxidants, such as resveratrol, can have a major therapeutic role. A recent review collected some of the key studies involving the health benefits supported by a combination of resveratrol and  $\omega$  - 3 FAs intake. Many studies showed that resveratrol, as a potent antioxidant reduces oxidative stress in endoplasmic reticulum, and proved to have a significantly protective role in most important pathophysiological factors associated with CVD conditions. Numerous research projects demonstrated the reduction of the risk of coronary heart disease, hypertension, and stroke, by a combination of resveratrol and  $\omega$  - 3 fatty acids derived from fish oils.<sup>101</sup>

Many studies support the notion that omega - 3 fatty acids are essential for a balanced human diet, and a certain amount of omega - 3 is needed in human daily diet. Currently, there is increasing evidence of the benefits of omega - 3 by different medical professional bodies with the stronger evidence for cardiovascular disease (CVDs). There is a broad consensus among scientists that fish and seafood are the optimal sources of n - 3 FAs and consumption of approximately 2 - 3 servings per week is recommended for good health. But it has been noted that the scientific evidence of benefits from n - 3 FAs supplementation has diminished over time, probably due to a general increase in seafood consumption in developed countries, better pharmacological intervention and acute treatment of patients with CVD diseases.<sup>102 - 104</sup>

## 10. Dietary zinc, iron and selenium supplementation, health benefits/risks

Zinc (Zn) is essential trace element for normal biological growth, reproduction and immune function. In addition, Zn is vital for the functionality of more than 300 enzymes, for the stabilization of DNA, and for gene expression. Zinc deficiency is estimated to be responsible for 4% of global child morbidity and mortality. The adult human contains 2-3 g of zinc (Zn). Conservative estimates suggest that around 25% of the world's population is at risk of zinc deficiency.<sup>105</sup> Most of the affected are poor, and rarely consume foods rich in highly bioavailable zinc, while subsisting on foods that are rich in inhibitors of zinc absorption and/or contain relatively small amounts of bioavailable zinc. Food choice is a major factor affecting risk of zinc deficiency. A major challenge that has not been resolved for maximum health benefit is the proximity of the recommended dietary allowance (RDA) and the reference dose (RfD) for safe intake of zinc. The current assumed range between safe and unsafe intakes of zinc is relatively narrow.<sup>106</sup>

A recent review included data from 21 randomized controlled trials (RCTs) reported in 54 papers involving over 17,000 women and their babies. The results showed that there was a 14% relative reduction in preterm birth for zinc compared with placebo. These results appeared in primarily in trials involving women of low income and this has some relevance in areas of high perinatal mortality. There was no convincing evidence that Zn supplementation during pregnancy resulted in other useful and important health benefits. According to the scientists these results reflected poor nutrition in impoverished areas and the need for a balanced diet than dietary Zn supplements.<sup>107</sup>

Scientists experimented with Zinc supplementation that may remodel the immune alterations in elderly leading to healthy ageing. Several zinc trials have been carried out with contradictory data, perhaps due to incorrect choice of an effective zinc supplementation in old subjects showing subsequent zinc toxic effects on immunity. Old subjects with specific IL - 6 polymorphism were more prone for zinc supplementation than the entire old population,

in whom correct dietary habits with foods containing zinc (Mediterranean diet) may be sufficient in restoring zinc deficiency and impaired immune response.<sup>108</sup>

It is well known that Zinc and Iron are essential minerals often present in similar food sources. A review analysed the current medical and nutritional literature on Zn and Fe supplementation and its impact on mood or cognition in pre - menopausal women. 10 RCTs and one non - randomized controlled trial were found to meet the inclusion criteria. The results showed that 7 studies found improvements in aspects of mood and cognition after iron supplementation. Iron supplementation appeared to improve memory and intellectual ability in participants aged between 12 and 55 years of age regardless of whether the participant was initially iron insufficient or iron - deficient with anaemia. Also, 3 RCTs provided evidence to suggest a role for Zn supplementation as a treatment for depressive symptoms. Overall, the current scientific literature indicated a positive effect of improving Zn status on enhanced cognitive and emotional functioning. However, further study involving well - designed randomized controlled trials is needed to identify the impact of improving iron and zinc status on mood and cognition.<sup>109</sup>

Many children in developing countries have inadequate zinc nutrition. It has been shown that outline zinc supplementation reduces the risk of respiratory infections and diarrhea, the two leading causes of morbidity and mortality in young children worldwide. In childhood diarrhea oral zinc also reduces illness duration. Oral Zn is therefore recommended for the treatment of acute diarrhea in young children. An updated review showed that the results from the studies that have measured the therapeutic effect of zinc on acute respiratory infections, however, are conflicting. Also, the results of therapeutic Zn for childhood malaria are so far not promising.<sup>110</sup>

Selenium (Se) is another very important trace element (micronutrient) incorporated into selenoproteins that have a wide range of pleiotropic effects, ranging from antioxidant and anti - inflammatory effects to the production of active thyroid hormone. In the past 10 years, the discovery of disease - associated polymorphisms in selenoprotein genes has

drawn attention to the relevance of selenoproteins to health. Low selenium status has been associated with increased risk of mortality, poor immune function, and cognitive decline. Higher selenium status or selenium supplementation has antiviral effects, is essential for successful male and female reproduction, and reduces the risk of autoimmune thyroid disease. Prospective studies have generally shown some benefit of higher selenium status on the risk of prostate, lung, colorectal, and bladder cancers, but findings from trials have been mixed, which probably emphasises the fact that supplementation will confer benefit only if intake of a nutrient is inadequate. Supplementation of people who already have adequate intake with additional selenium might increase their risk of type - 2 diabetes. The crucial factor that needs to be emphasised with regard to the health effects of selenium is the inextricable U - shaped link with status; whereas additional selenium intake may benefit people with low status, those with adequate - to - high status might be affected adversely and should not take selenium supplements.<sup>111</sup>

Selenium supplementation and cancer has been investigated by various epidemiological studies. A recent extensive review analysed data from 55 prospective observational studies (including more than 1,100,000 participants) and 8 RCTs (with a total of 44,743 participants). Although an inverse association between selenium exposure and the risk of some types of cancer was found in some observational studies, this cannot be taken as evidence of a causal relation, and these results should be interpreted with caution. These studies have many limitations, including issues with assessment of exposure to selenium and to its various chemical forms, heterogeneity, confounding and other biases. Conflicting results including inverse, null and direct associations have been reported for some cancer types. RCT studies have yielded inconsistent results, although the most recent studies, characterized by a low risk of bias, found no beneficial effect on cancer risk, more specifically on risk of prostate cancer. Some RCTs suggested harmful effects of selenium exposure. The reviewers concluded that there is no convincing evidence that selenium supplements can prevent cancer in humans.<sup>112</sup>

Iron deficiency anemia in humans is an important public health issue, especially for infants, children, and women with menorrhagia. Oral iron supplements are the cheapest, safest, and most effective treatment. A retrospective study collected for two years 41 patients with iron deficiency anemia who continuously took oral ferric for over one month and then switched to oral ferrous due to poor therapeutic effects. The results showed that the mean blood test values for all patients significantly increased after switching to ferrous iron. This study found that blood test values improved after iron deficiency anemia female patients who displayed poor therapeutic effects with oral ferric switched to ferrous. A literature review in the same study showed that the risk for gastrointestinal problems with ferrous is higher than that with ferric.<sup>113</sup>

Randomised Control Trials or quasi - randomised trials evaluating the effects of oral preventive supplementation with daily iron, iron + folic acid or iron + other vitamins and minerals during pregnancy.

The study concluded that iron supplementation reduces the risk of maternal anaemia and iron deficiency in pregnancy but the positive effect on other maternal and infant outcomes is less clear. Implementation of iron supplementation recommendations may produce heterogeneous results depending on the populations' background risk for low birth-weight and anaemia, as well as the level of adherence to the intervention.<sup>114</sup>

Recent studies showed that intermittent iron supplementation is a promising strategy in reducing iron deficiency and iron deficiency anaemia. Also, a small number of studies investigated the effect of iron interventions on developmental outcomes, such as growth and cognition, and provided mixed results. Some studies reported that iron intervention increased morbidity and caused unfavourable shifts in the gut microbial composition along with increases in intestinal inflammation, particularly in children with a high infectious disease burden. Scientists suggested that there is a need for studies in children from low and middle - income populations to provide evidence for the beneficial effects of iron interventions on functional outcomes (iron deficiency and anaemia), and to explore potential mechanisms

underlying the negative effects of iron reported in recent trials.<sup>115</sup>

## 11. Dietary phytochemicals, herbs, loss of weight supplements

The global market of Dietary Supplements (DS) is full of numerous "natural" therapies with incredulous claims and very little evidence of health benefits. Dietary supplements involving flavonoids, polyphenols, herbal therapies (Ginkgo, ginseng, Echinacea, etc), and for reduction of body weight (chitosan, picolinate, *Ephedra sinica*, *Garcinia cambogia*, etc) are claiming beneficial biological effects without risk of adverse effects.

But the scientific evidence is very different. Numerous studies have shown that although consumption of dietary phytochemicals such as flavonoids has been suggested to have beneficial biological effects including the prevention of cancer and heart disease, there is considerable evidence to suggest that such compounds are not without risk of adverse effects. The risk of adverse effects is likely increased by the use of pharmacological doses in prevention/treatment and supplement situations and genetic polymorphisms or drug - drug interactions that increase the bioavailability of test compounds.<sup>116</sup>

The DS market is full of popular herbal remedies. Scientific studies investigated the efficacy and safety of ginkgo, St. John's wort, ginseng, echinacea, saw palmetto, and kava. The safety assessments were based on systematic reviews of RCTs. Although data supported the efficacy of some of these popular herbal medicinal products, the published evidence suggests that ginkgo is of questionable use for memory loss and tinnitus but has some effect on dementia and intermittent claudication. St. John's wort was efficacious for mild to moderate depression, but serious concerns exist about its interactions with several conventional drugs. Well - conducted clinical trials do not support the efficacy of ginseng to treat any condition. Echinacea may be helpful in the treatment or prevention of upper respiratory tract infections, but trial data are not fully convincing. Saw palmetto has been shown in short - term trials to be efficacious in reducing the symptoms of benign prostatic hyper-



plasia. Kava is an efficacious short - term treatment for anxiety. Studies showed that none of these herbal medicines were free of adverse effects. Because the evidence is incomplete, risk - benefit assessments are not completely reliable, and much knowledge is still lacking.<sup>117</sup>

Numerous supplements are used in the global market for body weight reduction without evidence of effective effects and some of them containing risks. An overall critical review assessed the efficacy by using 5 systematic reviews and meta - analyses and 25 additional trials. Data on the following dietary supplements were identified: chitosan, chromium picolinate, *Ephedra sinica*, *Garcinia cambogia*, glucomannan, guar gum, hydroxy - methylbutyrate, plantago psyllium, pyruvate, yerba maté, and yohimbe. The reviewers identified some encouraging data but no evidence beyond a reasonable doubt that any specific DS was effective for reducing body weight. The only exceptions were for *E. sinica*- and ephedrine - containing supplements, which have been associated with an increased risk of adverse events. Reviewers concluded that the evidence for most DS as aids in reducing body weight was not convincing. None of the reviewed DS can be recommended for over - the - counter use.<sup>118</sup>

A large study involving 124 086 men and women [Health Professionals Follow - up Study (HPFS), Nurses' Health Study (NHS), and Nurses' Health Study II (NHS II)] measured self reported change in weight over multiple four year time intervals between 1986 and 2011. Results showed that Increased consumption of most flavonoid (flavonols, flavan - 3 - ols, anthocyanins, flavonoid polymers) was inversely associated with weight change over four year time intervals, after adjustment for simultaneous changes in other lifestyle factors including other aspects of diet, smoking status, and physical activity. Scientists concluded that intake of food rich in flavonoids may contribute to weight maintenance in adulthood and prevent obesity.<sup>119</sup>

The use of herbal or alternative medicine as therapeutic supplements for neuropathy diseases has garnered rising interest in recent years. The Internet is a ubiquitous source of information/market for these supplements. A study investigated 184

websites, 28% claimed to decrease CKD (chronic kidney diseases) progression, 60% did not advise to consult a doctor before taking the supplement, and >90% did not mention any potential drug interaction, disease interaction, or caution in use during pregnancy or in children. Scientists concluded that nephrologists need to be cognizant of the lack of substantiated proven benefits of these substances (in internet sites) and of the potential adverse effects in the animal models that can translate to the patients. Regulation of these products must change to prevent patient harm and misinformation.<sup>120</sup>

## 12. Dietary supplements and prevention of cancer

Dietary supplements are widely used among patients with cancer who perceive them to have strong anticancer and antioxidant properties. Large - scale, randomized cancer prevention trials have mainly been negative, with some notable adverse and beneficial effects. These trials showed that  $\beta$  - carotene increased the risk of lung and stomach cancer, vitamin E increased prostate cancer and colorectal adenoma, and selenium reduced gastric and lung cancer in populations with low selenium levels but increased rates in those with higher levels. Both  $\beta$  - carotene and vitamin E supplementation increase overall mortality. A recent review examined phase II and III trials that investigated the effects of multivitamins, antioxidants, vitamin D, and n - 3 supplements on outcome and toxicity from cancer treatments. Although vitamin E and  $\beta$  - carotene reduced toxicity from radiotherapy among patients with head and neck cancer, it has been found to increase recurrence, especially among smokers. Antioxidants have mixed effects on chemotherapy toxicity, but there are no data on outcome. Vitamin D deficiency is relatively common among patients with cancer, and ongoing phase III trials are studying the effect of vitamin D on outcome as well as optimum vitamin D and calcium intakes for bone health. Docosahexanoic and eicosapentanoic acid supplements have mixed effects on cachexia and are currently being tested as potential adjuncts to maximize response to chemotherapy. Dietary supplementation tailored

to an individual's background diet, genetics, tumor histology, and treatments may yield benefits in subsets of patients.<sup>121,122</sup>

In the last decade numerous studies investigated the anticancer properties for Resveratrol (antioxidant polyphenol in red wine). Studies in experimental animals showed that resveratrol can protect against angiogenesis, inflammation, and cancer, but dietary sources of resveratrol are not enough to have an impact on health. Pre-clinical findings have provided mounting evidence that resveratrol may confer health benefits and protect against a variety of medical conditions and cancer, but there is no consistent evidence. Most of the studies that have investigated the effect of resveratrol administration on patient outcomes have been limited by their sample sizes for diseases, such as cancer, diabetes, neurodegeneration, CVDs and other age-related ailments. There is an open question as to resveratrol supplementation for therapeutic anticancer benefits, especially for prostate.<sup>123</sup> The relationship between dietary polyphenols and the prevention of prostate cancer has been examined by a great number of clinical trials. Although results are sometimes inconsistent and variable, there is a general agreement that polyphenols hold great promise as chemopreventive agents for the future management of prostate cancer, including resveratrol. Dietary supplements of polyphenols can act as key modulators of signaling pathways and affect post-translational modifications and microRNA expressions.<sup>124</sup>

Dietary supplementation for cancer prevention or for therapeutic intervention (market claims not consistent with supplements) has become a multi-billion-dollar industry all over the world. There is a widespread belief that nutritional supplements can ward off chronic disease, including cancer, although there is little to no scientific evidence. To the contrary, there is now evidence that high doses

of some supplements increase cancer risk. Despite this evidence, marketing claims by the supplement industry continue to imply anticancer benefits. Scientists and medical professionals agree that insufficient government regulation of the marketing of DS products resulted in unsound advice to cancer patients and consumers. According to the most recent National Health and Nutrition Examination Survey (2003–2006), 50% of the US adult population uses one or more dietary supplements; most of those are multivitamin and/or multimineral supplements despite the results of observational studies that provide little evidence that multivitamins reduce cancer risk, and there have been no randomized studies of multivitamins for cancer prevention.<sup>125</sup>

### 13. Conclusion

Scientists and health professionals agree that dietary supplements (DS) can be under certain conditions beneficial to human health, but should not replace complete and balanced daily meals of foods. For the last decades informed medical agencies, doctors, pharmacists and nutritionists inform the consumers that there's a lot of wrong information in the global supplements market. Many DS even in developed countries managed to escape the safety tests, labeling and health regulations. Scientists in the USA and Western Europe specializing on nutrition, metabolism and epidemiology reviewed the evidence for DS supplements and concluded that there was not sufficient evidence to recommend for or against for the prevention of chronic disease. Results from Randomized Control Trials of DS showed that the majority are negative for health benefits or for preventing diseases. Self-prescription of DS should be avoided and patients, older people, pregnant women, young and people with disabilities should be informed and advised by their doctors or pharmacists for dietary supplementation. □

## Διατροφικά Συμπληρώματα: Ωφέλιμα στην Υγεία του Ανθρώπου ή Απλώς Εφησυχασμός της Σκέψης; Κριτική Επισκόπηση για την Διαμάχη Ωφέλειας/ Κινδύνου στα Διατροφικά Συμπληρώματα

**Αθανάσιος Βαλαβανίδης**

*Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα*

### Περίληψη

Διατροφικά συμπληρώματα (ΔΣ) είναι βιταμίνες, μεταλλικά ιόντα, πρόσθετες χημικές ουσίες, φυτά και βότανα που προστίθενται στα τρόφιμα ή καταναλώνονται με διάφορους τρόπους για να βελτιώσουν την ανθρώπινη υγεία. Επίσης, διατροφικά συμπληρώματα χρησιμοποιούνται από άτομα για να δυναμώσουν τον ανθρώπινο οργανισμό τους ή για να περάσουν μια δύσκολη περίοδο της ζωής τους. Επιστήμονες, ιατρικές υπηρεσίες και διατροφολόγοι συμφωνούν ότι ορισμένα διατροφικά συμπληρώματα κάτω από ορισμένες συνθήκες είναι ωφέλιμα στην ανθρώπινη υγεία, αλλά δεν μπορούν να αντικαταστήσουν πλήρη και ισορροπημένη καθημερινή διατροφή με όλα τα απαραίτητα συστατικά. Η πλέον έγκυρη υπηρεσία των ΗΠΑ, η Food and Drug Administration (FDA) υπογραμμίζει ότι «... σε αντίθεση με τα φάρμακα, τα διατροφικά συμπληρώματα δεν μπορούν να πραγματοποιήσουν πρόληψη, να διαγνώσουν, να αναστείλουν ή να θεραπεύσουν ασθένειες. Τα ΔΣ δεν επιτρέπεται να προβάλουν ή να διεκδικούν ιδιότητες ότι περιορίζουν τον πόνο ή ότι θεραπεύουν καρδιακές ασθένειες, κλπ...». Η πα-

γκόσμια αγορά των διατροφικών συμπληρωμάτων είναι τεράστια και υπολογίζεται ότι ξεπέρασε τα 90 δισεκατομμύρια δολάρια (US\$) το 2013. Η χώρα με την μεγαλύτερη αγορά ΔΣ είναι οι ΗΠΑ με αγορά άνω των 30 \$ δισεκατομμυρίων ετησίως. Για πολλά χρόνια οι γιατροί, νοσηλευτές, φαρμακοποιοί και διατροφολόγοι γνωρίζουν ότι πολλά από τα ΔΣ που κυκλοφορούν στην αγορά ισχυρίζονται για υπερβολικές θεραπευτικές ιδιότητες, εσφαλμένες διεργασίες χωρίς ιατρικά πειραματικά δεδομένα, ενώ σε πολλές χώρες όπως και στις ΗΠΑ εκατοντάδες προϊόντα έχουν αποφύγει τον φαρμακευτικό έλεγχο και τους κανονισμούς των υγιεινών προδιαγραφών που είναι απαραίτητοι στα φάρμακα και τρόφιμα. Από το 2007, μερικοί από τους πιο γνωστούς επιστήμονες στις ΗΠΑ, οι οποίοι εξειδικεύονται στην διατροφή, μεταβολικές διεργασίες στον ανθρώπινο οργανισμό και ιατρική επιδημιολογία πραγματοποίησαν εκτεταμένες και πολύχρονες έρευνες για πολυβιταμινούχα συμπληρώματα, μεταλλικά ιόντα και διάφορα ΔΣ που έχουν μεγάλη κυκλοφορία στην αγορά. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών δείχνουν, κατά πλειοψηφία, ότι τα ΔΣ δεν έχουν ωφέλιμες δράσεις ή θεραπευτικές ιδιότητες αλλά και σε ορισμένες περιπτώσεις αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών. Οι Τυχαιοποιημένες Ελεγχόμενες Δοκιμές (ΤΕΔ) (Randomized Control Trials, RCTs) είναι εξειδικευμένες έρευνες στις οποίες συμμετέχουν η ομάδα placebo (εικονικό φάρμακο) και η ομάδα ελέγχου και γίνεται τυχαιοποιημένη έρευνα για συγκριτικά θετικές ή αρνητικές επιπτώσεις μετά από ορισμένο χρονικό διάστημα με διατροφή ενισχυμένη με ΔΣ. Την τελευταία δεκαετία έχουν διεξαχθεί πολλές επιδημιολογικές και ΤΕΔ έρευνες και τα αποτελέσματα έχουν παρουσιασθεί στην επιστημονική βιβλιογραφία σε γνωστά έγκυρα ιατρικά περιοδικά. Τα αποτελέσματα ήταν στην πλειοψηφία τους αρνητικά. Το 2013 παρουσιάστηκαν τα οριστικά συμπεράσματα πολλών



ΤΕΔ σε 3 επισκοπήσεις και ένα άρθρο κριτική των συμπερασμάτων στο έγκυρο ιατρικό περιοδικό *Annals of Internal Medicine* με τον τίτλο «...μέχρις εδώ...σταματήστε να ξοδεύετε τα χρήματά σας σε βιταμίνες και άλλα διατροφικά συμπληρώματα...». Τα άρθρα αυτά είχαν σοβαρή επίδραση στον ιατρικό κόσμο πολλών ανεπτυγμένων χωρών και πολυάριθμες νεότερες έρευνες επιβεβαίωσαν τα προηγούμενα αποτελέσματα ή περιορισμένη ωφέλιμη δράση για την υγεία. Η επισκόπηση αυτή περιλαμβάνει σημαντικά στοιχεία για την αγορά των διατροφικών συμπληρωμάτων, στατιστικά δεδομένα και γενικές ιατρικές έρευνες. Επίσης, η επισκόπηση περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό επιλεγμένων επιστημονικών μελετών από έγκυρα ιατρικά περιοδικά για επιδημιολογικές και ΤΕΔ έρευνες, από διάφορες χώρες

για μεγάλη ποικιλία ΔΣ με αρνητικά και θετικά αποτελέσματα καθώς και κριτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Καλύπτει μεγάλο αριθμό των πλέον γνωστών και εμπορικά επιτυχημένων διατροφικών συμπληρωμάτων που χρησιμοποιούνται από ηλικιωμένους, αθλητές, έγκυες γυναίκες και νέα άτομα.

**ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: Διατροφικά Συμπληρώματα, Ισορροπημένη Διατροφή, Βιταμίνες, Ιχνοστοιχεία, Τυχαιοποιημένες Ελεγχόμενες Δοκιμές, Ωφέλεια στην Υγεία, Διεθνής Αγορά Διατροφικών Συμπληρωμάτων**

**\* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία:** Αθανάσιος Βαλαβανίδης, E - mail: valavanidis@chem.uoa.gr

## References

- Hollenstein J. (1994) *Understanding Dietary Supplements*. Pri - Med Institute, Boston, MA.
- Mason P. (2011) *Dietary Supplements*. (4th edition). Pharmaceutical Press, London.
- Watson R.R., Gerald J.K., Prredy V.R. (Eds) (2011). *Nutrients, Dietary Supplements, and Nutraceuticals. Cost Analysis versus Clinical Benefits*. Springer Science & Business Media, Berlin.
- Cupp MJ, Tracy TS (Eds) (2003). *Dietary Supplements. Toxicology and Clinical Pharmacology*. Humana Press, New York.
- Begins K., Kreft S. (Eds) (2014). *Dietary Supplements. Safety, Efficacy and Quality*. Woodhead Publishing (inprint of Elsevier), Amsterdam.
- National Institutes of Health, USA. Diet Supplements: What you need to know. [[https://ods.od.nih.gov/HealthInformation/DS\\_WhatYouNeedToKnow.aspx](https://ods.od.nih.gov/HealthInformation/DS_WhatYouNeedToKnow.aspx)].
- Coppens P., da Silva M.F., Pettman S. European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: A framework based on safety. *Toxicology* 221, 59 - 74, 2006.
- National Organization for Medicines (Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων, ΕΟΦ). Particular Nutrition Food, Food Supplement and Biocides Assessment Section, National Organization of Medicines, 284 Mesogeion Av., Holargos, Athens, Greece [relation@eof.gr].
- Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection, Rochusstr. 1 D - 53123 Bonn, Germany..
- Food Standards Agency, UK. Trade Information Sheet No. 7. Food/Dietary Supplements and Health Foods. November 2015. [ <http://www.food.gov.uk/sites/default/files/trade-info07.pdf> ].
- Chemical Inspection and Regulation Service (CIRS). 12 Significant Changes of China Dietary Supplement Regulation System, 11 August 2015 original article from CIRS [ <http://www.cirs-reach.com/news-and-articles/12-significant-changes-of-china-dietary-supplement-regulation-system.html> ]. Hangzhou, China.
- Japan, Ministry of Health and Welfare. Food Safety

- Commission, Consumer Affairs Agency, Chronology of Regulations/Guidelines on Nutrition and Health Claims in Japan, 1991. Foods for Specified Health Use (FOSHU), 1995. Nutrition Labeling Standards 1997 - 2001. Foods with Nutrient Function Claims (FNFC), 2003. Food Safety Commission, 2005. Consumer Affairs Agency [<http://www.sideshare.net/Aдриenna/japan-regulations-guidelines-for-func-tionnal-foods>].
13. Price S. Understanding the importance to health of a balanced diet. *Nursing Times* 101, 30 - 31, 2005.
  14. Katz D.L., Meller S. Can we say what diet is best for health? *Ann Rev Public Health* 35, 83 - 103, 2014.
  15. Widmer R.J., Flammer A.J., Lerman L.O., Lerman A. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am. J. Medicine* 128, 229 - 238, 2015.
  16. WHO. Global Strategy on Diet, physical activity and health, WHO publications - reports, Geneva, <http://www.who.int/dietphysicalactivity/diet/en/>
  17. WHO/FAO. Release Independent Expert Report on Diet and Chronic Disease, Geneva, 2003. [<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr20/en/>].
  18. Shils M.E., Shike M., Ross A.C., Caballero B., Cousins R.J. (2006). *Modern Nutrition in Health and Disease. (10th edition)*, Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer, Philadelphia.
  19. Fraga C.G. (Ed). (2010). *Plant Phenols and Human Health. Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology*. Wiley & Sons, Hoboken, NJ.
  20. Brody T. (1999). *Nutritional Biochemistry*. Academic Press (inprint of Elsevier), Amsterdam, Boston, 2nd ed.
  21. Pauling L. (1976). *Vitamin C and the Common Cold*. WH Freeman, San Francisco.
  22. Cameron E., Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75, 4538 - 4542, 1978.
  23. Creagan E.T., Moertel C.G. Failure of high - dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer. A controlled trial. *N. Engl. J. Med.* 301, 687 - 690, 1979.
  24. Tschetter L., Creagan E.T., O'Fallon J.R., Schutt A.J., Krook, J. E., Windschitl H.E., Reuter N.P., Pfeifle, D.M. A community - based study of vitamin C (ascorbic acid) in patients with advanced cancer. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2, 92, 1983.
  25. Moertel C.G., Fleming T.R., Creagan E.T., Rubin J., O'Connell M.J., Ames M.M. High - dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double - blind comparison. *N. Engl. J. Med.* 312, 137 - 141, 1985.
  26. Heaney M.L., Gardner J.R., Karasavvas N., Golde D.W., Scheinberg D.A., Smith E.A., O'Connor O.A. Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. *Cancer Res.* 68, 8031 - 38, 2008.
  27. Liu R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.* 78, 5175 - 5205, 2003.
  28. Gaziano J.M., Glynn R.J., Christen W.G., Kurth T., Belanger C., MacFadyen J., Bubes V., Manson J.E., Sesso H.D., Buring J.E. Vitamins E and C in the prevention of prostate and total cancer in men The Physicians' Health Study II Randomized Controlled Trial. *JAMA* 301, 52 - 62, 2009.
  29. Leanders M., Leufkens A.M., Siersema P.D., van Duijnhoven F.J.B., Vrieling A., et al. Plasma and dietary carotenoids and vitamins A, C and E and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int. J. Cancer*, 135, 2930 - 2939, 2014.
  30. Fortmann S.P., Burda B.U., Senger C.A., Lin J.S., Whitlock E.P. Vitamin and mineral supplements in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: An updated systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force *Annals Intern. Med.* 159, 824 - 834, 2013.
  31. WHO. *National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines - Report WHO Global Survey* (2005; 168 pp) [<http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s7916e/s7916e.pdf>].
  32. De Smet P.A.G.M. Herbal medicine in Europe. Relaxing regulatory standards. *N. Engl. J. Med.* 352, 1176 - 1178, 2003.
  33. Fermer R.E. Regulating herbal medicine in the UK. *Br. J. Med.* 333, 62 - 63, 2005.
  34. Valavanidis A. Herbs and traditional therapeutic plants. *Scientific American* (Greek Edition), April 2006, 92 - 95, 2006 (in Greek).
  35. Bent S. Herbal Medicine in the United States: Review

- of Efficacy, Safety, and Regulation. *J. Gen. Intern. Med.* 23, 854 - 859, 2008.
36. Walker D.R. *Report on the Regulation of Herbal Medicine and Practitioners*. Dpt of Health and the Medicines (UK), Healthcare Products Regulatory Agency, 26 March, 2015. [[http://www.dcsience.net/Report\\_on\\_Regulation\\_of\\_Herbal\\_Medicines\\_and\\_Practitioners.pdf](http://www.dcsience.net/Report_on_Regulation_of_Herbal_Medicines_and_Practitioners.pdf)]
  37. McKinsey & Company. Consumer and Shopping Insights. Cashing in on the booming market for dietary supplements. Dec. 2013 [[https://www.mckinseyon-marketingandsales.com/sites/default/files/pdf/CSI\\_VMHS\\_FNL\\_0.pdf](https://www.mckinseyon-marketingandsales.com/sites/default/files/pdf/CSI_VMHS_FNL_0.pdf)] (accessed February 2016).
  38. Nasdag. Globe News Wire. Global Nutrition and Supplements Market: History, Industry Growth, and Future Trends by PMR, New York, Jan 2015. [<https://globenewswire.com/news-release/2015/01/27/700276/10117198/en/Global-Nutrition-and-Supplements-Market-History-Industry-Growth-and-Future-Trends-by-PMR.html>] (accessed February 2016).
  39. CMR International, Thomson Reuters Business. Global Pharmaceutical Sales, London, 2015 [[http://cmr.thomsonreuters.com/pdf/Executive\\_Summary\\_Financial.pdf](http://cmr.thomsonreuters.com/pdf/Executive_Summary_Financial.pdf)].
  40. Research and Markets [[http://www.researchandmarkets.com/research/xjrcm6/global\\_mineral](http://www.researchandmarkets.com/research/xjrcm6/global_mineral)] has announced the addition of the "Global Mineral Supplements Market Size, Share, Development, Growth and Demand Forecast to 2020" (accessed March 2016).
  41. P&S Market Research, Global Vitamin Supplements Market (Size of \$37 billion in 2014) to Witness 7% during 2014 - 2020. April 2015 [<https://www.ps-marketresearch.com/market-analysis/vitamin-supplements-market>] (accessed March 2016).
  42. Dennehy C., Tsourosunis C.V., Miller A.E. Evaluation of Herbal Dietary Supplements Marketed on the Internet for Recreational Use. *Annals Pharmacother.* 39, 1634 - 1639, 2005.
  43. Bert F., Giacometti M., Gualano M.R., Siliquini R. Smartphones and health promotion: A Review of the Evidence. *J. Med. Systems* 38,9995, 2014.
  44. Kennedy J. Herb and supplement use in the US adult population. *Clin. Therapeut.* 27,1847 - 1858, 2005.
  45. Wilson K.M., Klein J.D., Sesselberg T.S., Yussman S.M., Markow D.B., Green A.E., West J.C., Gray N.J. Use of complementary medicine and dietary supplements among U.S. adolescents. *J. Adolesc. Health* 38, 385 - 394, 2006.
  46. American Cancer Society (30/3/2015) [<http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/complementaryandalternativemedicine/dietarysupplements/dietary-supplements-risks-and-side-effects>] (accessed March 2016).
  47. Kirk S., Woodhouse A., Conner M. Beliefs, attitudes and behaviour in relation to supplement use in the UK women's cohort study (UKWCS). *Proc. Nutr. Soc.* 57, 54A, 1998.
  48. Conner M., Kirk S.F., Cade J.E., Barrett J.H. Why do women use dietary supplements? The use of the theory of planned behaviour to explore beliefs about their use. *Soc. Sci. Med.* 52, 621 - 633, 2001.
  49. Dickinson A., Blatman J., El - Dash N., Franco J.C. Consumer usage and reasons for using dietary supplements: report of a series of surveys. *J. Am. Coll. Nutr.* 33, 176 - 182, 2014.
  50. Baile R.L., Gahche J.L., Miller P.E., Thomas P.R., Dwyer J.T. Why US adults use dietary supplements. *JAMA Intern. Med.* 173, 355 - 361, 2013.
  51. FDA, Safety Portal for dietary supplements [ <http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/ReportAdverseEvent/default.htm>] (accessed March 2016).
  52. Geller A.I., Shehab N., Weidle N.J., Loverro M.C., Wolpert B.J., Timbo B.B., Mozersky R.P., Budnitz D.S. Emergency department visits for adverse events related to dietary supplements. *New Engl. J. Med.* 373, 1531 - 40, 2015.
  53. Klontz K.C., Debeck H.J., Leblanc P.A., Mogen K.M., Wolpert B.J., Sabo J.L., Salter M., Seelman S.L., Lance S.E., Monahan C., Steigman D.S., Gensheimer K. The role of adverse event reporting in the FDA response to a multistate outbreak of liver disease associated with a dietary supplement. *Public Health Rep.* 130, 526 - 32, 2015.
  54. Ames B.N., McCann J.C., Stampfer M.J., Willett W.C. Evidence - based decision making on micronutrients and chronic disease: long - term randomized controlled trials are not enough. *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 522 - 525, 2007.
  55. McIntosh J. Recalled dietary supplements still contain banned substances. *Medical News Today*, 22 Oc-



- tober, 2014. [<http://www.medicalnewstoday.com/articles/284158.php>] (access Febr 2016).
56. Cohen P.A., Maller G, DeSouza R., Kababick J.N. Presence of banned drugs in dietary supplements following FDA recalls. *JAMA* 312, 1691 - 93, 2014.
  57. Fortmann S.P., Burda B.U., Senger C.A., Lin J.S., Whitlock E.P. Vitamin and mineral supplements in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: an updated systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann. Intern. Med.* 159, 824 - 834, 2013.
  58. Grodstein F, O'Brien J., Kang J.H., Dushkes R., Cook N.R., Okereke O., Manson J.E., Glynn R.J., Buring J.E., Gaziano J.M., Sesso H.D.. A randomized trial of long-term multivitamin supplementation and cognitive function in men. The Physicians' Health Study II. *Ann. Intern. Med.* 159, 806 - 814, 2013.
  59. Lin J.S., O'Connor E., Rossom R.C., Perdue L.A., Eckstrom E. Screening for cognitive impairment in older adults: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann. Intern. Med.* 159, 601 - 612, 2013.
  60. Lamas G.A., Boineau R., Goertz C., Mark D.B., Rosenberg Y., Stylianou M., Rozema T., Nahin R.L., Lindblad L., Lewis E.F., Drisko J., Lee K.L. TACT (Trial to Assess Chelation Therapy) Investigators. Oral high-dose multivitamins and minerals after myocardial infarction. A randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 159, 797 - 804, 2013.
  61. Guallar E., Stranges S., Mulrow C., Appel L.J., Miller III E.R. Enough is enough: Stop wasting money on vitamin and mineral supplements. *Ann. Intern. Med.* 159, 850 - 851, 2013.
  62. Huang H.Y., Caballero B., Chang S., Alberg A.J., Semba R.D., Schneyer C.R., Wilson R.F., Cheng T.Y., Vassy J., Prokopowicz G., Barnes G.J. 2nd, Bass E.B. The efficacy and safety of multivitamin and mineral supplement use to prevent cancer and chronic disease in adults: a systematic review for a National Institutes of Health state-of-the-science conference. *Ann. Intern. Med.* 145, 372 - 85, 2006.
  63. Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud C. Antioxidant supplements to prevent mortality. *JAMA* 310, 1178 - 79, 2013.
  64. Miller E.R. 3rd, Pastor-Barriuso R., Dalal D., Riemersma R.A., Appel L.J., Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann. Intern. Med.* 142, 37 - 46, 2005.
  65. Miller E.R. 3rd, Juraschek S., Pastor-Barriuso R., Bazzano L.A., Appel L.J., Guallar E. Meta-analysis of folic acid supplementation trials on risk of cardiovascular disease and risk interaction with baseline homocysteine levels. *Am. J. Cardiol.* 106, 517 - 527, 2010.
  66. Moyer V.A., U.S. Preventive Services Task Force. Vitamin D and calcium supplementation to prevent fractures in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann. Intern. Med.* 158, 691 - 696, 2013.
  67. Gahche J., Bailey R., Burt V., Hughes J., Yetley E., Dwyer J., Picciano M.F., McDowell M., Sempos C. Dietary supplement use among U.S. adults has increased since NHANES III (1988 - 1994). *NCHS Data Brief* 1 - 8, 2011.
  68. Oregon State University. Linus Pauling Institute. The case is far from closed for vitamins and mineral supplements. [<http://lpi.oregonstate.edu/case-far-closed-vitamin-and-mineral-supplements>] (accessed March 2016).
  69. Fulgoni V.L.III, Keast D.R., Bailey R.L., Dwyer J. Foods, fortificants, and supplements: Where do Americans get their nutrients? *J. Nutr.* 141, 1847 - 54, 2011.
  70. Sebaqstina R.S., Cleveland L.E., Goldman J.D., Moshfegh A.J. Older adults who use vitamin/mineral supplements differ from nonusers in nutrient intake adequacy and dietary attitudes. *J. Am. Diet. Assoc.* 107, 1322 - 32, 2007.
  71. Shakur Y.A., Tarasuk V., Corey P., O'Connell D.L. A comparison of micronutrient inadequacy and risk of high micronutrient intake among vitamin and mineral supplement users and nonusers in Canada. *J. Nutr.* 142, 534 - 40, 2012.
  72. Stipanuk M.H., Caudill M.A. (Eds) (2013). *Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition*, 3rd edition, Elsevier Saunders, St Louis, M.I.
  73. Gaziano J.M., Sesso H.D., Christen W.G., Bubes V., Smith J.P., MacFadyen J., Schvartz M., Manson J.E., Glynn R.J., Buring J.E. Multivitamins in the prevention of cancer in men. The Physicians' Health Study II Randomized Controlled Trial. *JAMA* 308, 1871 - 1880, 2012.
  74. Christen E.W., Glynn R.J., Manson J.E., MacFadyen J., Bubes V., Schvartz M., Buring J.E., Sesso H.D., Gaziano J.M. Effects of multivitamin supplement and cataract

- and age - related macular degeneration in a randomized trial of male physicians. *Ophthalmology* 121, 525 - 34, 2014
75. Maraini G., Sperduto R.D., Ferris F., Clemons T.E., Rosmini F., Ferrigno L. A randomized, double - masked, placebo - controlled clinical trial of multivitamin supplementation for age - related lens opacities. Clinical trial of nutritional supplements and age - related cataract report no 3. *Ophthalmology* 115, 599 - 607, 2008.
  76. Herberg S., Galan P., Preziosi P., Bertais S., Mennen L., Malvy D., Roussel A.M. Favier A., Briançon S. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo - controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch. Intern. Med.* 164, 2335 - 42, 2004.
  77. Heaney R.P. Nutrients, endpoints, and the problem of proof. *J. Nutr.* 138, 1591 - 95, 2008.
  78. Wallace T.C. (Ed) (2015). *Dietary Supplements in Health Promotion*. CRC Press, Boca Raton, FL, Chapter 3. Rautianen S., Garziano M., Sesso H.D. Assessing the potential for long - term effects of multivitamin supplements, pp. 55 - 73.
  79. Watson R.R. (Eds) (2011). *Nutrients, Dietary Supplements and Nutraceuticals. Cost Analysis Versus Clinical Benefits, Nutrition and Health*. Springer - Science, Heidelberg, Berlin, New York.
  80. Bergins K., Kreft S. (Eds) (2014). *Dietary Supplements. Safety, Efficacy and Quality*. Woodhead Publishing, inprint of Elsevier, Amsterdam, New York.
  81. Joshi S. Vitamin supplementation in the elderly. *Clin. Geriatr. Med.* 31, 355 - 66, 2015.
  82. Rumbold A., Ota E., Nagata C., Shahrook S., Crowther C.A. Vitamin C supplementation in pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* Sept 29:9:CD004072, 2015. DOI: 10.1002/14651858.CD004072.pub3.
  83. Sparling T.M., Henschke N., Nesbitt R.C., Gabrysch S. The role of diet and nutritional supplementation in perinatal depression: a systematic review. *Matern. Child. Nutr.* 3.2.2016, Epub ahead of print, DOI: 10.1111/mcn.12235.
  84. Dangour A.D., Allen E., Clarke R., Elbourne D., Fletcher A.E., Letley L., Richards M., Whyte K., Uauy R., Mills K. Effects of vitamin B - 12 supplementation on neurologic and cognitive function in older people: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 102, 639 - 47, 2015.
  85. Ruan J., Gong X., Kong J., Wang H., Zheng X., Chen T. Effect of B vitamin (folate, B6, and B12) supplementation on osteoporotic fracture and bone turnover markers: a meta - analysis. *Med. Sci. Monit.* 21, 876 - 881, 2015.
  86. Dharmaraian T.S. Is vitamin supplementation appropriate in the healthy old? *Curr. Opin. Gastroenterol.* 31, 143 - 152, 2015.
  87. Bjelakovic G., Gluud L.L., Nikolova D., Whitfield K., Krstic G., Wetterslev J., Gluud C. Vitamin D supplementation for prevention of cancer in adults. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014 Jun 23;6:CD007469. doi: 10.1002/14651858.CD007469.pub2.
  88. Xiao L., Xing C., Yang Z., Xu S., Wang M., Du H., Liu K., Huang Z. Vitamin D supplementation for the prevention of childhood acute respiratory infections: a systematic review of randomised controlled trials. *Br. J. Nutr.* 114, 1026 - 34, 2015.
  89. Mandair D., Rossi R.E., Pericleous M., Whyand T., Caplin M.E. Prostate cancer and the influence of dietary factors and supplements: a systematic review. *Nutr. Metab. (London)* 2014 June 16;11.30 DOI: 10.1186/1743 - 7075 - 11 - 30.
  90. Rumbold A., Ota E., Hori H., Miyazaki C., Crowther C.A. Vitamin E supplementation in pregnancy. *Cochrane Database Syst Review*. 2015 Sep 7; DOI: 10.1002/14651858.CD004069.pub3.
  91. National Academy of Science. Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*, Washington DC, National Academy of Science, 2010.
  92. Holick M.F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin. Proc.* 81, 353 - 73, 2006.
  93. Reid I.R., Bristow S.M., Bolland M.J. Calcium supplements: benefits and risks. *J. Intern. Med.* 278, 354 - 368, 2015.
  94. Athgen O., Hilgsmann M., Burlet N., Reginster J.Y. Public health impact and cost - effectiveness of dairy products supplemented with vitamin D in prevention of osteoporotic fractures. *Arch. Public Health* 14 Dec: 73:48 2015, DOI: 10.1186/s13690 - 015 - 0099 - 3.
  95. Zheng Y.T., Cui Q.Q., Hong Y.M., Yao W.G. A meta - analysis of high dose, intermittent vitamin D

- supplementation among older adults. *PLoS One* 10(1):e0115850, 2015.
96. Bolland M.J., Grey A., Avenell A., Gamble G.D., Reid G.D. Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events: reanalysis of the Women's Health Initiative limited access dataset and meta - analysis. *Br. Med. J* 2011, 342. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.d2040>.
  97. Marik P.E., Varon J. Omega - 3 dietary supplements and the risk of cardiovascular events: A systematic review. *Clin.Cardiol.* 32, 365 - 372, 2009.
  98. Harrison R.A., Summerbell C.D., Ness A.R., Moore H.J., Worthington H.V., Durrington P.N., Higgins J.P., Capps N.E., Riemersma R.A., Ebrahim S.B., Davey Smith G. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *BMJ* 2006. DOI: 10.1136/bmj.38755.366331.25, 24.3.2006.
  99. Molfino A., Gioia G., Rossi Fanelli F., Muscaritoli M. The role for dietary omega - 3 fatty acids supplementation in older adults. *Nutrients* 6, 4058 - 73, 2014.
  100. Long A.B., Ward W.E. PUFAs, bone mineral density, and fragility fracture: findings from human studies. *Adv. Nutr.* 7, 299 - 312, 2016.
  101. Kakoti B.B., Hernandez - Ontiveros D.G. , Katakaki M.S., Shah K., Pathak Y., Panguluri S.K. Resveratrol and omega - 3 fatty acid: Its implications in cardiovascular diseases. *Front Cardiovasc. Med.* 2015 Dec 11:2:38. DOI : 10.3389/fcvm.2015.00038. eCollection 2015.
  102. Gomez - Candela C., Roldan Puchalt M.C. , Palma Mila S., Lopez Plaza B., Bermejo L. The role of omega - 3 fatty acids in diets. *J. Am. Coll. Nutr.* 34 Suppl 1, 42 - 47, 2015.
  103. Maehre H.K., Jensen I.J., Elvevoll E.O. , Eilertsen K.E.  $\omega$  - 3 fatty acids and cardiovascular diseases: effects, mechanisms and dietary relevance. *Int. Mol. Sci.* 16, 22636 - 22661, 2015.
  104. Fleming J.A., Kris - Etherton P.M. The evidence for  $\alpha$  - linolenic acid and cardiovascular disease benefits: Comparisons with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Adv. Nutr.* 5, 863S - 876S, 2014.
  105. Frassinetti S., Bronzetti G., Caltavuturo L., Cini M., Croce C.D. The role of zinc in life: a review. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 25, 597 - 610, 2006.
  106. Maret W., Sandstead H.H. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. Review. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 20, 3 - 18, 2006.
  107. Ota E., Mori R., Middleton P., Tobe - Gai R., Mahomed K., et al. Zinc supplementation for improving pregnancy and infant outcome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Feb, DOI: 10.1002/14651858.CD000230.pub5.
  108. Mocchegiani E., Romeo J., Malavolta M., Costarelli L., Giacconi R., Diaz L.E., Marcos A. Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. *Age* 35, 839 - 860, 2013.
  109. Lomagnolo K.A., Hu F., Riddell L.J., Booth A.O., Szymlek - Gay E.A., Nowson C.A., Byrne L.K. Increasing iron and zinc in pre - menopausal women and its effects on mood and cognition: a systematic review. *Nutrients* 6, 5117 - 141, 2014.
  110. Basnet S., Mathisen M., Strand T.A. Oral zinc and common childhood infections - An update. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 31, 163 - 166, 2015.
  111. Rayman M.P. Selenium and human health. Review. *Lancet* 379, 1256 - 1268, 2012.
  112. Vinceti M., Dennert G., Crespi C.M., Zwahlen M., Brinkman M., Zeegers M.P., Horneber M., D'Amico R., Del Giovane C. Selenium for preventing cancer. *Cochrane Datab. Syst. Rev.* 2014 Mar 30;3:CD005195. DOI: 10.1002/14651858.CD005195.pub3.
  113. Wu T.W., Tsai F.P. Comparison of the therapeutic effects and side effects of oral iron supplements in iron deficiency anemia. *Drug Res. (Stuttg)*, 2015 Dec 23 [Epub ahead of print].
  114. Peña - Rosas J.P. , De - Regil L.M., Garcia - Casal M.N., Dowswell T. Daily oral iron supplementation during pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015, July 22:7:CD004736. DOI: 10.1002/14651858.CD004736.pub5.
  115. Baumgartner J., Barth - Jaeggi T. Iron interventions in children from low - income and middle - income populations: benefits and risks. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 18, 289 - 294, 2015.
  116. Lambert J.D., Sang S., Yang C.S. Possible controversy over dietary polyphenols: benefits vs risks . *Chem. Res. Toxicol.* 20, 583 - 585, 2007.
  117. Ernst E. The Risk - Benefit Profile of Commonly Used Herbal Therapies: Ginkgo, St. John's Wort, Ginseng, Echinacea, Saw Palmetto, and Kava. *Ann. Intern. Med.* 136, 42 - 53, 2002.



118. Pittler M., Ernst E. Dietary supplements for body - weight reduction: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 529 - 36, 2004.
119. Bertoia M.L., Rimm E., Mukamal K.J., Hu F.B., Willett W.C., Cassidy A. Dietary flavonoid intake and weight maintenance: three prospective cohorts of 124 086 US men and women followed for up to 24 years. *BMJ* 2016; 352. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.i17>.
120. Vamenta - Morris H., Dreisbach A., Shoemaker - Moyle M., Abdel - Rahman E.M. Internet claims on dietary and herbal supplements in advanced nephropathy: truth or myth. *Am. J. Nephrol.* 40, 393 - 98, 2014.
121. Hardy M.L., Duvall K. Multivitamin/multimineral supplements for cancer prevention: implications for primary care practice. *Postgrad. Med.* 127, 107 - 116, 2015.
122. Harvie M. Nutritional supplements and cancer: potential benefits and proven harms. 2014:e478 - 86. DOI: 10.14694/EdBook\_AM.2014.34.e478.
123. Novelle M.G., Wahl D., Diequez C., Berneir M., de Cabo R. Resveratrol supplementation: Where are we now and where should we go? *Ageing Res. Rev.* 21, 1 - 15, 2015.
124. Lall R.K., Syed D.N., Adhami V.M., Khan M.I., Mukhtar H. Dietary polyphenols in prevention and treatment of prostate cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 3350 - 76, 2015.
125. Martinez M.E., Jacobs E.T., Baron J.A., Marshal J.R., Byers T. Dietary supplements and cancer prevention: balancing potential benefits against proven harms. *J. Natl. Cancer Inst.* 104, 732 - 39, 2012.
126. Gaziano J.M., Sesso H.D., Christen W.G., Bubes V., Smith J.P., MacFadyen J., Schvartz M., Manson J.E., Robert J. Glynn R.J., Buring J.E. Multivitamins in the Prevention of Cancer in Men The Physicians' Health Study II Randomized Controlled Trial. *JAMA* 308, 1 - 10, 2012.

# The Challenging Role of Biomedical Engineering in Nanoparticle based Drug Delivery

George Loudos<sup>\*1,2</sup>, Eirini Fragogeorgi<sup>2</sup>, Mo Alavijeh<sup>3</sup>, Sergey Mikhlovsky<sup>4</sup>, Maria Georgiou<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Department of Biomedical Engineering, Technological Educational Institute of Athens, Athens, Greece

<sup>2</sup> Institute of Nuclear Technology & Radiation Protection, NCSR "Demokritos", Athens, Greece

<sup>3</sup> Pharmidex, London, UK

<sup>4</sup> Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton, UK

<sup>5</sup> Bioemission Technology Solutions, Athens, Greece

## Summary

Nanoparticle based drug delivery is a relatively new and highly promising technology for the treatment of several diseases, not limited to cancer. While nanoparticle synthesis requires mainly expertise in chemistry, their evaluation and exploitation opens a new field for multidisciplinary research, where the combination of medicine, biology, physics and engineering is dominant. Biomedical engineering can have a strong impact, since several instruments and technologies that are now used are not designed and optimized for application

in nanomedicine. Such examples include imaging systems, hyperthermia devices and methods to stimulate nanoparticles using different forms of energy. This possibility will open new prospects in nanomedicine with an obvious benefit for both domains: On the one hand, the properties of nanoparticles can be better understood and exploited; on the other hand, the field of biomedical engineering can highly benefit from extending in new ideas and concepts, which can boost the field, as well as increase funding opportunities.

**ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ:** Biomedical engineering, hyperthermia, molecular imaging, nanomedicine, simulations

## 1. introduction

Nanoparticle based drug delivery is considered as a new, promising technology for the efficient treatment of various diseases including, but not limited to cancer. Nanoparticles can penetrate biological barriers, carry drugs on the target site, while minimizing dose in other organs. While the synthesis

of nanoparticles requires mainly chemical expertise, their evaluation and exploitation provides a field for multidisciplinary research, where expertise from the fields of medicine, biology, physics and engineering is dominant. Nanoparticles can be used for imaging, thus requiring deep knowledge in the advantages and limitations of different imaging modalities, as well as improvements of the

**\* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία:** George Loudos

E-mail: gloudos@teiath.gr Tel: +302105385376, +306947233203

existing tools. When nanoparticles are radiolabelled it is possible to image them, using standard molecular imaging SPECT (Single Photon Emission Tomography) or PET (Positron Emission Tomography) techniques<sup>1</sup>. On the other hand magnetic nanoparticles can be imaged using MRI (Magnetic Resonance Imaging) techniques, microbubbles can be imaged with ultrasounds, quantum dots using optical imaging and gold nanoparticles using X-rays. The use of magnetic nanoparticles in hyperthermia is one of the most promising nanomedicine directions and requires the optimization of magnetic induction devices, as well as the accurate, non invasive, monitoring of temperature increase. The combination of imaging and therapy has opened the very promising Theranostics domain. Simultaneous nuclear imaging during hyperthermia can provide insights in the biological process that occur when nanoparticles are heated<sup>2</sup>. In this way it is possible to monitor the successful organ/tumor targeting, drug release and/or real time response to therapy. This approach is by far superior when compared to the use of conventional anatomic or functional modalities, which can monitor the long term therapeutic effect.

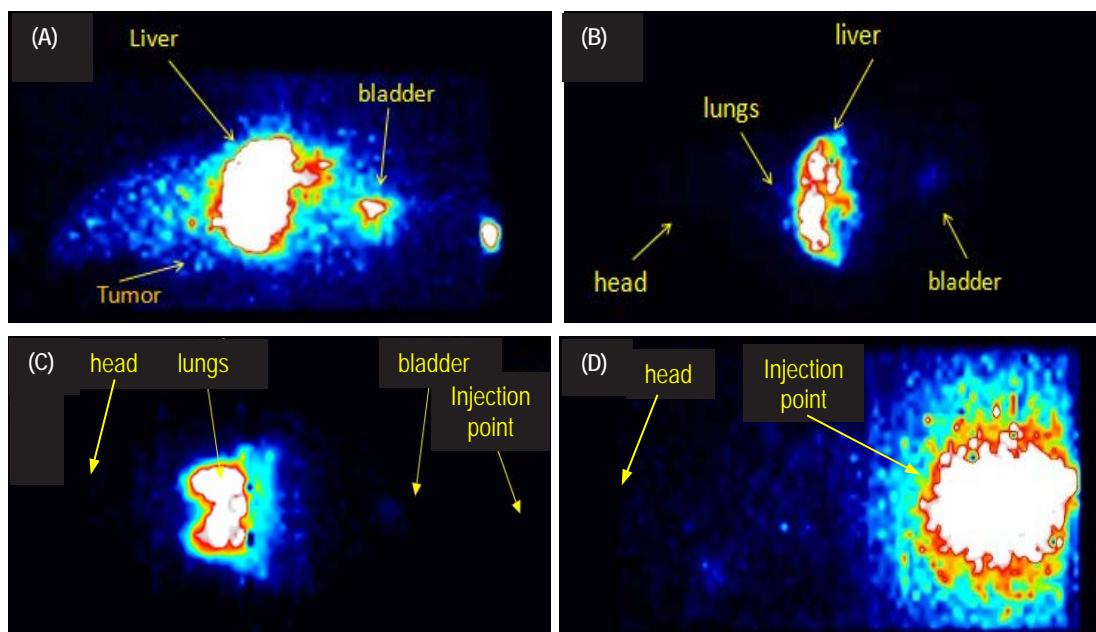
Depending on the nanoparticle specific properties there are different ways to optimize targeting, assess efficient concentration on the target, stimulate them, control and monitor drug release and assess therapeutic effect. In all these procedures the role of biomedical engineering is critical, since the exploitation of nanoparticle physical properties requires the optimization of existing tools and instruments, which were not initially designed for application in nanomedicine. This is a new direction, which is not yet well understood and/or appreciated by biomedical engineers, mostly due to limited communication with the nanomedicine sector. It is obvious that the field of nanomedicine can benefit from such improvements, which can highlight more attractive applications for nanoparticles and vice versa; it has been already clear that nanomedicine is becoming a refreshing direction for many domains of biomedical engineering and a driving force for attracting funding and performing innovative research.

## 2. Imaging as a tool to quantify nanoparticles spatiotemporal biodistribution

Although it is relatively easy to design and produce different types of nanoparticles, with small variations in terms of size, coating and properties, their characterization is a time consuming procedure and especially the in vivo preclinical evaluation can be rather complicated and expensive. However, when designing nanoparticles it is critical to provide an answer to the following questions: i) Do nanoparticles reach their target? ii) How long do they remain in blood circulation? iii) Are they concentrated in other organ/tissues? iv) How long do they remain on the target? v) Are they stable? vi) What is their fate in the long term? In therapeutic applications there are also some important questions that need to be answered such as: i) Can we confirm drug release? ii) Can we image possible temperature increase? iii) Can we image biological changes during drug release; iv) Is it possible to image the therapeutic effect as early as possible?

In principle these questions can be answered by molecular imaging techniques and more specifically by using the well-established nuclear imaging and mainly radiolabelling with simple SPECT isotopes such as Tc<sup>99m</sup> and In<sup>111</sup>. While other imaging techniques have many advantages, scintigraphy is relatively simple and low cost in terms of the needed radiochemical and imaging equipment, while providing high spatial resolution and the ability to quantify images. Other imaging techniques require complicated and expensive equipment (MRI, PET), complicated chemistry (PET) or do not provide quantified data (optical imaging), which limit their wide spread to most of the nanoparticle developers. An important step is radiolabelling of nanoparticles without altering their properties, something that has been successfully carried out by many groups and more details about these approaches can be found elsewhere<sup>3-5</sup>.

Scintigraphic imaging for nanoparticles assessment can provide valuable information, not only for the evaluation of new products, but also for minimizing errors that can occur in therapeutic studies. Some examples are given in Figure 1, where different magnetic nanoparticles are radiolabelled with Tc<sup>99m</sup>



**Figure 1:** *In vivo* scintigraphic images of different magnetic nanoparticles radiolabelled with Tc99m. (A) a product where blood circulation remains high; (B) a product where the nanoparticles are concentrated fast in liver; (C) a case where aggregates are formulated when nanoparticles are injected *in vivo* and are stacked in lungs; (D) a typical example of a bad injection where the nanoparticles remain in the tail vein

and *in vivo* imaged by our team. Image (A) shows a product where blood circulation remains high, thus the product is likely to concentrate on the target tissues either through Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect or efficient targeting; Image (B) shows a product where the nanoparticles are concentrated fast in liver, thus no further kinetics are expected; Image (C) shows a case where aggregates are formulated when nanoparticles are injected *in vivo* and thus the product is stacked in lungs; Finally image (D) shows a typical example of a bad injection where the nanoparticles remain in the tail vein, thus it is not possible to evaluate the product and the animal needs to be excluded from any study.

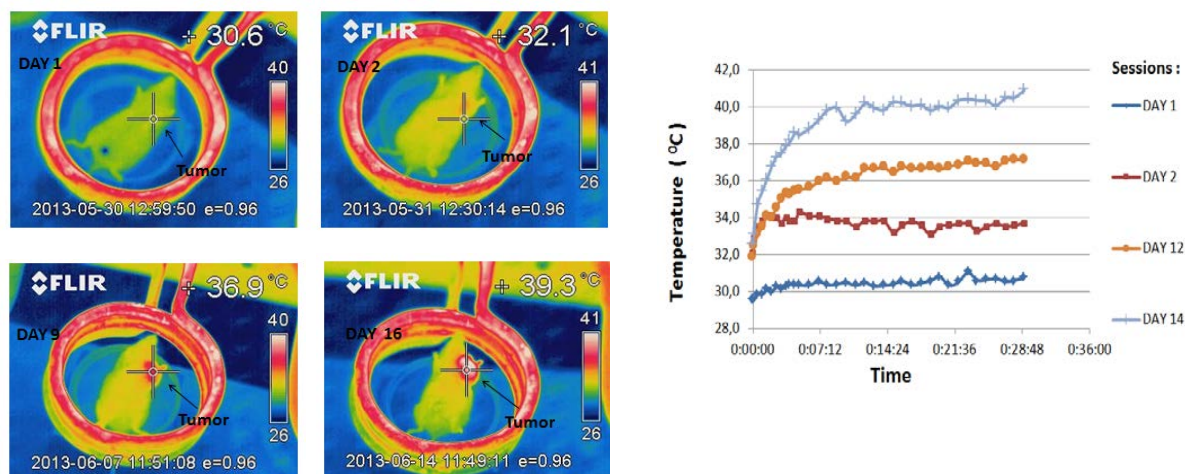
These results clearly demonstrate that the absence of *in vivo* imaging may affect the outcomes of several nanoparticle drug delivery studies, since it is not possible to ensure the efficient biodistribution of the injected products. Usually studies to evaluate a new nanoparticle for drug delivery include a normal group of ~6 animals, a group with the treatment of a standard drug, a group with treatment of the

new nanoparticle drug and in some cases a group where hyperthermia is also applied. However, there presented examples show that there are a number of factors that if not evaluated *in vivo* may lead to false interpretation of the results and *in vivo* imaging could be a quality control step to ensure if an animal will participate in a study or not. For these reasons significant effort needs to be put on improving the performance of imaging systems, decreasing the cost, simplifying the imaging procedures and hopefully making *in vivo* imaging available to more nanochemistry labs, to contribute to cost savings, reproduction of results and assist the clinical translation of laboratory results. To this direction low cost scintigraphic imaging systems provide an attractive possibility<sup>6</sup>.

### 3. Hyperthermia and temperature monitoring

Magnetic induced hyperthermia has two main aims in nanoparticle based drug delivery; on the one hand, the temperature increase aims to kill cancer





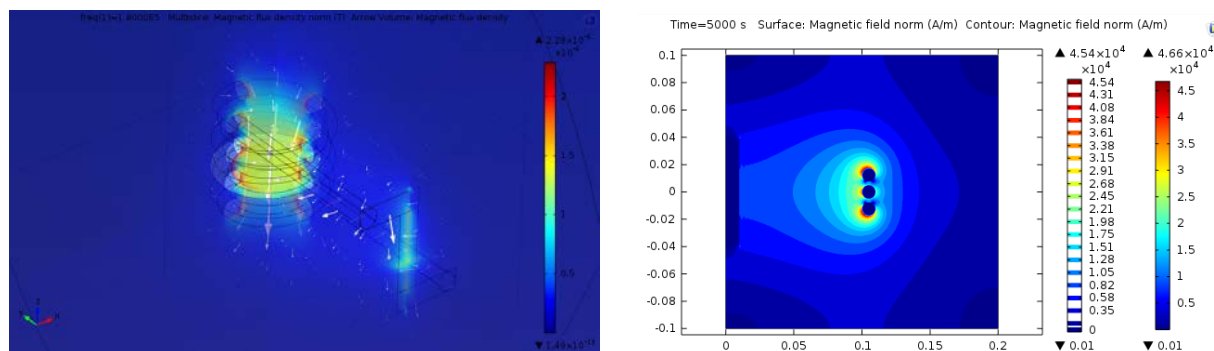
**Figure 2:** Images of a near infrared camera of a mouse with a tumor implanted on the left shoulder during a hyperthermia session. Successive injections of magnetic nanoparticles were performed at Day 1, Day 2, Day 12 and Day 14. The increased nanoparticles concentration and the subsequent temperature increase are clearly imaged. By drawing a ROI on the tumor and analysing small imaging frames of 30secs, it is possible to also quantify the temperature increase.

cells and on the other hand the increased temperature can initiate and potentially control the release<sup>7</sup>. Thus a critical parameter in the preclinical evaluation of new nanoparticles is the measurement of the temperature on the target organ or tissue (usually tumors), as well as the monitoring of the temperature of the entire animal. Currently temperature monitoring is mostly performed with the use of a thermometer or an optical fiber, which is placed on the surface of the animal or inside by using a catheter. However, in the first case the inner temperature is not monitored and in both cases temperature from only one local point is provided, thus it is not possible to ensure the homogeneous temperature increase in the target region.

One way to overcome this limitation is the use of near infrared imaging, which has not been exploited adequately yet in the field. Some of our results demonstrate that it is possible to perform whole body mouse imaging during hyperthermia of the temperature increase, draw regions of interest (ROIs) on different organs, as well as quantify the temperature increase as a function of time. In Figure 2, whole body images of the temperature in a small mouse during hyperthermia are shown. A tumor is implanted on the left shoulder of the mouse and successive injections of magnetic nanoparticles

were performed at Day 1, Day 2, Day 12 and Day 14. The increased nanoparticles concentration caused an increased in the maximum temperature that was reached on the tumor, while the temperature of the entire mouse was constant. By drawing a ROI on the tumor and analysing small imaging frames of 30secs, it is possible to also monitor and quantify the temperature increase in each session, until it reaches a plateau. In this way it is possible to image the effectiveness of the hyperthermic session.

As it is seen, during the last session the measured temperature reaches 41°C, which is close to the 43°C where hyperthermia occurs. However, it must be taken into account that a near infrared camera measures the outer temperature, which means that the tissue absorption has to be taken into account and corrected. Since the near infrared images provide several advantages compared to the single point images of thermometers or optical fibers, a challenging engineering task is the simulation of the hyperthermia session, including the coil and its input parameters, the calculation of the induced magnetic field and finally the temperature increase in nanoparticles. In this way the thermal diffusion and absorption can be calculated, to create a model that correlates the outer temperature that can be measured, with the inner temperature that is unknown. This is



**Figure 3:** Simulation of the coil of a hyperthermia system and calculation of the corresponding magnetic field inside

a purely engineering task and the initial results of our group are given in Figure 3, where a simulation of the existing coil and the corresponding magnetic field are shown. Such an approach could easily provide evidence of successful hyperthermia or drug release.

#### 4. Hyperthermia and simultaneous theranostic imaging

*In vivo* imaging during hyperthermia is another challenging task, which is likely to provide real time information of the procedures that occur during hyperthermia. Molecular imaging has shown the possibility to image a number of procedures including hypoxia, pH,  $O_2$  and there are also challenging possibilities such as temperature imaging, as well as drug release imaging. It is well known that a typical imaging system consists of a coil, which induces a magnetic field. However, conventional photon detectors such as photomultipliers cannot operate in magnetic fields. Thus, a theranostic imaging system should be designed in a way that such interactions are minimized and do not introduce artifacts in the obtained images. Silicon Photomultipliers (SiPM) are magnetic insensitive detectors, which have been widely used in the PET/MR domain<sup>8</sup>. Their compact characteristics, as well as their compatibility with magnetic fields make them promising candidates for the design and development of small imaging systems, which are compatible with hyperthermia equipment. Although Position Sensitive Photomultiplier Tubes (PSPMTs) are considered as the standard detectors of choice for the development of small

animal imaging systems<sup>9</sup>. Besides magnetic incompatibility issues, since they are not very compact they cannot be used for the design of optimal detectors in terms of geometry and subsequently performance. For this reason we have developed different detector modules based on SiPMs, which can serve as the basis for the development of SPECT and PET systems that can be used inside the magnetic field of the hyperthermia coil.

There are many ways to design a SPECT or PET imaging system in combination with a magnetic hyperthermia system as it can be seen in Figure 4. In Figure 4 the detector heads of a PET system are visualized as simple blocks, although more compact shapes are possible. The detector heads can be placed either inside or outside the coil. They can also image the field of view from  $0^\circ$  or  $90^\circ$ , depending on the animal placement, as well as possible interactions with the hyperthermia system.

Although, the magnetic field outside the coil is not very strong and our measurements show small interference with the detectors, to obtain high resolution images, the distance between the detector and the object to be imaged should be minimized. For this reason, only the use of SiPMs can be explored for such an application, something that has not been demonstrated yet.

Our group has tested such a SPECT component, based on the C-series of SensL SiPM with 3mm pixel size, 4x4 arrays. The 16 output signals of the SiPM array are further reduced to 4 position signals, then amplified and then digitized using free running ADCs. The sampling rate was 40 MHz. A Field Programmable Gate Array (FPGA) Spartan 6 LX150T is used for

triggering and processing of the four digitized position signals. Data are transferred to a standard PC via Ethernet link. The evaluation of the SiPM arrays was performed using a pixilated CsI:Na crystal with dimensions  $1.0 \times 1.0 \times 5.0 \text{ mm}^3$  and a  $\text{Na}^{22}$  source<sup>10</sup>.

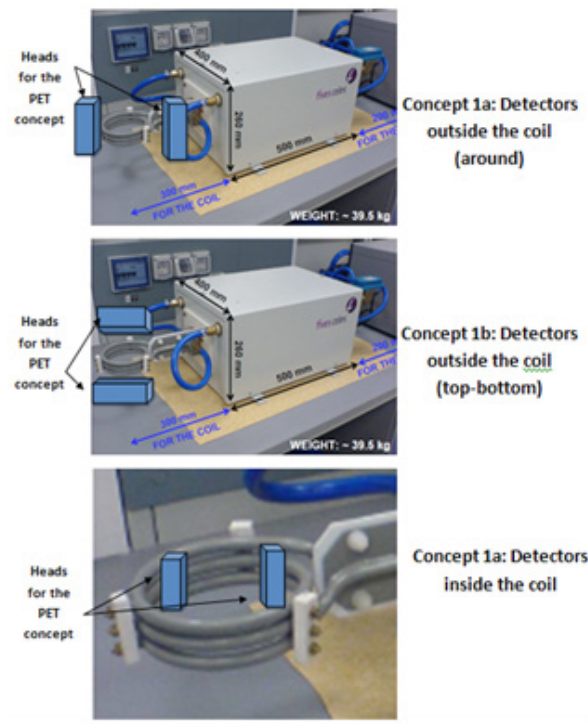
In addition we have tested a PET component, based again on the C-series of SensL SiPM with 3mm pixel size,  $4 \times 4$  arrays. The 16 output signals of the SiPM array are further reduced to 4 position signals through a two-stage charge division resistive network and then amplified then digitized using free running ADCs. The sampling rate was 40 MHz. A Field Programmable Gate Array (FPGA) Spartan 6 LX150T is used for triggering and processing of the four digitized position signals. Data are transferred to a standard PC via Ethernet link. Here, the evaluation of the SiPM arrays was performed using a  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$  GAGG:Ce scintillator and a  $\text{Na}^{22}$  source.

The evaluation of the SiPM arrays in SPECT mode shows that crystals of CsI:Na with dimensions  $1.0 \times 1.0 \text{ mm}$  can be clearly resolved. The best energy resolution was measured equal to 22% under 120keV irradiation for the  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  CsI:Na. The obtained raw images and typical line profiles for the three tested circuits are shown in Figure 5. The evaluation of the PET component with the GAGG:Ce scintillator has shown that all crystal pixels are very clearly identified with a mean peak to valley ratio equal to 40. The measured energy resolution under 511 keV irradiation was equal to 10.5%.

These results, show that it is possible to use the combination of SiPMs and GaGG:Ce, as the basic component of a PET system, which can operate in combination with the magnetic field of the hyperthermia system, as in the geometry suggested in Figure 4. According to our knowledge, this is the first time that SiPMs are tested for such an application, although the development of a full system will require funding in terms of a larger project.

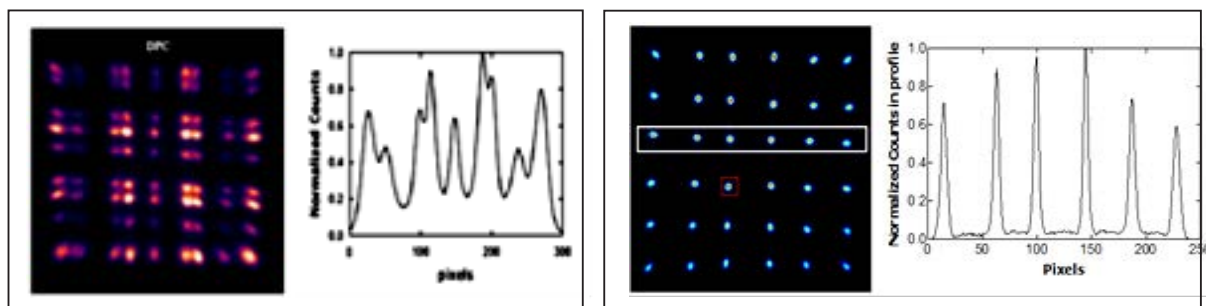
## 5. Discussion and conclusions

The abovementioned original results demonstrate only some of the biomedical engineering challenges in the emerging field of nanoparticle based drug delivery. The focus of this short review is most-



**Figure 4.** Alternative concepts of combining the hyperthermic device and the proposed imaging modules

ly related to the exploitation of nuclear medicine techniques, since this approach has been used by the authors in a number of recent EU and national funded projects with focus on tumor targeting and blood brain barrier crossing ([www.nanother.eu](http://www.nanother.eu), [www.onconanobbb.eu](http://www.onconanobbb.eu)). However, similar considerations and challenges can be subject of a broader review if one considers the combination of microbubbles with ultrasounds<sup>11</sup>, gold nanoparticles and X-ray imaging or radiotherapy<sup>12</sup>, quantum dots and optical imaging<sup>13</sup>, magnetic nanoparticles and Magnetic Resonance Imaging<sup>14</sup>, as well as the emerging fields of photoacoustic imaging<sup>15</sup> and the combination of more than one methods in hybrid technologies. Although there is an on-going debate on the role of nanotechnology in medicine and its efficient translation in clinical practice, there are continuously increasing published results that prove the added value of biomedical engineering in nanomedicine. Deeper understanding of its multidisciplinary nature can enhance the cooperation between engineers, biologists, physicians and chemist and



**Figure 5.** Raw images and horizontal profiles of the 1x1x5 mm<sup>3</sup> CsI:Na scintillator in SPECT mode (left); Raw image of the 6x6 GAGG:Ce scintillator array and a horizontal profile of the central scintillator elements produced under 511keV excitation (right)

maximize the scientific outcomes and the impact of nanomedicine in both diagnosis and therapy.

## 6. Acknowledgment

This research has been co-funded by the European

Union (European Social Fund) and Greek national resources under the framework of the ARISTEIA II project “HYPERGNOSTIC” code 4309 of the “Education & Lifelong Learning” Operational Programme and the 2011-FP7-PEOPLE project OncoNanoBBB (#286089). □

## Οι Προκλήσεις της Βιοϊατρικής Τεχνολογίας στη Στοχευμένη Μεταφορά Φαρμάκων με Χρήση Νανοσωματιδίων

Γιώργος Λούντος<sup>1,2</sup>, Ειρήνη Φραγκογεώργη<sup>2</sup>,  
Mo Alavijeh<sup>3</sup>, Sergey Mikhalevsky<sup>4</sup>,  
Μαρία Γεωργίου<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Τμήμα Βιοϊατρικής Τεχνολογίας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>2</sup> Ινστιτούτο Ινστιτούτο Πυρηνικών & Ραδιολογικών Επιστημών & Τεχνολογίας, Ενέργειας & Ασφάλειας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>3</sup> Pharmidex, London, UK

<sup>4</sup> Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton, UK

<sup>5</sup> Bioemission Technology Solutions, Athens, Greece

## Περίληψη

Η μεταφορά φαρμάκων με νανοσωματίδια θεωρείται ως μία νέα και πολλά υποσχόμενη τεχνολογία για την αποτελεσματική θεραπεία διαφόρων παθήσεων, συμπεριλαμβανομένου (αλλά

όχι μόνο) του καρκίνου. Παρότι η σύνθεση των νανοσωματιδίων προϋποθέτει κυρίως ειδικευση στη χημεία, τόσο η αξιολόγησή τους, όσο και η πλήρης αξιοποίησή τους παρέχουν ένα πεδίο διεπιστημονικής έρευνας, όπου είναι απαραίτητες οι γνώσεις στους τομείς της ιατρικής, βιολογίας, φυσικής και μηχανικής. Τα νανοσωματίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για απεικόνιση, όπου και απαιτείται τεχνογνωσία αναφορικά με την οργανολογία και τα πλεονεκτήματα διαφορετικών απεικονιστικών τεχνικών. Επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη μαγνητικά επαγόμενη υπερθερμία, όπου απαιτείται βελτιστοποίηση του διαθέσιμου σήμερα εξοπλισμού και ακριβής, μη επεμβατική μέτρηση της θερμοκρασίας. Ανάλογα με τις ιδιαίτερες ιδιότητές τους, υπάρχουν διαφορετικοί τρόποι, ώστε να βελτιστοποιηθεί η στόχευση, να μελετηθεί η επίτευξη επαρκούς συγκέντρωσής στο όργανο στόχο, να ενεργοποιηθούν εξωτερικά, να ελεγχθεί και να παρακολουθηθεί η φαρμακευτική αποδέσμευση, καθώς και το θεραπευτικό αποτέλεσμα. Σε όλες αυτές τις διαδικασίες, ο ρόλος της βιοϊατρικής τεχνολογίας



είναι σημαντικός, δεδομένου ότι η αξιοποίηση των φυσικών ιδιοτήτων απαιτεί τη βελτιστοποίηση εργαλείων και οργάνων, τα οποία δεν είχαν αρχικά σχεδιαστεί για εφαρμογή στη νανοϊατρική. Αυτή η νέα προοπτική δεν έχει γίνει ακόμα κατανοητή ή/και δεν έχει εκτιμηθεί από τους μηχανικούς βιοϊατρικής, κυρίως λόγω της περιορισμένης τους αλληλεπίδρασης με το χώρο της νανοϊατρικής. Είναι προφανές ότι η νανοϊατρική μπορεί να ωφεληθεί σημαντικά από τέτοιες βελτιώσεις, οι οποίες θα αναδείξουν περισσότερο τις εκλυστικές και σε κάποιες περιπτώσεις εντυπωσιακές εφαρμογές των νανοσωματιδίων. Αντίστροφα, έχει ήδη

γίνει ξεκάθαρο πως ο χώρος της νανοϊατρικής έχει ανανεώσει πολλούς κλάδους της βιοϊατρικής τεχνολογίας και έχει αποτελέσει κινητήρια δύναμη για την προσέλκυση χρηματοδότησης, δίνοντας ώθηση σε πεδία τα οποία ήταν κορεσμένα από άποψη καινοτομίας.

**ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: Βιοϊατρική τεχνολογία, μοριακή απεικόνιση, νανοϊατρική, προσομοιώσεις, υπερθερμία**

**\* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία:** Γιώργος Λούντος,  
E - mail: gloudos@teiath.gr

## References

1. Loudos G., Kagadis G.C., Psimadas D. Current status and future perspectives of in vivo small animal imaging using radiolabeled nanoparticles. *Eur. J. Radiol.* 78, 287-295, 2011.
2. Thiesen B., Jordan A. Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia. *Int. J. Hyperther.* 24, 467-474, 2008.
3. Xing Y., Zhao J., Conti P.S., Chen K. Radiolabeled Nanoparticles for Multimodality Tumor Imaging. *Theranostics* 4, 290-306, 2014.
4. Psimadas D., Georgoulas P., Valotassiou V., Loudos G. Molecular Nanomedicine towards Cancer: 111In-labeled Nanoparticles. *J.Pharm.Sci.* 101, 2271-2280, 2012.
5. Psimadas D., Bouziotis P., Georgoulas P., Valotassiou V., Tsotakos T., Loudos G. Radiolabeling approaches of nanoparticles with <sup>99m</sup>Tc. *Contrast Media Mol. Imaging*, 8, 333-339, 2013.
6. Georgiou M. "γ-eye: A paradigm shift in scintigraphic mouse imaging", *European Molecular Imaging Meeting*, Utrecht, 8-10 March 2016.
7. Salunkhe A., Khot V.M., Pawar S.H. Magnetic Hyperthermia with Magnetic Nanoparticles: A Status Review. *Curr. Top. Med. Chem.* 14, 572-594, 2014.
8. Roncali E., Cherry S.R. Application of silicon photomultipliers to positron emission tomography, *Ann. Biomed. Eng.* 39, 1358-1377, 2011.
9. Pani R. Pellegrini R., Cinti M. N., Mattioli M., Trotta C., Montani L., Iurlaro G., Trotta G., D'Addio L., Ridolfi S., De Vincentis G., Weinberg I. N. Recent advances and future perspectives of position sensitive PMT. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, 213, 197-205, 2004.
10. David S., Georgiou M., Fysikopoulos E., Loudos G. Comparison of three resistor network division circuits for the readout of 4× 4 pixel SiPM arrays. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* **702**, 121-125, 2012.
11. Ibsen S., Schutt C.E., Esener S. Microbubble-mediated ultrasound therapy: a review of its potential in cancer treatment. *Drug Des. Devel. Ther.* 7, 375-388, 2013.
12. Dreaden E., Alkilany A., Huang X., El-Sayed M.A. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chem. Soc. Rev.* 41, 2740-2779, 2012..
13. Petryayeva E., Algar W. R., Medintz I. L. Quantum Dots in Bioanalysis: A Review of Applications across Various Platforms for Fluorescence Spectroscopy and Imaging", *Appl. Spectrosc.*, 67, 215-252, 2013
14. Garcia J., Tang T., Louie A.Y. Nanoparticle-based multimodal PET/MRI probes. *Nanomedicine*, 10, 1343-1359, 2015.
15. Li K., Liu B. Polymer-encapsulated organic nanoparticles for fluorescence and photoacoustic imaging, *Chem. Soc. Rev.* 43, 6570-6597, 2014.

# Παρασκευή και Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός Λιποσωμάτων με Ενσωματωμένα τα Φλαβονοειδή: Κερκετίνη, Ρουτίνη και Γενιστεΐνη

Ευανθία - Γεωργία Αγγελοπούλου\*\*, Νικολέττα Γιαταγιάνα\*\*,  
Στέλλα Ξηρουδάκη\*\*, Νατάσσα Πίππα, Κώστας Δεμέτζος\*

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, Αθήνα, Ελλάδα

## Περίληψη

Σκοπός της παρούσας εργασίας αποτελεί η ενσωμάτωση των φλαβονοειδών κερκετίνη, ρουτίνη και γενιστεΐνη σε λιποσώματα φωσφολιπιδικής σύστασης υδρογονομένης φωσφατιδυλοχολίνης σόγιας και φωσφατιδυλογλυκερόλης (9:1 μοριακός λόγος) (HSPC/DPPG 9:1) και η σύγκριση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των κενών λιποσωματικών φορέων με λιποσωματικούς φορείς στους οποίους έχουν ενσωματωθεί τα φλαβονοειδή. Η ενσωμάτωση των

φλαβονοειδών πραγματοποιήθηκε σε δύο μοριακές αναλογίες, φλαβονοειδούς προς φωσφολιπίδια. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και η σταθερότητα των λιποσωμάτων μελετήθηκαν με βάση τη DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey and Overbeek) θεωρία. Από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε πως τα λιποσώματα αποτελούν ιδανική τεχνολογική πλατφόρμα για μορφοποίηση και περαιτέρω ανάπτυξη καινοτόμων φαρμακοτεχνολογικών προϊόντων.

**ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ:** Λιποσώματα, κερκετίνη, ρουτίνη, γενιστεΐνη

## 1. Εισαγωγή

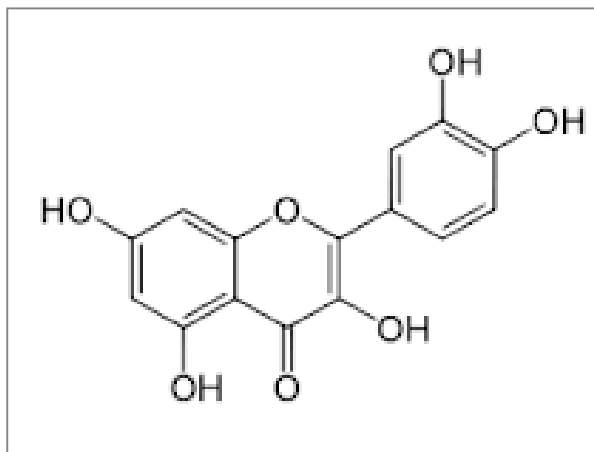
### 1.1. Κερκετίνη

Η κερκετίνη (Σχήμα 1) ανήκει στην κατηγορία των φλαβονοειδών, δηλαδή στις πολυφαινόλικές ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους που αποτελούνται από το σκελετό του φλαβανίου (φαινυλο - 2 - χρωμάνιο). Συγκεκριμένα, η κερκετίνη ανήκει στις φλαβονόλες. Στο Σχήμα 1 παρουσιάζ-

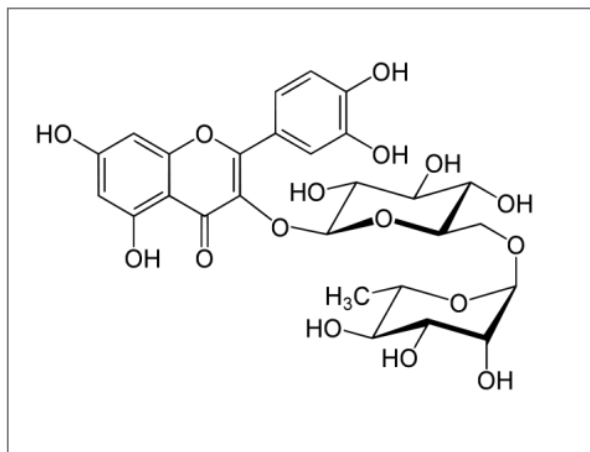
ζεται η χημική δομή της κερκετίνης. Η κερκετίνη [(3,3',4',5,7 πενταϋδροξυφλαβόνη)] είναι ένα από τα φλαβονοειδή που απαντάται σε φρούτα και λαχανικά. Στα φυτά είναι παρούσα κυρίως στα φύλλα και σε άλλα μέρη του φυτού είτε ως άγλυκο είτε με τη μορφή γλυκοσιδίων στους οποίους ένα ή και περισσότερα σάκχαρα είναι συνδεδεμένα στις υδροξυλομάδες του σκελετού της μέσω σχηματισμού γλυκοζιτικού δεσμού. Συγκεκριμένα

\* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία: Κώστας Δεμέτζος, E - mail: demetzos@pharm.uoa.gr

\*\* Ιση συμμετοχή στην εργασία



Σχήμα 1. Η χημική δομή της κερκετίνης



Σχήμα 2. Η χημική δομή της ρουτίνης

να, στους γλυκοσίδες της κερκετίνης, το σάκχαρο είναι συνδεδεμένο στο 3 - OH του δακτυλίου του χρωμανίου. Μία σημαντική ποσότητα της ισοκερκετίνης (3β - O - γλυκοσίδης της κερκετίνης) έχει ανιχνευθεί στα μήλα και τη φλούδα των αχλαδιών καθώς και στα φύλλα και τα άνθη του φυτού *Hypericum perforatum* (βάλσαμο ή σπαθόχορτο). Περισσότεροι από 180 διαφορετικοί γλυκοσίδες έχουν βρεθεί στη φύση με το σάκχαρο ρουτινόση (6 - O - α - L - rhamnosyl - D - glucose), ενώ ο γλυκοσίδης της κερκετίνης δηλ. ο 3 - O - ρουτινοσίδης της κερκετίνης είναι ο πιο κοινός.<sup>1</sup>

Παρόλο που η κερκετίνη είναι το φλαβονοειδές που έχει μελετηθεί ευρύτατα καθώς είναι το πιο άφθονο στην ανθρώπινη διατροφή, οι γνώσεις μας σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητά της - δεδομένου μάλιστα ότι μεταβολίζεται ταχέως - και τα πιθανά όργανα - στόχους είναι περιορισμένες. Οι γλυκοσίδες των φλαβονοειδών έχουν μικρή βιοδιαθεσιμότητα καθώς η παρουσία του σακχάρου αυξάνει την υδροφιλία των μορίων. Από την άλλη πλευρά, τα άγλυκα τμήματα των φλαβονοειδών μπορούν και περνούν αποτελεσματικά το εντερικό τοίχωμα. Ωστόσο, τα φλαβονοειδή βρίσκονται πολύ σπάνια υπό τη μορφή του άγλυκου στα φυτά. Επομένως, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι το κόλον διαθέτει μικροοργανισμούς που έχουν την ικανότητα να υδρολύουν το γλυκοζιτικό δεσμό απελευθερώνοντας το βιολογικώς ενεργό άγλυκο μόριο. Στη συνέχεια, το άγλυκο απορροφάται

από το παχύ έντερο με ευκολία χάρη στη λιποφιλία του και στη συνέχεια μεταβολίζεται στο ήπαρ μέσω O - μεθυλίωσης, γλυκουρονίωσης ή/και σουλφονυλίωσης.<sup>2</sup>

Η κερκετίνη αποτελεί έναν ισχυρό αντιοξειδωτικό παράγοντα καθώς θεωρείται εκκαθαριστής ελευθέρων ριζών αλλά και λόγω της ικανότητάς της να δεσμεύει ιόντα μετάλλων μετάπτωσης. Αυτές οι ιδιότητες που διαθέτει αυτό το φλαβονοειδές έχουν ως αποτέλεσμα την αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης - διαδικασία κατά την οποία ακόρεστα λιπαρά οξέα μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες. Συνεπώς, η κερκετίνη αντιδρώντας με τις ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται και δεσμεύοντας τα ιόντα μετάλλων μετάπτωσης μπορεί να δράσει προστατευτικά σε ποικίλες νόσους.<sup>3 - 5</sup>

## 1.2. Ρουτίνη

Η ρουτίνη (Σχήμα 2) απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1930 από τα πορτοκάλια. Εκείνη την εποχή θεωρήθηκε πως ήταν μέλος μια νέας τάξης βιταμινών και χαρακτηρίστηκε ως Βιταμίνη P λόγω της συνεισφοράς της στη βελτίωση της διαπερατότητας των αγγείων (Permeability). Αργότερα, έγινε σαφές πως η ουσία αυτή ανήκε στην κατηγορία των φλαβονοειδών.<sup>6</sup>

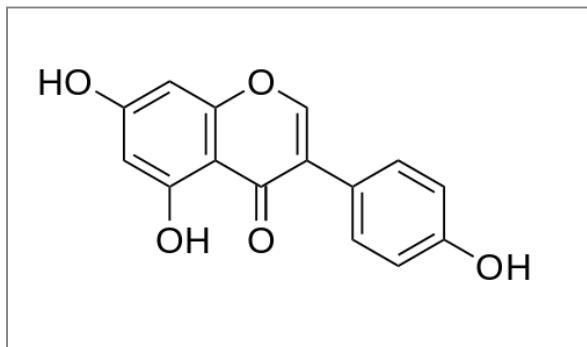
Η ρουτίνη είναι ένα πολυφαινολικό βιοφλαβονοειδές (φλαβονόλη) και έχει να επιδείξει ένα

ευρύ φάσμα φαρμακολογικών εφαρμογών λόγω των σημαντικών αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων της. Συνήθως χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακός, αντιμυκητιασικός και αντιαλλεργικός παράγοντας. Ωστόσο, νεότερες έρευνες έχουν αναδείξει τα φαρμακολογικά οφέλη στη θεραπεία ποικίλων χρόνιων ασθενειών όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, η υπέρταση και η υπερχοληστερολαιμία. Ακόμα, μελέτες που εμφανίζονται πολύ συχνά τα τελευταία χρόνια στη δημοσιότητα, αναδεικνύουν το αυξανόμενο ενδιαφέρον των επιστημόνων για την εφαρμογή της ρουτίνης στο θεραπευτικό σχήμα ασθενειών όπως η πορφυρική δερματοπάθεια, το άσθμα και η ελκώδης κολίτιδα καθώς και για τη συμβολή της στον περιορισμό των ανεπιθύμητων ενεργειών φαρμάκων με τα οποία μπορεί να συγχορηγηθεί (πχ. παιδιατρικά αναισθητικά, οξαλιπλατίνη) ή στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητάς τους (πχ. ραδιενεργό ιώδιο, πακλιταξέλη). Η χρήση της έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων φλαβονοειδών καθώς είναι μη τοξική ένωση.<sup>7</sup> Βρίσκεται ευρέως στο φαγόπυρο, το μαύρο τσάι, και τα εσπεριδοειδή. Το όνομά της προέρχεται από το φυτό *Ruta graveolens* L. (απήγανος), στο οποίο επίσης βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις.<sup>8</sup> Η ρουτίνη, ως γλυκοσίδη είναι διαλυτή σε μεθανόλη.

Κατά την λήψη *per os* η απορόφηση της θα γίνει μετά την υδρόλυση της στο παχύ έντερο από τους μικροοργανισμούς της εντερικής χλωρίδας. Ταυτόχρονα ωστόσο, τα βακτήρια του παχέος εντέρου αποικοδομούν τα απελευθερωμένα άγλυκα και αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη φτωχή βιοδιαθεσιμότητά τους.

Συνεπώς η ανάπτυξη ημισυνθετικών υδατοδιαλυτών παραγώγων της ρουτίνης πχ. υδροξυαιθυλορουτοσίδες, έχει οδηγήσει στην επιτυχημένη χρήση των παραγώγων της ρουτίνης για τη θεραπεία μικροαιμορραγιών.

Η ρουτίνη κυκλοφορεί στην Ελλάδα ως φάρμακο μόνο υπό μορφή οξερουτινών και συγκεκριμένα τροξερουτίνης, ενός συνθετικού υδροξυαιθυλο παραγώγου της ρουτίνης με την εμπορική ονομασία Venoruton® με κύρια ένδειξη την ανακούφιση από οίδημα και σχετιζόμενα συμπτώματα χρόνιας φλεβικής ανεπάρκειας.



Σχήμα 3. Η χημική δομή της γενιστεΐνης

### 1.3. Γενιστεΐνη

Η γενιστεΐνη (Σχήμα 3) είναι το πλέον ευρέως διαδεδομένο φυτοοιστρογόνο, γνωστό κατά κύριο λόγο για τις αντικαρκινικές του ιδιότητες, που απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1899, μετά από ξήρανση των κλαδιών, από το ομώνυμο φυτό *Genista tinctoria* (στα Λατινικά η σκούπα) της οικογένειας Leguminosae, ενώ η χημική του σύνθεση έγινε για πρώτη φορά το 1928.<sup>9</sup> Το φλαβονοειδές αυτό βρίσκεται σε αφθονία στη σόγια (*Glycine max* L. Merrill, Fabaceae), σε μεγάλες συγκεντρώσεις της τάξεως του 1,5 mg/g σε ξηρά δρόγη, ενώ εντοπίζεται και σε άλλα είδη φυτού της οικογένειας Fabaceae, όπως είναι η φάβα (*Vicia faba*), το kudzu (*Pueraria lobata*), η αγριάδα (lupine, *Lupinus* spp.) και η ψωραλέα (*Psoralea cordifolia*).<sup>10</sup> Είναι πολυφαινολική, μη στεροειδούς δομής, χημική ένωση, με σκελετό χρωμόνης, με ανάλογη βιολογική δράση (αγωνιστική ή ανταγωνιστική) με αυτή των φυσικών οιστρογόνων, καθώς η δομή της προσομοιάζει σε αυτήν της 17β - οιστραδιόλης, και της επιτρέπει να συμπλέκεται με τους οιστρογονικούς υποδοχείς. Είναι διαλυτή σε χλωροφόρμιο:μεθανόλη 1:1, με χρώμα υποκίτρινο/υπόλευκο, σε DMSO, σε ακετόνη εν θερμώ, πυριδίνη, ενώ είναι ελάχιστα διαλυτή σε καυτό νερό, και αδιάλυτη σε κρύο νερό. Ανήκει στην κατηγορία των ισοφλαβονών, τα οποία παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα λόγω της βιοδιαθεσιμότητας, της βιοσυμβατότητας, της βιοαποικοδομησιμότητας, της βρωσιμότητάς τους, αλλά και της χαμηλής τοξικότητάς τους.



Οι επιστήμονες έχουν δείξει μεγάλο ενδιαφέρον και ζήλο όσον αφορά την ευεργετική δράση της γενιστεΐνης, καθώς η τελευταία αποτελεί καινοτομία στην εξέλιξη διαφόρων θεραπειών, με προτεραιότητα τη θεραπεία κατά του καρκίνου, την καρδιοπροστατευτική δράση, τη μείωση της οστικής απώλειας (με αναστολή της οστεοκλαστογένεσης), και την εναλλακτική ορμονολογική θεραπεία κατά την εμμηνόπαυση. Υποστηρίζεται ότι είναι αποτελεσματικό φάρμακο έναντι του καρκίνου του μαστού, των ωοθηκών και του προστάτη, του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, του παγκρέατος και των αδενοκαρκινωμάτων και λεμφωμάτων. Εκτός από την οιστρογόνο - μιμητική δράση, η γενιστεΐνη εμφανίζει ανασταλτική δράση για τις κινάσες της τυροσίνης, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, ινσουλινο - μιμητική δράση, ενώ ταυτόχρονα διαμορφώνει πολλά σηματοδοτικά μονοπάτια που συμμετέχουν σε κυτταρικές λειτουργίες, οι οποίες σχετίζονται με αποπτωτικούς μηχανισμούς, πολλαπλασιασμό ή διαφοροποίησή τους.<sup>11</sup> Επιπλέον, η γενιστεΐνη εμπλέκεται στη διαφοροποίηση του γενετικού υλικού, είτε με μεθυλίωση του DNA, είτε με ακετυλίωση των ιστονών, άμεσα, ή έμμεσα, μέσω ενεργειών επί των οιστρογονικών υποδοχέων.<sup>10</sup> Μπορεί ακόμη να υπάρξει σημαντική αλληλεπίδραση με το tRNA και με τα microRNAs (miRNAs), τα οποία αποτελούν μη κωδικοποιημένες μορφές του RNA, ενώ η στόχευση τους αποτελεί μια νέα θεραπευτική προσέγγιση σύμφωνα με την κινεζική ιατρική, ειδικά όταν γίνεται με συνδυασμό με συμβατικά θεραπευτικά σχήματα.<sup>12</sup> Σε αυτές τις ενέργειες βασίζονται όλοι οι μηχανισμοί φαρμακολογικής δράσης της γενιστεΐνης. Αξίζει να αναφερθεί ότι η αντιοξειδωτική της ικανότητα, σε συνδυασμό με την εμπλοκή της σε διαφορά βιοχημικά μονοπάτια, οδηγούν σε ραδιοπροστατευτική δράση με χορήγηση του φλαβονοειδούς. Λόγω αυτής της ικανότητας, δημιουργήθηκαν καινοτόμα επιδερμικά νανοσκευάσματα, με την επωνυμία Gen - Tocomin®, τα οποία είναι πλούσια σε βιταμίνη E και ενσωματωμένη γενιστεΐνη. Διαθέτουν στοχευμένη, στο επιθηλιακό στρώμα του δέρματος, χημειοπροστατευτική δράση, με τροποποίηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων της κυτταρι-

κής μεμβράνης των επιδερμικών κυττάρων, ενώ η γενιστεΐνη δρα ως αναστολέας της κινάσης της τυροσίνης. Έχουν πραγματοποιηθεί κλινικές μελέτες για τη δραστηριότητα, την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα αυτού του σκευάσματος, ωστόσο δεν διατίθενται ακόμη στο εμπόριο.<sup>13</sup>

Οι ευεργετικές επιδράσεις της γενιστεΐνης καλύπτουν ένα ευρύ θεραπευτικό πεδίο, ωστόσο χρειάζεται μεγάλη προσοχή στη δοσολογία των χορηγούμενων ορμονών, δηλαδή της γενιστεΐνης, ή και των φυσικών οιστρογόνων, διότι οι ορμονολογικές μεταβολές μπορεί να μην είναι ομοιόμορφες και να υπάρξουν αρνητικές επιπτώσεις με τη χορήγησή τους.<sup>14</sup>

Σκοπός της παρούσας εργασίας αποτελεί η ενσωμάτωση των φλαβονοειδών κερκετίνη, ρουτίνη και γενιστεΐνη σε λιποσώματα φωσφολιπιδικής σύστασης υδρογονομένης φωσφατιδυλοχολίνης σόγιας και φωσφατιδυλογλυκερόλης (9:1 μοριακός λόγος) (HSPC/DPPG 9:1) και η σύγκριση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των κενών λιποσωματικών φορέων με λιποσωματικούς φορείς στους οποίους έχουν ενσωματωθεί τα φλαβονοειδή.

## 2. Υλικά και Μέθοδοι

### 2.1. Υλικά

Τα λιπίδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η υδρογονομένη φωσφατιδυλοχολίνη σόγιας (HSPC) και η φωσφατιδυλογλυκερόλη (DPPC) (Avanti Lipids). Όλοι οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν HPLC καθαρότητας.

### 2.2. Παρασκευή Λιποσωμάτων

Η παρασκευή των λιποσωμάτων με ενσωματωμένα τα φλαβονοειδή πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο του λεπτού λιπιδικού υμενίου, όπως αναφέρεται στις προηγούμενες δημοσιεύσεις μας.<sup>15,16</sup>

### 2.3. Δυναμική και Ηλεκτροφορετική Σκέδαση Φωτός

Σωματίδια μεγέθους από 1 - 5000nm μπορούν να μετρηθούν με τη μέθοδο φασματοσκοπί-

ας συσχετισμού φωτονίων (photon correlation spectroscopy – PCS). Ένα από τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων είναι ότι βρίσκονται σε συνεχή τυχαία θερμική κίνηση (κίνηση Brown). Αυτή η κίνηση έχει ως αποτέλεσμα η ένταση του σκεδαζόμενου από τα σωματίδια φωτός να σχηματίζει ένα μοντέλο κινούμενου στίγματος. Αυτή η κινητικότητα ανιχνεύεται ως αλλαγή της έντασης σε σχέση με το χρόνο, από έναν ανιχνευτή και έναν φωτοπολλαπλασιαστή. Τα μεγάλα σωματίδια κινούνται πιο αργά από τα μικρά και συνεπώς ο ρυθμός της διακύμανσης του σκεδαζόμενου φωτός είναι πιο βραδύς. Η φασματοσκοπία συσχετισμού φωτονίων χρησιμοποιεί το ρυθμό μεταβολής των διακυμάνσεων του φωτός για να προσδιορίσει την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων που προκαλούν το σκεδασμό του φωτός.

Στο όργανο αυτό η παραγωγή της δέσμης του εκπεμπόμενου φωτός γίνεται από λυχνία He - Ne και το μήκος κύματος του φωτός είναι 633nm. Η ακτινοβολία προσπίπτει στα σωματίδια (π.χ. λιποσώματα), σκεδάζεται και στη συνέχεια, τα σκεδαζόμενα φωτόνια ανιχνεύονται από έναν φωτοπολλαπλασιαστή. Στο λογισμικό του οργάνου υπάρχει πρόγραμμα αλγορίθμων που επεξεργάζεται τις μεταβολές της έντασης του σκεδαζόμενου φωτός και καταλήγει στην κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων που περιέχονται στο δείγμα. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένη μαθηματική ανάλυση, η οποία συνίσταται από την ISO 13321 διεθνή μέθοδο, προκύπτει και ο μέσος όρος των μεγεθών. Κατά τις μετρήσεις αυτές το μέγεθος ορίζεται η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων – λιποσωμάτων, ενώ ως δείκτης διασποράς το εύρος κατανομής. Το ζ - δυναμικό των σωματιδίων που μετρά το όργανο είναι το ζ - δυναμικό της επιφάνειας κάλυψης του σωματιδίου που δημιουργείται μεταξύ του φορτίου του σωματιδίου και του μέσου, και όχι το φορτίο επιφάνειας του σωματιδίου.

#### Εφαρμογή του δείγματος

Το δείγμα αραιώνεται με H<sub>2</sub>O HPLC καθαρότητας διηθημένο (από φίλτρο Millipore με διάμετρο πόρων 200nm) και

α) μεταφέρεται σε κυψελίδα μιας χρήσης από

πολυστυρένιο. Αυτή τοποθετείται σε ειδική υποδοχή του οργάνου, η οποία κλείνει με καπάκι ώστε να μην διαχέεται το σκεδαζόμενο φως και μετράται το μέγεθος

β) ενίεται με σταθερό ρυθμό στην ειδική υποδοχή του οργάνου, προς αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων που θα εμπόδιζαν τη σωστή μέτρηση του ζ - δυναμικού, που οδηγεί το λιποσωματικό εναιώρημα στην εσωτερική κυψελίδα του οργάνου και μετράται τα ζ - δυναμικό

### **3. Αποτελέσματα και συζήτηση**

Το μέγεθος (μέση υδροδυναμική διάμετρος  $D_h$ ), ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) και το ζ - δυναμικό (Z - potential) των λιποσωμάτων με ενσωματωμένη την κερκετίνη παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Με την προσθήκη της κερκετίνης, το μέγεθος των σωματιδίων αυξήθηκε κατά 171 νανόμετρα στο λιποσωματικό εναιώρημα σύστασης HSPC:DPPG:quercetin 9:1:1 ενώ κατά 303,1 nm στο λιποσωματικό εναιώρημα σύστασης HSPC:DPPG:quercetin 9:1:2. Ενώ, λοιπόν, το μέγεθος των σωματιδίων αυξήθηκε κατά 4 φορές, το εναιώρημα 9:1:2 την ημέρα παρασκευής φάνηκε να είναι πολύ πιο σταθερό από το 9:1:1 με το δείκτη πολυδιασποράς για το πρώτο να είναι 0,737 ενώ για το δεύτερο 1. Όσον αφορά στο λιποσωματικό εναιώρημα σύστασης 9:1:1, η τιμή 1 του P.D.I αποδεικνύει ότι η εισαγωγή της κερκετίνης σε ίση μοριακή αναλογία με το λιπίδιο DPPG οδηγεί σε ένα πλήρως ασταθές σύστημα, όπου οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των σωματιδίων υπερτερούν των απωστικών, οδηγώντας το σε κατάρρευση. Τέλος, το ζ - δυναμικό μειώθηκε κατά απόλυτη τιμή και στα δύο εναιωρήματα με την ενσωματωμένη στη λιπιδική διπόστοιβάδα κερκετίνη σε φυσιολογικά όμως επίπεδα.

Το μέγεθος (μέση υδροδυναμική διάμετρος  $D_h$ ), ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) και το ζ - δυναμικό (ζ - potential) των λιποσωμάτων με ενσωματωμένη τη ρουτίνη παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Τα λιποσώματα σύστασης HSPC:DPPG (9:1 μοριακός λόγος) που παρασκευάστηκαν ήταν όλα μικρά μονοστοιβαδικά (SUVs) με μέση υδροδυναμική διάμετρο  $91,8 \pm 0,4$  nm την ημέρα της

**Πίνακας 1. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμακίων συστημάτων κενών και με εγκλωβισμένη κερκετίνη**

Σύστημα	Dh(nm)	SD	PDI	SD	Z-potential	SD
HSPC:DPPG (9:1 molar ratio)	82.3	0.8	0.285	0.018	-34.8	4.5
HSPC:DPPG:quercetin (9:1:1molar ratio)	253.4	0.9	1.000	0.000	-27.8	3.9
HSPC:DPPG:quercetin (9:1:2molar ratio)	385.4	<b>11.2</b>	0.737	0.005	-23.5	8.3

**Πίνακας 2. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμακίων συστημάτων κενών και με εγκλωβισμένη ρουτίνη**

Σύστημα	Dh(nm)	SD	PDI	SD	Z-potential	SD
HSPC:DPPG:Rutin 9:1 molar ratio	91.8	0.4	0.305	0.009	-41.8	4.6
HSPC:DPPG:Rutin 9:1:1 molar ratio	171.3	20.1	0.897	0.138	-43.1	3.8
HSPC:DPPG:Rutin 9:1:2 molar ratio	186.4	32.7	0.711	0.115	-21.2	4.9

**Πίνακας 3. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμακίων συστημάτων κενών και με εγκλωβισμένη γενιστεΐνη**

Σύστημα	Dh(nm)	SD	PDI	SD	Z-potential	SD
HSPC:DPPG (9:1 molar ratio)	82.9	0.3	0.275	0.005	-48.5	2.9
HSPC:DPPG:genistein (9:1:1molar ratio)	376.4	326.7	0.903	0.167	-33.5	10.8
HSPC:DPPG:genistein (9:1:2molar ratio)	606.2	322.7	1.000	0.000	-14.8	8.2

παρασκευής τους. Ο δείκτης πολυδιασποράς, ως το μέτρο κατανομής των μεγεθών γύρω από τη μέση υδροδυναμική διάμετρο την ημέρα της παρασκευής τους ήταν  $0,305 \pm 0,009$  ενώ το ζ - δυναμικό ήταν  $-41,8 \pm 4,6$  (ισχυρές ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των σωματιδίων). Τα λιποσώματα σύστασης HSPC:DPPG:Rutin (9:1:1 μοριακός λόγος) που παρασκευάστηκαν ήταν μεγάλα μονοστοιβαδικά (LUVs) με μέση υδροδυναμική διάμετρο  $171,3 \pm 20,1 \text{ nm}$  την ημέρα της παρασκευής τους. Ο δείκτης πολυδιασποράς, ως το μέτρο κατανομής των μεγεθών γύρω από τη μέση υδρο-

δυναμική διάμετρο την ημέρα της παρασκευής τους ήταν  $0,897 \pm 0,138$  ενώ το ζ - δυναμικό ήταν  $-43,1 \pm 3,8$  (ισχυρές ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των σωματιδίων). Επιπρόσθετα, τα λιποσώματα σύστασης HSPC:DPPG:Rutin (9:1:2μοριακός λόγος) που παρασκευάστηκαν ήταν μεγάλα μονοστοιβαδικά (LUVs) με μέση υδροδυναμική διάμετρο  $186,4 \pm 32,7 \text{ nm}$  την ημέρα της παρασκευής τους. Ο δείκτης πολυδιασποράς, ως το μέτρο κατανομής των μεγεθών γύρω από τη μέση υδροδυναμική διάμετρο την ημέρα της παρασκευής τους ήταν  $0,711 \pm 0,115$  ενώ το ζ - δυναμικό ήταν -

21,2±4,9 (πιο ασθενείς ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των σωματιδίων).

Το μέγεθος (μέση υδροδυναμική διάμετρος Dh), ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) και το ζ - δυναμικό (Z - potential) των λιποσωμάτων με ενσωματωμένη της γενιστεΐνης παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Την ημέρα παρασκευής των λιποσωματικών φορέων παρατηρείται στατιστικά σημαντική, αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων με την ενσωμάτωση της γενιστεΐνης, και ειδικότερα διπλασιασμός του μεγέθους όταν διπλασιάζεται η ποσότητα του φλαβονοειδούς. Όσον αφορά το δείκτη πολυδιασποράς των κενών λιποσωματικών σχηματισμών, είναι πολύ ικανοποιητικός, καθώς τείνει στο μηδέν, γεγονός το οποίο εκφράζει την ομοιογένεια του εναιωρήματος. Αντιθέτως, οι τιμές των συστημάτων των λιποσωματικών σχηματισμών με την ενσωματωμένη γενιστεΐνη τείνει στο 1, εκφράζοντας έτσι την πλήρη ανομοιογένεια των συστημάτων, που συνεπάγεται την αστάθειά τους Συγκρίνοντας τις τιμές των τριών συστημάτων, παρατηρείται μια φθίνουσα πορεία του ζ - δυναμικού κατά την ενσωμάτωση ποσότητας φλαβονοειδούς, καθώς μειώνεται, κατά απόλυτη τιμή, περίπου στο ένα τέταρτο έπειτα από ενσωμάτωση γενιστεΐνης σε μοριακές αναλογίες 1:1 και 1:2. Πιο αναλυτικά, το ζ - δυναμικό των κενών λιποσωματικών φορέων μετράται σε τιμή πολύ ικανοποιητική, που δηλώνει τη μέγιστη σταθερότητα του συστήματος (> - 30 mV). Με την ενσωμάτωση γενιστεΐνης κατά μοριακή αναλογία 1:1, παρατηρείται μικρή μείωση του δυναμικού κατά 15 mV κατά απόλυτη τιμή, η οποία δεν επηρεάζει ιδιαίτερα τη σταθερότητα του συστήματος. Άρα, τα δύο συστήματα είναι εξίσου σταθερά. Ωστόσο, με την παρασκευή λιποσωματικών φορέων με ενσωματωμένη τη διπλάσια ποσότητα γενιστεΐνης, σημειώνεται αξιόλογη μείωση της απόλυτης τιμής του ζ - δυναμικού, κατά περίπου στο ήμισυ της τιμής του συστήματος 1:1. Ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης της ισοφλαβόνης οδηγεί λοιπόν σε υποδιπλασιασμό του ζ - δυναμικού, που σημαίνει ότι η ελάττωση της τιμής της παραμέτρου είναι στοιχειομετρική, και συνεπώς ότι η σταθερότητα του συστήματος επηρεάζεται σημαντικά από τη μοριακή αναλογία του φαρμακομορίου. Το σύστημα 1:2, καθότι έχει πολύ χαμηλό, κατά απόλυτη

τιμή, ζ - δυναμικό, έχει οδηγηθεί εξαρχής σε κατάρρευση και καθίσταται ακατάλληλο για χρήση.

#### 4. Συμπεράσματα

Ύστερα από τη διεξαγωγή των πειραμάτων για την παρασκευή των λιποσωματικών εναιωρημάτων σύστασης DPPG:HSPC:quercetin καθώς και για τη μέτρηση των φυσικοχημικών τους χαρακτηριστικών, έγινε αντιληπτό ότι αυτό που περιέχει την ενσωματωμένη στη λιπιδική διπλοστοιβάδα κερκετίνη σε διπλάσια μοριακή αναλογία από το DPPG (9:1:2), είναι σταθερό. Επομένως, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι σε αυτή την αναλογία, οι απωστικές δυνάμεις υπερτερούν των ελκτικών (θεωρία DLVO) με αποτέλεσμα αφενός την αποφυγή καθίζησης και αφετέρου την ύπαρξη ομοιογένειας μεταξύ των σωματιδίων.<sup>17,18</sup> Τα αποτελέσματα της μελέτης της ενσωμάτωσης της ρουτίνης στα λιποσώματα έδειξαν πως η μοριακή αναλογία HSPC:DPPG:Rutin (9:1:2) προσέδωσε σταθερότητα στο σύστημα (μείωση της τάσης συσσωμάτωσης των σωματιδίων και αύξηση της ομοιογένειας των μεγεθών τους), σε αντίθεση με την αναλογία (9:1:1). Αυτό εξηγείται με χρήση της επέκτασης της θεωρίας DLVO (απωστικές δυνάμεις ενυδάτωσης στο 9:1:2 και ελκτικές στο 9:1:1).<sup>19,20</sup> Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι με την ενσωμάτωση του αμφίφιλου μορίου της γενιστεΐνης στη λιπιδική μεμβράνη των λιποσωμάτων μεταβάλλονται τόσο οι ιδιότητες αυτής όσο και εκείνες του φαρμακομορίου, οδηγώντας τα συστήματα σε κατάρρευση. Γνωρίζοντας τις μεταβολές αυτές, είναι φανερό ότι απαιτείται ορθολογικός σχεδιασμός των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης βιοδραστικών φαρμακομορίων, τα οποία να είναι αποτελεσματικά ως φορείς μεταφοράς ή και στόχευσης, να διατηρούν τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα του φαρμακομορίου, να βελτιώνουν τις φαρμακοκινητικές του παραμέτρους καθώς και τη βιοδιαθεσιμότητά του, και να ελαττώνουν την τοξικότητά του. Κλείνοντας και συνοψίζοντας όλα τα παραπάνω, φαίνεται ότι τα λιποσώματα αποτελούν μία τεχνολογική πλατφόρμα για την ενσωμάτωση φλαβονοειδών ιδανική για περαιτέρω ανάπτυξη μίας τεχνολογικής μορφής (κρέμας, γέλης, κ.ά.). □



## Preparation and Physicochemical Characterization of Liposomes incorporating Flavonoids (Quercetin, Rutin and Genistein)

**Evanthia - Georgia Angelopoulou\*\*, Nicoletta Giatagana\*\*, Stella Xiroudaki\*\*, Natassa Pippa, Costas Demetzos\***

*Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece*

### Summary

The purpose of this work is the investigation of the incorporation of flavonoids (quercetin, rutin and genistein) into liposomes composed of L- $\alpha$ -phosphatidylcholine, hydrogenated (soy)

and Dipalmitoylphosphatidylglycerol (9:1 molar ratio) and the comparison of the physicochemical characteristics of empty liposomal vectors with the liposomes incorporating these bioactive compounds. The incorporation of the flavonoids was performed at two different molar ratios. The physicochemical characteristics and the stability (ageing) studies were discussed in the basis of DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey and Overbeek) theory. Finally, we conclude that liposomes are ideal technological platforms for further design and development of technological forms for these flavonoids.

**KEY WORDS:** Liposomes; quercetin; rutin; genistein

**\*Author for correspondence:**

Costas Demetzos,

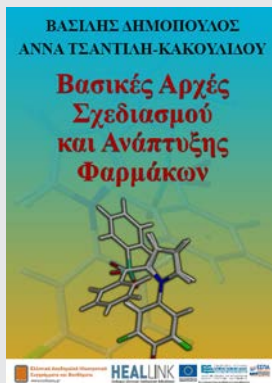
Email: demetzos@pharm.uoa.gr

**\*\* Equal contribution to this work.**

## Βιβλιογραφία

1. Wach A., Pyrzynska K., Biesaga M. Quercetin content in some food and herbal samples. *Food Chemistry* 100, 699 - 704, 2007.
2. Bentz A. B. A review of quercetin: chemistry, antioxidant properties and bioavailability. *J. Young Investig.* 19, 2009.
3. Graf B., Milbury P., Blumberg J. Flavonols, flavones, flavanones and human health: epidemiological evidence. *J. Med. Food* 8, 281 - 290, 2005.
4. Mubeen Ansari A., Hafiz M., Gururaj J., Wycliffe O. Protective effect of quercetin in primary neurons against A $\beta$ (1 - 42) relevance to Alzheimer's disease. *J. Nutr. Biochem.* 20, 269 - 275, 2009.
5. Sakanashi Y., Oyama Y., Matsui H., Oyama T., Nishimura Y., Sakai H., Oyama Y. Possible use of quercetin, an antioxidant, for protection of cells suffering from overload of intracellular Ca $^{2+}$ : a model experiment. *Life Sci.* 83, 164 - 169, 2008.
6. Kumar K.K., Priyanka L., Gnananath K., Babu P.R., Sujatha S., Pharmacokinetic drug interactions between apigenin, rutin and paclitaxel mediated by P - glycoprotein in rats. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 40, 267 - 276, 2014.
7. Sharma S., Ali A., Ali J., Sahni J.K., Baboota S., Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opin. Invest. Drugs* 22, 1063 - 1079, 2013.
8. Salvamani S., Gunasekaran B., Shaharuddin N.A., Ahmad S.A., Shukor M.Y. Antiatherosclerotic effects of plant flavonoids. *BioMed Research International* 2014, 1 - 11, 2014.
9. Gali - Muhtasib, H., Hmadi, R., Kareh, M., Tohme, R., Darwiche, N. Cell death mechanisms of plant - derived anticancer drugs: beyond apoptosis. *Apoptosis* 20, 1531 - 62, 2015.
10. Aprotosoaie, A.C., Trifan, A., Gille, E., Petreus, T.,

- Bordeianu, G., Miron, A. Can phytochemicals be a bridge to develop new radioprotective agents. *Phytochem Rev.* 14, 555 - 566, 2014.
11. Petric, R.C., Braicu, C., Raduly, L., Zanoaga, O., Dragos, N., Monroig, P., Dumitrascu, D., Berindan - Neagoe, I. Phytochemicals modulate carcinogenic signaling pathways in breast and hormone - related cancers. *OncoTargets and Therapy* 8, 2053 - 2066, 2015.
  12. Hong, M., Wang, N., Yue Tan, H., Tsao, S.W., Feng, Y., MicroRNAs and Chinese Medicinal Herbs: New Possibilities in Cancer Therapy. *Cancers* 7, 1649 - 1657, 2015.
  13. Brownlow B., Nagaraj V.J., Nayel, A., Joshi M., Elbayoumi T. Development and In Vitro Evaluation of Vitamin E - Enriched Nanoemulsion Vehicles Loaded with Genistein for Chemoprevention Against UVB - Induced Skin Damage. *J. Pharm. Sci.* 104, 3510 - 23, 2015.
  14. Korol D.L., Pisani S.L. Estrogens and cognition: Friends or foes? An evaluation of the opposing effects of estrogens on learning and memory. *Horm. Behav.* 74, 105 - 115, 2015.
  15. Pippa N., Hatziantoniou S., Mourelatou E.A., Amaro - Luis J. M., Villalobos - Osorio D., Demetzos C. Preparation and Thermal Behavior of Liposomal Nanoparticles Incorporating Bioactive Labdane Epimers. *Adv. Sci. Lett.* 16, 336 - 341, 2012.
  16. Goniotaki M., Hatziantoniou S., Dimas K., Wagner M., Demetzos C. Encapsulation of naturally occurring flavonoids into liposomes: physicochemical properties and biological activity against human cancer cell lines. *J. Pharm. Pharmacol.* 56, 1217 - 1224, 2004.
  17. Derjaguin B.V., Landau L.D. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of adhesion of strongly charged particles in solution of electrolytes. *Acta Physicochim. URSS* 14, 633 - 62, 1941.
  18. Verwey E.J.B., Overbeek J.Th.G. (1948). Theory of the Stability of Lyophobic Colloids, Elsevier, Amsterdam.
  19. Okhi S., Ohshima H., 1999. Interaction and aggregation of lipid vesicles (DLVO theory versus modified DLVO theory). *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 14, 27 - 45, 1999.
  20. Okhi S., Arnold K. A mechanism for ion - induced lipid fusion. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 18, 83 - 97, 2000.



## Βασικές αρχές σχεδιασμού και ανάπτυξης φαρμάκων

Βασίλειος Δημόπουλος και Άννα Τσαντίλη-Κακουλίδου

Κυκλοφόρησε από τις εκδόσεις Κάλιππος (Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και βοηθήματα, [www.kallipos.gr](http://www.kallipos.gr)) το ηλεκτρονικό σύγγραμμα 'Βασικές αρχές σχεδιασμού και ανάπτυξης φαρμάκων' με συγγραφείς τους Βασίλειο Δημόπουλο και Άννα Τσαντίλη-Κακουλίδου. ISBN: 978-960-603-190-8 ID Ευδόξου: 59303610

Το βιβλίο περιλαμβάνει τις σύγχρονες τάσεις στο σχεδιασμό νέων φαρμακευτικών ουσιών. Ξεκινώντας από τα πρώτα στάδια σχεδιασμού για την ανακάλυψη νέων ενώσεων-οδηγών με συγγένεια σε συγκεκριμένο υποδοχέα-στόχο, επεκτείνεται στο ρόλο των ιδιοτήτων ADME (Απορρόφηση, Κατανομή, Μεταβολισμός, Απέκκριση) και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων έτσι ώστε να επιτυγχάνεται κατάλληλο φαρμακοκινητικό προφίλ. Αναπτύσσονται οι *in silico* τεχνικές στις οποίες βασίζεται ο σχεδιασμός με βάση τη δομή του υποδοχέα (structure-based drug design), με βάση τα προσδέματα (ligand-based drug design) και με βάση δομικά θραύσματα (fragment based drug design). Επιπλέον, συζητείται η στρατηγική της πολλαπλής στόχευσης και αναφέρονται οι κυριότεροι αντι-στόχοι φαρμάκων. Αναλύονται οι κυριότερες στατιστικές τεχνικές ως εργαλεία για την εξαγωγή μοντέλων ποσοτικών σχέσεων δομής-δράσης και συζητού-

νται οι φυσικοχημικές και μοριακές ιδιότητες -λιποφιλία, ηλεκτρονιακές, στεरिकές- που επηρεάζουν την πρόσδεση των μορίων στα μακρομόρια και τη διαπερατότητα των βιολογικών φραγμών. Ιδιαίτερη έμφαση δίδεται στη λιποφιλία ως πρωταρχική ιδιότητα στη δράση των φαρμάκων. Παρουσιάζονται οι τεχνικές για τον προσδιορισμό και τον υπολογισμό του συντελεστή μερισμού/κατανομής. Αναφέρονται οι άριστες τιμές λιποφιλίας για τη διαπερατότητα βιολογικών φραγμών, ενώ τονίζεται η αρχή της ελάχιστης λιποφιλίας. Εισάγεται η έννοια της φαρμακο-ομοιότητας (drug-likeness) και παρουσιάζονται οι αντίστοιχοι μετρικοί κανόνες. Τέλος αναπτύσσεται επίσης ο ρόλος της στεροχημείας, των χηλικών ενώσεων και των προφαρμάκων στη βιολογική δράση.

Συνοπτικά, το βιβλίο προσπαθεί να καταδείξει την πολυπλοκότητα στην έρευνα για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων ως προϊόντων υψίστης τεχνολογίας.

Το βιβλίο απευθύνεται σε προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές της Φαρμακευτικής και συγγενών επιστημών και είναι διαθέσιμο για μη εμπορική χρήση υπό τους όρους της άδειας Creative Commons στην ηλεκτρονική διεύθυνση <http://hdl.handle.net/11419/5881> □

.....



## Φυτά με Φαρμακολογικές Ιδιότητες-Σύγχρονες Φυτοθεραπευτικές Δυνατότητες

*Τεσσερομμάτη Χριστίνα*

Με α/μ εικονογράφηση και Ευρετήρια. Σελίδες 702. Χαρτόδετο.

Σχήμα: (25,8x18,3 εκ.). ISBN: 978-960-262-096-0.

**Κ**υκλοφορεί σε πρώτη έκδοση το επιστημονικό έργο «Φυτά με Φαρμακολογικές Ιδιότητες-Σύγχρονες Φυτοθεραπευτικές Δυνατότητες», της καθηγήτριας Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών Χριστίνας Τεσσερομμάτη, από τον εκδοτικό Οίκο Σπανός-Βιβλιοφιλία.

Πρόκειται για την πρώτη σύγχρονη ελληνική, επιστημονική, φαρμακολογία φυτών.

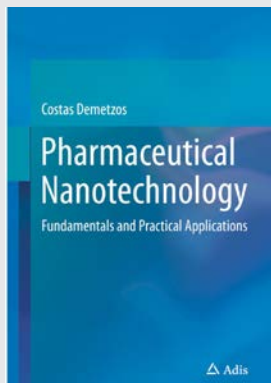
Το βιβλίο προλογίζει η κ. Νίκη Γουλανδρή, Πρόεδρος του Μουσείου Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας. Επιστημονικοί συνεργάτες του τόμου είναι οι κκ. Ε. Ανθοπούλου, Ι. Βώβου και Κ. Σαπουνάκης.

Το βιβλίο αποτελεί πηγή έγκριτων πληροφοριών και αναφέρεται:

- Στην Φαρμακολογία 161 και πλέον φυτών.
  - Στις πιθανές φυτοθεραπευτικές δυνατότητες (βάσει των σχετικών μονογραφιών από την ESCOP) σε λειτουργικές διαταραχές των διαφόρων συστημάτων χωρίς να υπερ/υποτιμάται η αποτελεσματικότητα της χρήσης τους.
  - Στην νομοθεσία χρήσης φυτοθεραπευτικών προϊόντων
- Επι πλέον το βιβλίο παρέχει πολύτιμες γνώσεις για την καθημερινή χρήση φυτών που φύονται ελεύθερα γύρω μας και εξοικειώνει τον αναγνώστη με τους τρόπους υγιεινής χρήσης και τις φυσικές ιδιότητες των φυτών που οδηγούν στην ανακούφιση και στην πρόληψη διαφόρων προβλημάτων υγείας αλλά και επισημαίνει την τοξικότητά τους. □

.....





# Pharmaceutical Nanotechnology

Fundamentals and Practical Applications

*C. Demetzos*

*1st ed. 2016, XXVIII, 203 p. 44 illus., 17 illus. in color.*

This textbook explains the fundamental aspects of nanotechnology and fills the gap between bio-inspired nanotechnological systems and functionality of living organisms, introducing new insights to their physicochemical, biophysical and thermodynamic behaviour. Addressed to all those involved in recent advances in pharmaceuticals, this book is divided in three major parts: Part A refers to the physicochemical and thermodynamics aspects of nanosystems, wherein their biophysical behaviour is correlated with that of the cells of

living organisms; Part B refers to the application of nanotechnology in imaging, diagnostics and therapeutics; Part C is focused on issues regarding safety and nanotoxicity of nanosystems, and the regulatory framework that surrounds these. The text promotes the concept that biophysics, thermodynamics and nanotechnology are considered to be emerging tools that, when approached within regulatory boundaries, provide new and integrated knowledge for the production of new medicines. □

.....

## ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

**28 AUGUST 28 - 1 SEPTEMBER 2016****BRNO, CZECH REPUBLIC  
(CTB 2016 BRNO)**

8th Central European Conference "Chemistry towards Biology",

<https://sites.google.com/site/ctb2016brno/>**28 AUGUST - 1 SEPTEMBER 2016****MANCHESTER, UK**

XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC 2016)

[http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle\\_menus=1238915829](http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915829)**4-8 SEPTEMBER 2016****VERONA, ITALY**

21st European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationship

Where Molecular Simulations Meet Drug Discovery

<http://www.euroqsar2016.org>**21-23 SEPTEMBER 2016****RIMINI, ITALY**SSPA (Summer School on Pharmaceutical Analysis) Advanced Analytical Methodologies  
for Biotechnological and Biological Medicinal Products<http://users2.unimi.it/SSPA/>**9-12 OCTOBER 2016****VIENNA, AUSTRIA**

SPICA 2016

16th International Symposium on Preparative and Industrial Chromatography and Allied Techniques

[www.spica2016.org](http://www.spica2016.org)**20 - 23 OCTOBER 2016****SPARTA, GREECE**

2nd World Congress 'Genetics, Geriatrics and Neurodegenerative Diseases Research',

<http://www.genedis.eu/>

## ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

**18 NOVEMBER 2016**

**BUDAPEST (HUNGARY)**

VI Meeting of the Paul Ehrlich Euro-PhD Network

<http://phdcongress.com>

<http://www.pehrlichmedchem.eu>

**24 - 25 NOEMBPIOY 2016**

**ΑΘΗΝΑ**

Δημερίδα Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας

«Η βιβλιογραφία ως “πολυδύναμο εργαλείο” για την επιστήμη»

[www.efe.org.gr/](http://www.efe.org.gr/)

**11 - 12 FEBRUARY 2017**

NUTRITION | HEALTH | BEAUTY

**ΑΘΗΝΑ**

Επιστημονική Ημερίδα Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας

**FORUM 2017**

*Zappeion Conference and Exhibition Center*

**1-3 JUNE 2017**

**THESSALONIKI, GREECE**

17th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry (HSMC-17)

[www.hsmc.gr](http://www.hsmc.gr)

**25-28 JUNE 2017**

**DUBROVNIK, CROATIA**

Joint Meeting on Medicinal Chemistry

<http://www.jmmc2017.hr/>



## From vision to reality...

- Sponsorship
- Website & Digital Marketing
- Graphic Design
- Congress Organization
- Scientific Journals
- Financial Organization
- Media Office
- Travel Services

**We've made it a science!**

[www.zita-management.com](http://www.zita-management.com)

**CONTACT**





# Για πόδια ξεκούραστα γεμάτα υγεία

## VENOLEN idrogel

• Εσκίνη 1% • Τροξερουτίνη 1% • Ηπαρινοειδή (GAG) 0,6%

Ανακουφίζει και αναζωογονεί  
τα κουρασμένα και πονεμένα πόδια



Σωληνάριο  
των 40 mL

Δερμοκαλλυντικό προϊόν



20  
ΕΠΙΚΑΛΥΜΜΕΝΑ  
ΜΕ ΛΕΠΤΟ ΥΜΕΝΙΟ  
ΔΙΣΚΙΑ

## VENOLEN plus

• Διοσμίνη 300mg • Τροξερουτίνη 300mg  
• Ξηρό εκχύλισμα ιπποκαστανέας 100mg • Βιταμίνη C 25mg

Η λύση στα φλεβικά και  
αιμορροϊδικά προβλήματα

Συμπλήρωμα Διατροφής

Αρ. Γνωστ. ΕΟΦ: 81234/12-09-2014. Ο αριθμός γνωστοποίησης στον ΕΟΦ δεν επέχει θέση άδειας κυκλοφορίας από τον ΕΟΦ. Τα συμπληρώματα διατροφής δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σαν υποκατάστατο μιας ισορροπημένης διαίτας και δεν προορίζονται για την πρόληψη, αγωγή ή θεραπεία ανθρώπινης νόσου. Τηλ. Κέντρο Δηλητηριάσεων: 2107793777



Βιομηχανία Φαρμάκων & Καλλυντικών  
Πειραιώς 37, 183 46 Μοσχάτο, Τηλ. 210 4819311-13  
e-mail: info@adelco.gr, www.adelco.gr



Προϊόν της Pharmaline Italy  
Εισαγωγή - διανομή από την Adelco A.E.

## ΜΕ ΕΝΔΕΙΞΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΔΟΝΤΙΚΟ ΠΟΝΟ<sup>1</sup>

Το ARCOXIA<sup>®</sup> τώρα ενδείκνυται και για τη μικρής διάρκειας θεραπεία του μετεγχειρητικού μέτριου οδοντικού πόνου<sup>1</sup>



**Για τη μικρής διάρκειας  
θεραπεία του<sup>1</sup>**

**Μετεγχειρητικού  
Μέτριου Οδοντικού Πόνου**

**90mg μια φορά την ημέρα  
μέγιστη διάρκεια 3 ημέρες.**

Η απόφαση για να συνταγογραφηθεί ένας εκλεκτικός COX-2 αναστολέας θα πρέπει να βασίζεται στην εκτίμηση των συνολικών ατομικών κινδύνων του ασθενούς.<sup>1</sup>

Δόσεις υψηλότερες από αυτές που συνιστώνται για κάθε ένδειξη είτε δεν έχουν εμφανίσει επιπρόσθετη αποτελεσματικότητα ή δεν έχουν ακόμα μελετηθεί. Λόγω των καρδιαγγειακών κινδύνων, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση του ARCOXIA για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας.<sup>1</sup>

**Πριν τη συνταγογράφηση του ARCOXIA<sup>®</sup>, συμβουλευθείτε την περίληψη χαρακτηριστικών του προϊόντος για αντενδείξεις, προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και ανεπιθύμητες ενέργειες.**

Βιβλιογραφία: 1. Arcoxia GRSPC



**BIANEΞ A.E. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ**  
**ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΤΟΥ ΟΜΙΛΟΥ ΓΙΑΝΝΑΚΟΠΟΥΛΟΥ**

LICENSEE/DISTRIBUTOR OF MERCK SHARP & DOHME, Division of MERCK & Co., Inc., Whitehouse Station, N.J., USA.

**Γραφεία Επιστημονικής Ενημέρωσης**

**ΑΘΗΝΑ:** Οδός Τατοΐου 146 71 Ν. Ερυθραία, Τηλ.: 210 8009111 • **E-Mail:** mailbox@vianex.gr • **INTERNET:** <http://www.vianex.gr> • **ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ:** Ακάδημου 113, Κόμβος Μακρυγιάννη, Εύοσμος Θεσσαλονίκης, ΤΚ 56224, Τηλ.: 2310 861683 • **ΠΑΤΡΑ:** Μαιζώνος 131, Τηλ.: 2610 221397

† Registered Trademark of Merck & Co., Inc., of Whitehouse Station New Jersey, U.S.A. & used under licence from MERCK & Co., INC.