

Instytut Roślin i Przetworów Zielarskich w Poznaniu

Indol-3-karbinol

**Ocena składu chemicznego, działania farmakologicznego,
badań klinicznych oraz skuteczności i bezpieczeństwa stosowania
na podstawie danych bibliograficznych**

INSTYTUT
Roślin i Przetworów Zielarskich
61-707
Poznań, ul. Libelta 27 tel. (061) 852-56-16, 852-40-03
fax. (061) 852-74-63
Regon 000053321, NIP 777-00-02-151
Poznań wrzesień 2004

1. DANE OGÓLNE

1.1. Przedmiot oceny:

Produkt o nazwie handlowej: „INDONAL”

Wielkość opakowania: 30 kapsulek

1.2. Producent

Sabinsa Corporation 70 Ethel Road West, Suite 6 Piscataway, NJ 08854, USA

1.3. Importer/firma wprowadzająca do obrotu w Polsce:

Przedsiębiorstwo Handlowo-Usługowe „C.A.” Wadim Iwanow 42-200 Częstochowa, ul.

Pogodna 12

2. RECEPTURA PRODUKTU

(deklaracja producenta)

Jedna kapsułka preparatu INDONAL zawiera:

Indol-3-karbinol 150mg

Skrobia-substancja pomocnicza

3. OMÓWIENIE RECEPTURY

Preparat INDONAL zawiera jedną substancję czynną indol-3-karbinol. Substancję pomocniczą stanowi skrobia pełniącą funkcję wypełniacza. Preparat ma postać kapsulek.

4. UZASADNIENIE CELOWOŚCI WPROWADZENIA DO OBROTU

Profilaktyka ma o wiele szersze znaczenie w ochronie zdrowia, niż leczenie. Zapobieganie nowotworom obejmuje wszystkie działania, które mają na celu zmniejszenie ryzyka zachorowania. Nowotwory zajmują drugie miejsce na liście najczęstszych przyczyn zgonów. W 1999 r. były one odpowiedzialne za 21,9% wszystkich zgonów w Polsce (23,5% u mężczyzn i 20,0% u kobiet). Współczynniki umieralności z powodu nowotworów ogółem wzrastały do połowy lat 90 po czym nastąpiła ich stabilizacja, chociaż w młodszych grupach wieku obserwuje się pewne obniżenie ich wartości w ostatnich latach.

Istotnym składnikiem profilaktyki chorób w tym nowotworów jest dieta. Istnieją naukowe dowody na to, iż dostarczanie organizmowi wraz z pożywieniem określonych substancji aktywnych biologicznie może zmniejszyć ryzyko wystąpienia nowotworów. Jedną z takich substancji jest właśnie indol-3-karbinol. Indol-3-karbinol jest intensywnie badany w ostatnich latach związkiem wywodzącym się z glukozynolatów, które występują głównie w warzywach należących do rodziny *Cruciferae* i jest uważany za podstawową substancję odpowiedzialną za korzyści wynikające z konsumpcji tych roślin. Badacze sygnalizują, że indol-3-karbinol jest niezwykle obiecującą substancją w zakresie profilaktyki nowotworów i równowagi hormonów.

Indol-3-karbinol jest związkiem tworzącym się z glukozynolanów znalezionych w roślinach rodziny Brassicaceae, do której należą brokuły, brukselka, kapusta, kalafior. W nienaruszonych komórkach tych roślin obecny jest endogenny enzym myrozynaza, oddzielony od glukozynolanów. Podczas procesów związanych z obróbką mechaniczną lub termiczną warzyw lub też ich przeżuwaniami, zachodzi przy udziale myrozynazy enzymatyczna hydroliza glukozynolatów w wyniku, której powstaje indol-3-karbinol. Stabilność glukozynolanów i myrozynazy jest uzależniona od czynników zewnętrznych, i tak ilość glukozynolanów może być znacznie zmniejszona podczas magazynowania lub przetwarzania. Może również nastąpić termiczna inaktywacja myrozynazy [Ludikhuyze i wsp., 1999; Johnson i wsp., 2002; Smith i wsp., 2003]. Stąd ilość indol-3-karbinolu występująca w diecie może być bardzo zróżnicowana, w granicach od 20 do 120 mg dziennie, i oczywiście zależy również od ilości pobranych warzyw [Fenwick i wsp., 1989; Balk WSP., 2000]. Przeprowadzone badania kliniczne wykazały, że dzienna suplementacja 200 do 400 mg indol-3-karbinolu jest skuteczną dawką dla chemoprewencji [Michnowicz i wsp., 1991; Wong i wsp., 1997; Michnowicz, 1998; Bell i wsp., 2000]. W celu pobrania takiej dawki dobowej indol-3-karbinolu należałoby skosztować mniej więcej 130 g świeżej brukselki lub ¼ główki kapusty, co jest nadmierne dla niektórych osób [Fenwick i wsp., 1989; Bell i wsp., 2000].

Indol-3-karbinol poszerza listę konsumowanych i trawionych korzystnych dla organizmu związków naturalnych. Uczeni i znaczące organizacje, takie jak National

Cancer Institute i Stang Cancer Prevention Center są zainteresowane indol-3-karbinolem jako naturalnym związkiem zapobiegającym powstawaniu nowotworów, szczególnie piersi, szyjki i śluzówki macicy oraz odbytnicy. Przyczyną tak dużego zainteresowania indol-3-karbinolem jest duża ilość badań naukowych, które wykazały, że zmniejszenie ryzyka chorób nowotworowych związane jest z dietami bogatymi w owoce i warzywa. Szereg prospektywnych badań klinicznych dowiodło, że wśród populacji konsumujących większe ilości warzyw z rodziny *Brassicaceae* występuje mniejsza zachorowalność na nowotwory oraz poprawa wskaźników biochemicznych [Verhagen i wsp., 1995; von Poppel i wsp., 1999; Terry i wsp. 2001]. Również badania epidemiologiczne dowodzą, że spożywanie roślin z tej rodziny zapobiega nowotworom skuteczniej niż dieta zawierająca inne owoce i warzywa [Keck i wsp., 2004]. Naukowcy uważają, że indol-3-karbinol jest podstawowym składnikiem odpowiedzialnym za ten efekt [Kojima i wsp., 1994; Grubas i wsp., 1995; Wong i wsp., 1997; Yuan i wsp., 1999]. Podczas spożywania opisanych wyżej warzyw indol-3-karbinol jest uwalniany podczas przeżuwania i transportowany do żołądka. Tam w obecności odpowiedniego kwasu indol-3-karbinol gwałtownie wchodzi w reakcję prowadzącą do powstania wielu znaczących związków. Podstawowe trzy z nich to: triindoloheksahydrocyklonon (HNTI), indolo[3,2-b]karbazol (ICZ) i 3,3'-diindolilomethan (DIM) [Bradfield WSP., 1987; Grose., 1992]. Wszystkie związki powstające z indol-3-karbinolu nie zostały w pełni zidentyfikowane. Indolo [3,2-b]carbazole (ICZ) wykazuje działanie antyestrogenne i detoksykacyjne, triindoloheksahydrocyklonon (HNTI) wiąże się z receptorami estrogenowymi i posiada strukturę podobną do tamoxifenu, 3,3'- diindolilomethan DIM) wykazuje działanie antykancerogenne w badaniach na modelach zwierzęcych i komórkowych [Liu i wsp., 1994; Riby i wsp., 2000; Hong i wsp., 2002; Firestone i WSP., 2003; Nachshon-Kedmi i wsp., 2003; Benabadji i wsp. 2004]. DIM stanowi około 10-20% produktów rozpadu indol-3-karbinolu, dlatego przeciętne dzienne spożycie indol-3-karbinolu w diecie dostarcza około 2-24 mg DIM [Balk, 2000; NIH, 2000; Chang i wsp., 1999]. Z powyższych danych wynika, że indol-3-karbinol jest prekursorem wielu związków chemicznych o różnej aktywności, które mogą działać synergistycznie. Mimo, że warzywa rodzaju *Brassica* zawierają wiele związków antykancerogennych, indol-3-karbinol wykazuje największą skuteczność w zapobieganiu nowotworom piersi, endometrium i szyjki macicy [Bradlow i wsp., 1991; Kojima, 1994; Jin i wsp., 1999; Bell i wsp., 2000; Lamson i wsp., 2001]. Większość badań klinicznych, w których przedstawiono korzyści wynikające ze stosowania związków zawartych w warzywach rodziny krzyżowych, zostało przeprowadzone z zastosowaniem indol-3-karbinolu jako suplementu diety. Pozytywne rezultaty wynikające z suplementacji diety w indol-3-karbinol, zwłaszcza u kobiet, wykazano w co najmniej 9 badaniach klinicznych w przeciągu ostatnich 10 lat [Michnovicz i wsp., 1991; Bradlow i wsp., 1994; Michnovicz i wsp., 1997; Michnovicz, 1998; Rosen i wsp., 1998; Taioli i wsp., 1999; Bell i wsp., 2000; McAlindon i wsp., 2001]. Badania te zostały przeprowadzone w renomowanych ośrodkach naukowych, takich jak: Boston University School of Medicine, New York University Medical Center, University of Pittsburgh Medical Center, Strang Cancer Prevention Center. Biorąc pod uwagę przedstawione wyniki badań National Cancer Institute wskazał i mianował indol-3-karbinol do badań skuteczności i bezpieczeństwa stosowania [NIH, 2000]. Auburn w publikacji dotyczącej indol-3-karbinolu i estrogenu [Auborn i wsp., 2003] dokumentując wyniki badań uznała, że indol-3-karbinol jest obiecującym czynnikiem zapobiegania nowotworom zależnym od estrogenów. W wcześniejszych badaniach wykazano korzystny wpływ indol-3-karbinolu w przypadku nowotworu szyjki macicy - badanie kliniczne z kontrolowanym placebo przeprowadzone przez Bell'a [Bell i wsp., 2000], w którym wykazano, że indol-3-karbinol powoduje statystycznie znaczącą regresję śród błonkowej neoplazji u pacjentów leczonych doustnie, w porównaniu z grupą placebo. Przegląd danych bibliograficznych wykazał, że w większości przeprowadzonych badań z indol-3-karbinolem stwierdzono działanie hamujące lub zapobiegające powstawaniu nowotworów w warunkach *in vitro*. Jednak w zależności od ustalonych warunków badania - czynnika wywołującego nowotwór, warunków ekspozycji i użytych gatunków w pewnych badaniach stwierdzono wzrost powstawania nowotworów po podaniu indol-3-karbinolu [Dashwood, 1998]. Wyniki badań wskazują, że indol-3-karbinol wykazuje działanie hamujące

powstawanie nowotworów, jeśli jest on podawany przed lub wraz z czynnikiem kancerogennym oraz, że aktywuje powstawanie nowotworów, jeśli jest on aplikowany po podaniu czynnika kancerogennego lub indukcji nowotworu. Ostatecznie działanie indol-3-karbinolu prawdopodobnie w dużym stopniu zależy od czynników towarzyszących, włączając w to tryb życia, dietę oraz czas ekspozycji na wybraną substancję [Pence i wsp., 1986; Bailey i wsp., 1991; Kim i wsp., 1998].

Fakt, iż badacze podjęli badania kliniczne w celu wykazania właściwości chemoprewencyjnych indol-3-karbinolu świadczy o ich przeświadczeniu o możliwości wykorzystania tej substancji w zapobieganiu nowotworom. Auburn [Auborn, 2003], jeden z wiodących badaczy właściwości indol-3-karbinolu stwierdził w swoim przeglądzie na ten temat: „Badania w coraz większej mierze wskazują, że indol-3-karbinol zawarty w diecie zapobiega rozwojowi zależnych od estrogenów typów nowotworów takich jak nowotwór piersi, nowotwór śluzówki i szyjki macicy. Skuteczność indol-3-karbinolu jest poparta badaniami epidemiologicznymi, laboratoryjnymi, badaniami na zwierzętach oraz badaniami translacji” [Auborn, 2003].

Istnieją istotne dowody wskazujące, że indol-3-karbinol może redukować ryzyko powstania nowotworów wywołanych znanymi kancerogenami podawanymi zwierzętom [McDanell i wsp., 1988; Fong i wsp., 1990]. Ponadto w Toxicological Data Report przygotowanym przez National Institutes of Health (NIH) nie stwierdzono jakoby indol-3-karbinol miał indukować powstawanie nowotworów, stwierdzono natomiast, że zmniejsza on częstość występowania nowotworów u zwierząt doświadczalnych [NIH, 2000]. W badaniach zaplanowanych w celu zmierzenia hamowania wzrostu nowotworów, w tkankach docelowych indol-3-karbinol nie indukował powstawania guzów bez obecności inicjatora w następujących układach doświadczalnych (gatunek/tkanka docelowa/dawka indol-3-karbinolu, czas podawania) [Wattenberg i wsp., 1978; Tanaka i wsp., 1992; Grubbs i wsp., 1995]:

szczury Sprague Dawley/gruczoł sutkowy/100mg/dobę, przez 5 dni w tygodniu, przez 107 tygodni.

- szczury ACI/N/język/1000ppm wraz z paszą przez 37 tygodni
- myszy ICR/Ha/ część wpustowa żołądka/0.03mmol/g paszy przez 63 dni

Kojima [Kojima i wsp., 1994] badał hamujący wpływ indol-3-karbinolu na spontaniczne gruczolaki śluzówki macicy u osobników żeńskich szczurów rasy Donryu (rasa wykazująca wysoką częstość nowotworów śluzówki macicy). Szczurom podawano indol-3-karbinol w paszy w dawkach: 0, 200, 500 i 1000 ppm przez 660 dni. W wyniku badań zaobserwowano zależne od dawki zmniejszenie częstości występowania nowotworów macicy. W grupie kontrolnej stwierdzono nowotwory u 38%, w grupie otrzymującej 200 ppm 25%, w grupie otrzymującej 500 ppm 16% i 14% w grupie otrzymującej 1000 ppm indol-3-karbinolu. Częstość występowania nowotworów w grupie otrzymującej najwyższe dawki indol-3-karbinolu była znamienne niższa od częstości występowania nowotworów w grupie kontrolnej ($p \leq 0.05$). Autorzy badania przypuszczają, że efekt ten może być wytłumaczony zmianami w profilu metabolizmu 17- β -estradiolu, a dokładniej nasileniu metabolizmu w kierunku powstawania 2 α -hydroksyestronu.

W badaniach trzeciej generacji, parom bliźniąt Balb/cfC3H podawano *in utero* indol-3-karbinol w dawkach 2000 mg/kg masy ciała do 52 tygodnia życia. Nie stwierdzono znamiennej różnicy w częstości występowania nowotworów gruczołu sutkowego, jakkolwiek stwierdzono późniejsze ich występowanie w grupie badanej (w 36 tygodniu) niż w grupie kontrolnej (w 20 tygodniu). U zwierząt, którym podawano indol-3-karbinol nie stwierdzono zmniejszenia masy ciała, zmian biochemicznych ani histopatologicznych [Malloy i wsp., 1997].

Sharma [Sharma i wsp., 1996] w wynikach swoich badań stwierdził, że indol-3-karbinol był jednym z 90 związków chemoprewencyjnych, które były badane sześcioma testami biochemicznymi, i był jednym z 8 związków, które dawały pozytywne wyniki we wszystkich testach. Indol-3-karbinol dzięki swoim właściwościom może być skuteczny dzięki następującym działaniom [Christensen i wsp., 1996; Telang, 1998; Meng i wsp., 2000; Qinghui i wsp., 2000]:

- regulacji cyklu komórkowego
- hamowanie aktywacji pro-inwazyjnych cząsteczek związanych z metastazą komórek raka piersi
- wpływem na ekspresję receptorów estrogenowych w komórkach ludzkich nowotworów

- odwraca aktywację oporności wielolekowej w komórkach nowotworowych

Indol-3-karbinol i estrogen mają przeciwne działanie na komórki nowotworów - estrogen jest czynnikiem promującym wzrost i przeżywalność komórek nowotworowych, podczas gdy indol-3-karbinol hamuje wzrost nowotworów i indukuje śmierć komórek nowotworowych [Auborn i wsp., 2003; Cover i wsp., 1998]. Badania kliniczne wykazały, że indol-3-karbinol w dawkach 200-400 mg/dobę może wpływać na metabolizm estrogenów i promować powstawanie 2 α -hydroksyestronu, który jest uważany za czynnik podtrzymujący właściwy stan piersi [Michnovicz i wsp., 1991; Grubbs i wsp., 1995; Kojima i wsp., 1994; Yuan i wsp., 1999; Bradlow i wsp., 1991; Michnovicz i wsp., 1997]. Według raportu toksykologicznego opublikowanego przez NIH „Indol-3-karbinol powoduje zmianę profilu metabolizmu estradiolu z 16 α - do 2 α hydroksyestronu wykazując w ten sposób potencjalnie korzystne działanie” [Yuan i wsp., 1999; NIH, 2000]. Sugeruje się, że stosunek 2 do 16 α -hydroksyestronu może być używany jako marker rozwoju niektórych nowotworów. Wysoka wartość stosunku 16 α /2-hydroksyestronu jest obserwowana u kobiet z rozwijającym się nowotworem piersi lub narażonych na ten nowotwór [Schneider i wsp., 1982; Osborne, 1988].

Istnieje wiele badań świadczących o korzystnym działaniu indol-3-karbinolu i DIM [Benabadji i wsp., 2004; Firestone i wsp., 2003; Nachshon Kedmi i wsp., 2003; Hong i wsp., 2002]. Działanie indol-3-karbinolu i DIM były porównywane w badaniach na modelu nowotworu u szczurów. Badacze stwierdzili, że w porównaniu z indol-3-karbinolem DIM nie zwiększał aktywności proapoptotycznej w gruczołach sutkowych u szczurów po inicjacji kancerogenezy. Jako, że indukcja apoptozy jest miernikiem hamowania kancerogenezy, badacze wywnioskowali, że indol-3-karbinol a nie DIM jest odpowiedzialny za hamowanie rozwoju nowotworów [Zhang i wsp., 2003].

Wykazano, że indol-3-karbinol nasila działanie enzymów metabolizujących ksenobiotyki. Uważa się, że w wyniku tego działania następuje korzystna zmiana metabolizmu estrogenów. Liebelt [Liebelt i wsp., 2003] stwierdził, że indol-3-karbinol powodował znamienne wyższą stymulację enzymów odpowiedzialnych za detoksykację. Stymulacja tych enzymów jest potrzebnym i korzystnym procesem ponieważ powoduje zwiększenie wydalania toksyn.

Skuteczność i bezpieczeństwo indol-3-karbinolu zostało przedstawione w badaniach przeprowadzonych przez Bradlow [Bradlow i wsp., 1991; Bradlow i wsp., 1994]. Indol-3-karbinol efektywnie poprawiał efektywność 2-hydroksylacji estrogenu, a kiedy podawano dawki 400 mg/dzień kobietom i mężczyznom przez okres 3 miesiące, nie stwierdzono działań niepożądanych. Dodatkowo na podstawie innych badań klinicznych [Rosen i wsp., 1998] stwierdzono, że: „...indol-3-karbinol wydaje się być bezpieczny i dobrze tolerowany oraz może być używany do skutecznego leczenia nawracającej oddechowej brodawczakowości”.

Narodowy Instytut Zdrowia USA (NIH) opublikował szczegółowy raport dotyczący toksyczności indol-3-karbinolu. Zgodnie z specyfiką badań toksykologicznych odnotowano działania niepożądane i efekty toksyczne występujące podczas testowania wysokich dawek na zwierzętach i liniach komórkowych, które znacznie przewyższają ilości przyjmowane z dietą lub w trakcie suplementacji. W zakresie krótko i długoterminowych badań klinicznych nie stwierdzono działań toksycznych indol-3-karbinolu stosowanego w dawkach 200-400 mg na dobę. Ponadto należy zaznaczyć, że nie stwierdzono znamiennych działań toksycznych u żadnego z uczestników biorących udział w tych badaniach. Skuteczność i bezpieczeństwo stosowania indol-3-karbinolu zostały wykazane w kilku badaniach klinicznych. W trakcie wspomnianych badań nie odnotowano działań niepożądanych.

5. KWALIFIKACJA UŻYTKOWA

Indol -3-karbinol jest substancją naturalnie występującą w diecie. Jest najważniejszą pochodną o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, którą wyizolowano z roślin rodziny krzyżowych. Jest to pochodna grupy związków zwanych glukozynolanami. Jak wynika z badań *in vitro* i badań na zwierzętach, związek ten powstaje po hydrolizie glukozynolanów w tkankach roślinnych, a w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt ulega przekształceniu do aktywnych metabolitów. Zastosowanie preparatów zawierających indol-3-karbinol jako suplementu diety obejmuje prewencję powstawania zmian nowotworowych.

Reasumując indol-3-karbinol może stanowić produkt zmniejszający ryzyko chorób nowotworowych w grupach zagrożenia w zalecanym przez producenta zakresie dawkowania.

Produkt indol-3-karbinol może być zakwalifikowany do grupy suplementów diety zmniejszających

ryzyko chorób nowotworowych. Należy pamiętać o przestrzeganiu dawkowania preparatu oraz uwzględnić zastrzeżenie, że produkt nie powinien być stosowany przez kobiety w ciąży oraz w okresie laktacji.

Udokumentowaniem powyższego uzasadnienia jest przedstawiona w dalszej części opracowania szczegółowa monografia obejmująca charakterystykę chemiczną, ocenę aktywności farmakologicznej oraz skuteczności i bezpieczeństwa stosowania indol-3-karbinolu.

DYREKTOR

Instytutu Roślin i Przetworów Zielarskich
Doc.dr hab.n.med.Przemysław M.Mrozikiewicz

BIBLOGRAFIA

- Auborn KJ, Fan S, Rosen EM, et al. Indole-3-carbinol is a negative regulator of estrogen. *J Nutr.* 2003;133(7 Suppl):2470S-75S.
- Bailey GS, Dashwood RH, Fong AT, Williams DE, Scanlan RA, Hendricks JD. Modulation of mycotoxin and nitrosamine carcinogenesis by indole-3-carbinol: quantitative analysis of inhibition versus promotion. *IARC Sci Publ.* 1991;(105):275-80.
- Balk JL. Indole-3-carbinol for cancer prevention. *Alt Med Alert.* 2000;3:105-7.
- Bell MC, Crowley-Nowick P, Bradlow HL, et al. Placebo-controlled trial of indole-3-carbinol in the treatment of CIN. *Gynecol Oncol.* 2000;78:123-29.
- Benabadji SH, Wen R, Zheng JB, Dong XC, Yuan SG. Anticarcinogenic and antioxidant activity of diindolylmethane derivatives. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25(5):666-71.
- Bradfield CA, Bjeldanes LF. Structure-activity relationships of dietary indoles: A proposed mechanism of action as modifiers of xenobiotic metabolism. *J Toxicol Environ Health.* 1987;21:311-23.
- Bradlow HL, Michnovicz J, Telang NT, Osborne MP. Effects of dietary indole-3-carbinol on estrogen metabolism and spontaneous mammary tumors in mice. *Carcinogenesis.* 1991;12:1571-74.
- Chang YC, Riby J, Chang GH, Peng BC, Firestone G, Bjeldanes LF. Cytostatic and antiestrogenic effects of 2-(indole-3-ylmethyl)-3,3'-diindolylmethane, a major in vivo product of dietary indole-3-carbinol. *Biochem Pharmacol.* 1999;58:825-34.
- Christensen JG, LeBlanc GA. Reversal of multidrug resistance in vivo by dietary administration of the phytochemical indole-3-carbinol. *Cancer Res.* 1996;56:574-81.
- Cover CM, Hsieh SJ, Tran SH, et al. Indole-3-carbinol inhibits the expression of cyclin-dependent kinase-6 and induces a G1 cell cycle arrest of human breast cancer cells independent of estrogen receptor signaling. *J Biol Chem.* 1998;273: 3838-47.
- Dashwood RH. Indole-3-carbinol: anticarcinogen or tumor promoter in Brassica vegetables? *Chem Biol Interact.* 1998;110(1-2):1-5.
- Fenwick GR, Heaney RK, Mawson R. Glucosinolates. *Toxicants of Plant Origin: Volume II.* CRC Press, Inc. Boca Raton, FL;1989.
- Firestone GL, Bjeldanes LF. Indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane antiproliferative signaling pathways control cell-cycle gene transcription in human breast cancer cells by regulating promoter-Sp1 transcription factor interactions. *J Nutr.* 2003;133(7 Suppl):2448S-55S.
- Fong AT, Swanson HI, Dashwood RH, Williams DE, Hendricks JD, Bailey GS. Mechanisms of anti-carcinogenesis by indole-3-carbinol. Studies of enzyme induction, electrophile-scavenging, and inhibition of aflatoxin B1 activation. *Biochem Pharmacol.* 1990;39(1):19-26.

- Grose KR, Bjeldanes LF. Oligomerization of indole-3-carbinol in aqueous acid. *Chem Res Toxicol*. 1992;5:188-93.
- Grubbs CJ, Steele VE, Casebolt T, et al. Chemoprevention of chemically-induced mammary carcinogenesis by indole-3-carbinol. *Anticancer Res*. 1995;15(3):709-16.
- Hong C, Kim HA, Firestone GL, Bjeldanes LF. 3,3'-Diindolylmethane (DIM) induces a G₁ cell cycle arrest in human breast cancer cells that is accompanied by Sp1-mediated activation of p21(WAF1/CIP1) expression. *Carcinogenesis*. 2002;23(8): 1297-305.
- Jin L, Qi M, Chen DZ, Anderson A, et al. Indole-3-carbinol prevents cervical cancer in human papilloma virus type 16 (**HPV16**) transgenic mice. *Cancer Res*. 1999;59:3991-97.
- Johnson IT. Glucosinolates: bioavailability and importance to health. *Int J Vitam Nutr Res*. 2002;72(1):26-31.
- Keck AS, Finley JW. Cruciferous vegetables: cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium. *Integr Cancer Ther*. 2004;3(1):5-12.
- Kim DJ, Han BS, Ahn B, et al. Enhancement by indole-3-carbinol of liver and thyroid gland neoplastic development in a rat medium-term multiorgan carcinogenesis model. *Carcinogenesis*. 1997;18(2):377-81.
- Kojima T, Tanaka T, Mori H. Chemoprevention of spontaneous endometrial cancer in female Donryu rats by dietary indole-3-carbinol. *Cancer Res*. 1994;54: 1446—49
- Lamson DW, Brignall MS. Natural agents in the prevention of cancer. Part I: Human chemoprevention trials. *Altern Med Rev*. 2001;6:7-19.
- Liu H, Wormke M, Saffe SH, Bjeldanes LF. Indolo[3,2-b]carbazole: a dietary-derived factor that exhibits both antiestrogenic and estrogenic activity. *J Natl Cancer Inst*. 1994;86:1758-65.
- Ludikhuyze L, Ooms V, Weemaes C, Hendrickx M. Kinetic study of the irreversible thermal and pressure inactivation of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea* L. Cv. *italica*). *J Agric Food Chem*. 1999;47(5):1794-800.
- Malloy VL, Bradlow HL, Orentreich N. Interaction between a semisynthetic diet and indole-3-carbinol on mammary tumor incidence in Balb/cfC3H mice. *Anticancer Res*. 1997;17(6D):4333-37.
- McDanell R, McLean AE, Hanley AB, Heaney RK, Fenwick GR. Chemical and biological properties of indole glucosinolates (glucobrassicins): a review. *Food Chem Toxicol*. 1988;26(1):59-70.
- Meng Q, Yuan F, Goldberg ID, Rosen EM, Auburn K, Fan S. Indole-3-carbinol is a negative regulation of estrogen receptor-alpha signaling in human tumor cells. *J Nutr*. 2000;130:2927-31.
- Michnovicz JJ, Adlercreutz H, Bradlow HL. Changes in levels of urinary estrogen metabolites after oral indole-3-carbinol treatment in humans. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89:718-23.
- Michnovicz JJ, Bradlow HL. Altered estrogen metabolism and excretion in humans following consumption of indole-3-carbinol. *Nutr Cancer*. 1991 ;16:59-66.
- Michnovicz JJ. Increased estrogen 2-hydroxylation in obese women using oral indole-3-carbinol. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998;22(3):227-29.
- Nachshon-Kedmi M, Yannai S, Haj A, Fares FA. Indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane induce apoptosis in human prostate cancer cells. *Food Chem Toxicol*. 2003;41(6):745-52
- NIH, Natl Inst Environmental Health Sci. Indole-3-carbinol. Background Information INDOLE-3-CARBINOL (I3C) 700-06-1 June 28, 2000.

Osborne CK. Effects of estrogens and antiestrogens on cell proliferation: implications for the treatment of breast cancer. *Cancer Treat Res.* 1988;39:111-29.

Pence BC, Buddingh F, Yang SP. Multiple dietary factors in the enhancement of dimethylhydrazine carcinogenesis: main effect of indole-3-carbinol. *J Natl Cancer Inst.* 1986;77(1):269-76.

Qinghui M, Mei QI, Chen DZ, et al. Suppression of breast cancer invasion and migration by indole-3-carbinol: associated with upregulation of BRCA1 and E-cadherin/catenin complexes. *J Molec Med.* 2000;78:155-65.

Riby JE, Feng C, Chang Y-C, Schaldach CM, Firestone GL, Bjeldanes LF. The major cyclic trimeric product of indole-3-carbinol is a strong agonist of the estrogen receptor signaling pathway. *Biochem.* 2000;39:910-18.

Schneider J, Kinne D, Fracchia A, et al. Abnormal oxidative metabolism of estradiol in women with breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982;79(9):3047-51.

Smith TK, Mithen R, Johnson IT. Effects of Brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts in vivo. *Carcinogenesis.* 2003;24(3):491-95.

Tanaka T, Kojima T, Morishita Y, Mori H. Inhibitory effects of the natural products indole-3-carbinol and sinigrin during initiation and promotion phases of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Jpn J Cancer Res.* 1992;83(8):835-42.

Telang NT, Katdare M, Bradlow HL, Osborne MP, Fishman J. Inhibition of proliferation and modulation of estradiol metabolism: novel mechanisms for breast cancer prevention by the phytochemical indole-3-carbinol. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1997;216:246-52.

Terry P, Wolk A, Persson I, Magnusson C. Brassica vegetables and breast cancer risk. *J Am Med Assoc.* 2001;285:2975-77.

Verhagen H, Poulsen HE, Loft S, van Poppel G, Willems ML, van Bladeren PJ. Reduction of oxidative DNA-damage in humans by brussels sprouts. *Carcinogenesis.* 1995;16(4):969-70

von Poppel G, Verhoeven DT, Verhagen H, Goldbohm RA. Brassica vegetables and cancer prevention. *Epidemiology and mechanisms. Adv Exp Med Biol.* 1999;472: 159-68.

Wattenberg LW, Loub WD. Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced neoplasia by naturally occurring indoles. *Cancer Res.* 1978;38(5):1410-13.

Wong GY, Bradlow L, Sepkovic D, Mehl S, Mailman J, Osborne MP. Dose-ranging study of indole-3-carbinol for breast cancer prevention. *J Cell Biochem.* 1997;28-29:111-16.

Yuan F, Chen DZ, Liu K, Sepkovic DW, Bradlow HL, Auborn K. Anti-estrogenic activities of indole-3-carbinol in cervical cells: implication for prevention of cervical cancer. *Anticancer Res.* 1999; 19(3A): 1673-80.

Zhang X, Malejka-Giganti D. Effects of treatment of rats with indole-3-carbinol on apoptosis in the mammary gland and mammary adenocarcinomas. *Anticancer Res.* 2003;23(3B):2473-79.

1. DANE PODSTAWOWE INDOL-3-KARBINOL

2.

NAZWA: **INDOL-3-KARBINOL (I3C)**

Numer CAS: 700-06-1

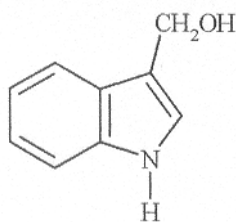
Nazwa CAS: 1 H-indolo-3-metanol (9CI); indolo-3-metanol (8CI); 3-(hydroksymetylo)indol; I3C; indolo-3-karbonol;

Synonimy: 3-indolilokarbinol; 3-indolilmetanol

Grupa chemiczna: Związki heterocykliczne

Wzór sumaryczny: C₉H₉NO, M_M=147.8

Wzór strukturalny:
CH₂OH



indolo-3-karbinol

Wygląd: Białe kryształy

Temperatura topnienia: 96-99°C

Informacje podstawowe:

Indolo-3-karbinol (I3C) jest produktem rozpadu glukozynolanu glukobrazycyny, zwanego także indolo-3-glukozynolanem. Glukozynolany to β -tioglukozydy N-hydroksysiarczanów, występujące głównie w roślinach rodziny Krzyżowe (Brassicaceae), takich jak: kapusta, brokuły, brukselka, kalafior, jarmuż. Dominującym związkiem w tej grupie jest indologlukobrazycyna, która ulega przekształceniu do pochodnych indolu (w tym I3C) przy udziale endogennych enzymów, szczególnie myrozynazy (tioglukozydoglukohydrolaza) w odpowiedzi na uszkodzenia komórek zachodzące podczas, cięcia, miażdżenia lub żucia, trawienia w jelitach jak i podczas gotowania. Opublikowane wyniki dotyczące zawartości glukozynolanów w roślinach krzyżowych pochodzą z pomiarów pośrednich, w tym głównie stężenia jonów tiocyjanianowych, przy założeniu, że jest to główna korelacja. Występowanie glukozynolanów indolowych [Broadbent i wsp., 1998]:

Źródło	Zawartość mmol/kg
Kapusta biała	0.1-1.4
Kapusta czerwona	0.3-0.7
Kapusta włoska	0.6-2.1
Kapusta pekińska (chinese)	0.2-1.1
Brukselka	0.4-2.2
Kalafior	0.2-1.9
Brukiew	0.1-1.2
Rzepa	0.1-1.1

Jedna główka kapusty zawiera w przybliżeniu 1200 mg I3C [Bell MC, 2000]. I3C jest związkiem nieaktywnym biologicznie. W środowisku kwaśnym, np. w kwasie żołądkowym, I3C tworzy produkty kondensacji, linearne i cykliczne dimery, trimery i tetramery oraz związki heterocykliczne takie jak indolokarbazole [Bradfield i wsp., 1991; Kwon i wsp., 1994; Jongen, 1996], które są aktywnymi metabolitami.

MONOGRAFIE

PDR for nutritional supplements 2001

2. ZASTOSOWANIE

ZAKRES STOSOWANIA I WSKAZANIA TERAPEUTYCZNE

I3C zdaje się wykazywać działanie przeciwnowotworowe i nie wyklucza się działania przeciwmiażdżycowego co jest podstawą dla stosowania tego związku jako suplementu diety. Może być użyteczny w hamowaniu powstawania brodawczakowości wywoływanych wirusem HPV (Human Papilloma Virus). Twierdzenia jakoby związek ten miał wpływ na procesy nabudowywania mięśni nie mają podstaw naukowych [PDR for nutritional supplements, 2001].

DZIAŁANIE

Uważa się, że I3C może wykazywać działanie zapobiegające powstawaniu nowotworów [PDR for nutritional supplements 2001].

DAWKOWANIE

Do użytku wewnętrznego:

Dawkowanie w postaci suplementów, w których I3C występuje samodzielnie lub w postaci kombinacji z innymi substancjami, wynosi 200-800mg/dobę [PDR for nutritional supplements 2001].

Okres ciąży i laktacja

Kobiety ciężarne i Karmiące powinny unikać dodatków I3C do czasu przeprowadzenia bardziej szczegółowych badań [PDR for nutritional supplements 2001].

Interakcje

Przekształcenie I3C do aktywnych metabolitów wymaga niskich wartości pH soku żołądkowego. Jednoczesne przyjmowanie środków przeciw nadkwasocie, antagonistów receptorów H_2 czy inhibitorów pompy protonowej może spowodować obniżenie lub zanik aktywności. Jak dotychczas nie ma dostatecznych dowodów na to czy sam I3C wykazuje aktywność przeciwnowotworową jeśli nie zostanie przekształcony do DIM (diindolometan) i ICZ (indolo(3,2,b)karbazol) [PDR for nutritional supplements 2001].

3. AKTYWNOŚĆ FARMAKOLOGICZNA

WPLYW NA METABOLIZM ESTRADIOLU

Głównymi metabolitami 17β -estradiolu są: 16β -hydroksyestron i 2 -hydroksyestron oraz w niewielkim stopniu 4 -hydroksyestron. 16α -hydroksyestron wykazuje właściwości genotoksyczne i kancerogenne [Telang i wsp., 1992]. Z drugiej strony metabolit 2 -hydroksyestron wykazuje działanie modulujące na receptory estrogenowe - wykazuje właściwości antyestrogenne, mimo że posiada pewną aktywność estrogeną [Schneider i wsp. 1984]. Stwierdzono, że I3C zmienia profil metabolizmu 17β -estradiolu, w wyniku czego zwiększa się synteza 2 -hydroksyestronu, co interpretuje się jako czynnik o możliwym efekcie ochronnym [Yuan i wsp., 1999]. Zasugerowano, że stosunek 16α - do 2 -hydroksyestronu może być użyty do oznaczania niektórych nowotworów. Schnieder i wsp., oraz Osborne i wsp., [Schnieder i wsp., 1982; Osborne i wsp., 1988] zaobserwowali, u kobiet z nowotworem piersi i ryzyku wystąpienia nowotworu piersi, wysoki stosunek 16α - do 2 -hydroksyestronu. Z drugiej strony w innych badaniach stosunek 16α - do 2 -hydroksyestronu u kobiet z nowotworem piersi był nieznacznie niższy od kontroli [Ursin i wsp., 1999].

WPLYW NA ROZWÓJ GRUCZOLAKÓW ŚLUZÓWKI MACICY.

Badano efekt inhibitorowy I3C na rozwój spontanicznych gruczolaków śluzówki macicy u samiec szczurów, gatunku Donryu z wysoką częstotliwością występowania nowotworu śluzówki macicy. Szczury były karmione 0, 200, 500 i 1000 ppm I3C w diecie przez 660 dni. Po zakończeniu badań zaobserwowano zależny od podawanej dawki I3C zmniejszenie gruczolaków macicy. Naukowcy spekulują, że efekt chemoochronny może być spowodowany 2 -hydroksylacją estradiolu [Kojima i wsp., 1994]

INNE EFEKTY BIOLOGICZNE

Odnotowano dwa ważne aspekty działania antynowotworowego I3C i/lub produktów pochodnych I3C:

1. zahamowanie wiązania kowalencyjnego czynników rakotwórczych do zasad DNA, szczególnie do guaniny lub adeniny, a zatem zahamowania tworzenia się adduktów DNA w docelowej tkance tworzącej guzy;
2. zmiana metabolizmu czynnika rakotwórczego poprzez wywołanie różnych

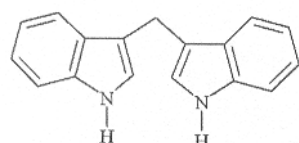
mieszanych funkcji enzymatycznych systemów utleniających, takich jak: S-transferaza glutationowa i hydratata epoksydowa.

I3C jest jednym z 90 potencjalnych środków chemoprolaktycznych, które były badane pod kątem: 1) inhibicji działania kinazy tyrozynowej w ludzkich komórkach leukemii wywołanej 12-O-tetradekanoiloforbolu-13-octanu (TPA); 2) inhibicji działania dekarboksylazy ornityniwej (ODC) w komórkach nabłonka tchawicy u szczura wywołanej TPA; 3) inhibicji polimerazy poli(ADP-rybosy) (PADPR) w ludzkich fibroblastach; 4) inhibicji wiązania benzo(a)piren-DNA w ludzkich komórkach nabłonka oskrzeli; 5) wywołania redukcji glutationu (GSH) w szczurzych komórkach wątroby; 6) inhibicji tworzenia wolnych rodników w ludzkich fibroblastach lub ludzkich komórkach leukemii wywołanej TPA. I3C jest jednym z 8 na 90 związków, który spełnił wszystkie te warunki [Sharma i wsp., 1994]

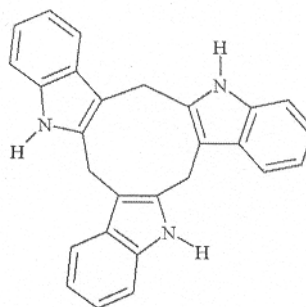
FARMAKOKINETYKA

PROCESY AKTYWACJI I3C I ROZMIESZCZENIE METABOLITÓW

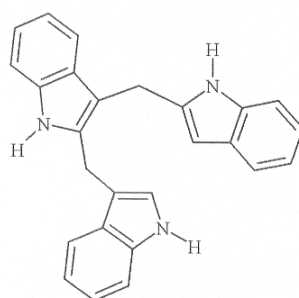
Indolo-3-karbinol ulega kondensacji do kilku oligomerycznych produktów, które najprawdopodobniej głównie odpowiedzialne są za efekt biologiczny indolo-3-karbinolu. Kondensacja zachodzi po spożyciu w środowisku kwaśnym [Christensen i wsp., 1996]. Stwierdzono w badaniach *in vitro*, że w środowisku o pH 1,3 - 5,4, w czasie 4-60 min. tworzy się przynajmniej 15 produktów kondensacji [DeKruif i wsp., 1991]. Głównymi produktami są: 3,3'-diindolilometan (DIM) oraz dwa trimery: 5,6,11,12,17,18-heksahydrocyklonona[1,2-b:4,5-b':7,8-b'']triindol (CTI) i 2,3-bis[3-indolilometyl]indol (BII).



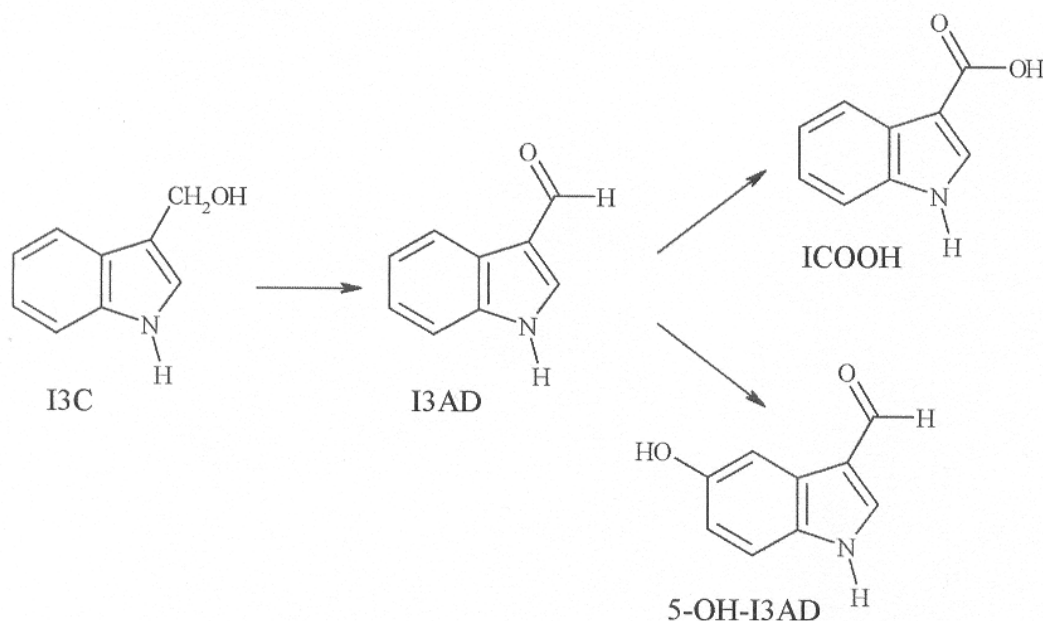
3,3'-diindolilometan
(DIM)



5,6,11,12,17,18-heksahydrocyklonona[1,2-b:4,5-b':7,8-b'']triindol
(CTI)



2,3-bis[3-indolilometyl]indol
(BII)



Tworzenie się oligomerów jest silnie zależne od pH. Przy pH poniżej 3 wszystkie trzy oligomery tworzyły się w przybliżeniu w równych ilościach. Inkubacja przy pH powyżej 3 powodowała tworzenie się dużej ilości DIM i BII. Przy pH powyżej 4,5 nie wykryto CTI [DeKruif i wsp., 1991]. Metaboliczne losy I3C zastały ustalone na podstawie badań *in vitro*. Wyizolowano i zidentyfikowano metabolity I3C powstałe podczas inkubacji wątroby szczurzej i wątroby z embrionów kurcząt z preparatem enzymatycznym. W pierwszym etapie powstaje intermedial, indolo-3-karboksyaldehyd (I3AD). Następnie powstają 5-hydroksyindolokarboksyaldehyd (5-OH-I3AD) oraz kwas karboksylowy (ICOOH)[Jongen1996],

Dwa metabolity zostały wyizolowane z wątroby myszy, z frakcji post-mitochondrialnej: indolo-3-karboksylowy i 2,3-dihydro-2-hydroksy-indolo-3-karboksylowy [Tabor i wsp., 1988]. Z surowego, kwaśnego preparatu I3C inkubowanego z 1 M HCl przez 15 min. w temperaturze pokojowej wyizolowano 2,3-bis[3-indolilometyl]indol (BII) [Chang i wsp., 1999]

Z reakcji jak wyżej wyizolowano również 5,5,11,12,17,18-heksahydroksycyklonona{1,2-b:4,5-b':7,8-b''}triindol (CTI) [Riby i wsp., 2000].

Samcom szczurów podawano I3C w dawce 200 mmol/kg masy ciała rozpuszczonego w wodzie. Po godzinie analizowano zawartość żołądków. Odczyn pH wynosił 4,5 - 5,5 (podobnie jak w badaniach *in vitro*),

wykryto substancje DIM i BII, podczas gdy nie znaleziono CTI (podobnie jak w badaniach *In vitro*). Stwierdzono, że za inhibicję powstawania CTI odpowiedzialne jest relatywnie wysokie pH. Podobny rodzaj oligomerów I3C znaleziono również w ekstraktach pochodzących z tkanki żołądka, wątroby i jelita cienkiego [DeKruif i wsp., 1991].

Pstrągom przez trzy dni podawano I3C znakowany radioaktywnie, w dawce 40 mg/kg masy ciała. Substancja była wykrywana w żołądku po czasie między 0,5 a 12 godzin. Po 72 godzinach 25% podanej dawki wydzielono ze skrzeli i przewodu moczowego, w przybliżeniu 5% z żółci. Analiza radioaktywnych składników w żółci wykazała jedną lub dwie pochodne I3C i brak związku macierzystego. Radioaktywność zgromadzona w wątrobie wahała się między 1% a 1,5% podanej dawki. Głównym radioaktywnym składnikiem (40%) odzyskanym z wątroby okazał się związek wstępnie zidentyfikowany jako DIM. [Dashwood I wsp., 1989]

Oligomeryzacja I3C prowadzi do powstania związku indolo(3,2-b)karbazolu (ICZ). Badania nad tym związkiem prowadzono na szczurach, karmionych świeżą lub homogenizowaną kapustą (dieta

zawierała 25% kapusty) przez pięć dni. Dodatkowo grupie szczurów podawano doustnie 500 μ moli I3C w oleju kukurydzianym. Po 20 godzinach zakończono podawanie I3C. ICZ nie został wykryty w wątrobie, jelicie cienkim i moczu u szczurów grupy kontrolnej. Poziom ICZ wzrastał w tkankach i wydzielinach zwierząt traktowanych I3C lub żywionych dietą zawierającą kapustę [Kwon i wsp., 1994]. I3C w diecie nie jest stabilny i rozkłada się bardzo szybko. W temperaturze pokojowej stężenie związku w pożywieniu spada do 70% (0 dni), 42% (4 dni) i 34% (7 dni). I3C jest bardzo niestabilny w wodzie i w przeciągu 24 godzin jest niewykrywalny; większość I3C przekształca się do DIM.

4. TOKSYCZNOŚĆ

TOKSYCZNOŚĆ OSTRA

Samcom szczurów rasy Sprague-Dawley podawano pojedynczą dawkę I3C w ilościach 225, 500 i 600 mg /kg masy ciała. I3C wywoływał uspokojenie, ataksję, senność, zaburzenia koordynacji ruchowej. Po podaniu podskórnym dawki 500 mg I3C/ kg masy ciała 3 z 4 szczurów padły w ciągu 1 do 3 godzin po podaniu. Zwierzęta były w śpiączce przed śmiercią [Nishie i wsp., 1980].

TOKSYCZNOŚĆ PODOSTRA

Podawanie samcom świnek morskich I3C w dawce 0,3 mg/kg masy ciała w 10% *Cremophor* przez 4 dni wywołało efekt toksyczny. Po podaniu pierwszej dawki pojawiły się objawy odurzenia. Po podaniu drugiej dawki zwierzęta wykazywały nieznaczny depresję, drgawki, zwiększoną częstość i nieregularność oddechu, wzrost szmerów pęcherzykowych płuc. Stłuszczenie wątroby i międzymięższowe zapalenie płuc były najbardziej znaczącymi uszkodzeniami morfologicznymi [Gonzales i wsp., 1986].

Samcom myszy podawano 100, 250, 500 i 750 mg/kg/dzień I3C w pożywieniu przez 5 dni. Podawanie I3C w dawkach 100 i 250 nie wpłynęło na masę wątroby ani na zawartość białek mikrosomalnych, jakkolwiek w przypadku dwóch wyższych dawek (500 i 750) zaobserwowano znaczący wzrost masy wątroby i zawartości białek mikrosomalnych. Badania również wykazały, że I3C wpływa na homeostazę cholesterolu w wątrobie. Przy niższych dawkach I3C poziom cholesterolu zmniejszył się, jednakże dawki 500 i 750 powodowały znaczący wzrost rozmiaru wątroby i aktywności acetylotransferazy cholesterolowej i obniżały poziom cholesterolu w wątrobie [Leblanc i wsp., 1994]. Podawanie samcom myszy 50 mg I3C/kg masy ciała nie wpłynęło niekorzystnie na masę wątroby. I3C w dawce 100 mg/kg spowodował 16-krotny wzrost aktywności EROD(Etoksyrezo-rufino-O-deetylaza). Toksyczność I3C była również testowana po podaniu dawek większych niż 500 mg I3C/kg masy ciała. Dawki 100-500 mg/kg wywoływały zależny od dawki wzrost uszkodzeń neurologicznych. Po podaniu dawki 500 mg/kg zwierzęta stawały się senne, a przy dawkach \leq 100 mg/kg zaobserwowano wzrost uszkodzeń neurologicznych, związanych przede wszystkim z motoryką [Shertzer i wsp., 1991]. W innym badaniu samice myszy były karmione dietą zawierającą I3C w stężeniu 2500 mg/kg pożywienia. W oparciu o zanotowane spożycie żywności dzienna dawka I3C wynosiła około 400 mg/kg masy ciała. Masa wątroby znacząco wzrosła w porównaniu do grupy kontrolnej. Dodatkowo wystąpił znaczący wzrost (trzykrotny) poziomu CYP450. W moczu zmniejszył się współczynnik estrogenowych metabolitów: 16 α -hydroksyestronu i 2-hydroksyestronu.

TOKSYCZNOŚĆ PRZEWLEKŁA

Szczury i psy otrzymywały I3C w dawkach 0, 4, 20, 100 mg/kg masy ciała przez 13 tygodni. Psy otrzymujące 100 mg miały anoreksję, odwodnienie, utratę wagi, biegunkę i wymioty. Po 4 tygodniach dawkę w grupie najwyższej zmniejszono do 50 mg/kg. Wakuolizacja nabłonka woreczka żółciowego była obserwowana przy wszystkich dawkach, podczas gdy wakuolizacja kory nerek i komórek ściany żołądka była obserwowana tylko dla zwierząt otrzymujących najwyższą dawkę. W grupie samców szczurów otrzymujących najwyższą dawkę zaobserwowano nieznaczne zmniejszenie wagi ciała. Waga względna wątroby (% wagi mózgu) w tej grupie znacząco wzrosła i była związana z wewnątrzrzazikową hipertrofią hepatocytów. Samice także wykazywały znaczącą hiperbilirubinemię. W grupie szczurów otrzymujących średnią i dużą dawkę został zaobserwowany wzrost względnej masy nerek, ale nie poparty klinicznymi zmianami chemicznymi [Youssef i wsp., 1995].

GENOTOKSYCZNOŚĆ

W badaniach Sasagawa i wsp., [Sasagawa i wsp., 1991], Brooks i wsp., [Brooks i wsp., 1984] oraz w badaniach Birt i wsp., [Birt i wsp., 1986] nie stwierdzono mutagenności I3C wobec szczepów *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100 zarówno w obecności jak i bez obecności aktywacji metabolicznej. Ponadto w badaniach Sasagawa i wsp., [Sasagawa i wsp., 1991], nie stwierdzono działania mutagennego w próbach z wykorzystaniem szczepów *E. coli* WP2 uvrA/pKM101. Jednak w wyniku traktowania I3C wraz azotynem o pH 3 otrzymano pozytywne wyniki świadczące o mutagenności wobec szczepów *Salmonella typhimurium* TA98, oraz o umiarkowanej mutagenności wobec szczepów *Salmonella typhimurium* TA100 [Sasagawa i wsp., 1991].

I3C nie wywoływał wymiany chromatyd siostrzanych SCE (sister chromatid exchanges) w komórkach jajników chomików Chińskich [Kuo i wsp., 1992; Agrawal i wsp., 1999].

I3C w stężeniu (20 µg/płytkę) miał mały lub nie miał efektu na mutagenność metylnitrozomocznika (MNU) lub N-metylo-N-nitrozoguanidyny (MNNG) wobec *Salmonella typhimurium*. I3C także był nieaktywny w stosunku do benzo(a)pirenu (BaP) lub 2-aminoantracenu (2-AA) w *Salmonella typhimurium*. Przy 0,1-0,2 µmol/płytkę, I3C nie inhibował mutagenności 1-nitropirenu (NP.) lub 1,6-dinitropirenu (1,6-DNP) w *Salmonella typhimurium* [Kuo i wsp., 1992].

Traktowanie hepatocytów pochodzących z embrionów kurzych dawką 25 µg/ml I3C doprowadziło do 30-45% spadku ilości SCE wywołanej przez BaP i dimetylnitrozoamine (DMN) we współhodowanych komórkach chemicznych. Nie zaobserwowano spadku SCE wywołanego przez 2-AA i etylometanosulfonian (EMS). Dla odmiany I3C spowodował 42% wzrost SCE wywołanego przez dibromoetan (DBE) [Jongen i wsp., 1989]. Odnotowano również obniżenie SCE wywołanego przez BaP. I3C, w dawce 20-60 µmoli, nie hamował wywoływania SCE przez NP lub 1,6-DNP [Kuo i wsp., 1992]. Podawanie myszom I3C w dawce 1000 mg/kg na 48 godz. przed podaniem 50 mg cyklofosfamidu/kg masy ciała doprowadziło do % zmniejszenia aberacji chromosomalnych wywołanych przez cyklofosfamid [Agrawal i wsp., 1999].

Nitrozoazotanowanie I3C (40 mmoli/l azotynu o pH 2) doprowadziło do powstania nitorozoazotanowego produktu, który jest bezpośrednim czynnikiem mutagennym dla *Salmonella typhimurium* [Tieding i wsp., 1991]. Zastosowanie azotynu przy pH 3 dało produkt będący mutagenem również dla *Salmonella typhimurium* i *E. coli* [Sasagawa i wsp., 1991].

RAKOTWÓRCZOŚĆ

Na podstawie badań [Wattenberg i wsp., 1978; Tanaka i wsp., 1992; Grubbs i wsp., 1995] oceniono, że I3C nie wywołuje nowotworów w docelowej tkance podczas podawania bez wcześniejszego ich zainicjowania. Gruczoł sutkowy poddano badaniu u szczurów SD po podaniu 100 mg I3C/dzień przez 5 dni w tygodniu poprzez odżywianie przez zgłębnik przez 106 dni. W innych badaniach sprawdzano język, szczurom ACI/N, podawano 1000 ppm I3C w diecie przez 37 tygodni. Myszy ICR/Ha traktowano I3C w dawce 0,03 mmol/g diety przez 63 dni i badaniu poddano organy jamy brzusznej.

WPLYW NA REPRODUKCJĘ I ROZWÓJ POTOMSTWA

Ciężarnym szczurom podawano I3C w dawce 200 i 300 mg/kg masy ciała przez 8 i 9 dni ciąży. Po 20dniach ciąży policzono płody i wchłonięte embriony. Masa ciała matek nie zmniejszała się po podaniu niższej dawki (200 mg), natomiast po podaniu wyższej dawki (300 mg) znacznie spadła w 9 - 11 dniu ciąży. Przy podawaniu dawki 200 mg znacząco spadł przyrost masy płodów w 20 dniu ciąży [Nishie i wsp., 1980]

Nie znaleziono efektów teragenności i embriotoksyczności przy podawaniu I3C w dawce 2 mg/kg embrionom kurcząt i w dawce 200 mg/kg myszom. Te dane prezentowane są tylko jako abstrakt, a więc niezależna ocena tych badań jest niemożliwa [Zhao i wsp., 1996]

Podawanie ciężarnym szczurom I3C przez 15 dni ciąży od 1 do 100 mg /kg w oleju kukurydzianym doprowadziło do anomalii rozrodczych u męskiego potomstwa [Wilker i wsp., 1996].

5, BADANIA KLINICZNE

FARMAKOKINETYKA

Farmakokinetyka indol-3-karbinolu u ludzi nie jest jeszcze dokładnie poznana. W warunkach *in vitro* i u zwierząt doświadczalnych I3C przekształcany jest przez w środowisku kwasu żołądkowego do DIM i ICZ, które następnie absorbowane są z przewodu pokarmowego. Zarówno stopień absorpcji I3C, DIM i ICZ jak i ich rozmieszczenie, metabolizm oraz wydalanie są obecnie badane.

BADANIA FARMAKODYNAMICZNE

SKUTECZNOŚĆ W DYSPLAZJI SZYJKI MACICY

W badaniu Bell i wsp., [Bell i wsp., 2000] podawano I3C w kapsułkach kobietom, u których wykryto dysplazję szyjki macicy. Podawane dawki I3C wynosiły 200 i 400 mg/dzień przez okres 12 tygodni. Zaobserwowano regresję dysplazji szyjki macicy w 50% u pacjentek, którym podawano 200 mg/dzień i 44% u pacjentek, którym podawano 400 mg/dzień. Wykazano również niewielki wzrost poziomu 2-hydroksyestronu w stosunku do 16 α -hydroksyestronu, który był zależny od dawki.

SKUTECZNOŚĆ W LISZAJU RUMIENIOWATYM

Podawano I3C w dawce 375 mg /dzień kobietom przed menopauzą z liszajem rumieniowatym przez 3 miesiące. Mierzono poziom 2-hydroksyestronu i 16 α -hydroksyestronu w moczu. Odnotowano wzrost poziomu 2-hydroksyestronu w stosunku do 16 α -hydroksyestronu. Nie zaobserwowano żadnych korzyści z leczenia. U jednej z pacjentek zaobserwowano wysypkę skórą, która ustąpiła po zaprzestaniu podawania I3C [McAlindon 1999, pers. comm.]

SKUTECZNOŚĆ W PAPILOMATOZIE

Opublikowano wstępne rezultaty użycia I3C w leczeniu nawrotowej oddechowej papilomatozy [Rosen CA i wsp., 1998]. Osiemnastu pacjentom podawano doustnie I3C przez minimum 8 miesięcy, a średnio przez 14.6 miesięcy. Badano zmiany w tempie przyrostu papilomy oraz porównano konieczność wykonania operacji przed leczeniem i po podaniu I3C. Wszyscy pacjenci poddawani byli wideoendoskopii w celu udokumentowania lokalizacji i tempa wzrostu papilomy. U 33% badanych pacjentów (6 na 18) zaobserwowano przerwanie wzrostu papilomy, a stan pacjentów nie wymagał już operacji, w przeciwieństwie do ich stanu przed podawaniem I3C. U 33% pacjentów tempo wzrostu papilomy zmalało, a u 33% procent podawanie I3C nie wywołało żadnych zmian klinicznych. I3C wpływa na tempo hydroksylacji estradiolu, zmiana poziomu w moczu 2-hydroksy pochodnej i 16-hydroksy pochodnej estradiolu wywołana przez I3C jest dobrze powiązana z odpowiedzią kliniczną.

WPLYW NA POZIOM METABOLITÓW 17- β -ESTRADIOLU

Michnovicz [Michnovicz, 1998] badał czy dieta zawierająca I3C wpływa na poziom 2-hydroksylacji estradiolu u otyłych kobiet. Badania polegały na podawaniu czystego I3C, 400 mg, przez dwa miesiące. W eksperymencie wzięło udział pięć zdrowych kobiet z nadwagą, w wieku przedmenopauzalnym (35-47 lat), o indeksie masy ciała 27-53 kg/m². Mierzono poziom dwóch metabolitów, 2-hydroksyestronu i estriolu w próbkach moczu, przed i po podaniu I3C. Poziom estrogenów w moczu, 2-hydroksyestronu/estriolu, znacząco wzrósł u otyłych kobiet stosujących I3C, odzwierciedlając wywołanie 2-hydroksylacji. Wzrost 2-hydroksylacji estrogenu u otyłych kobiet, podobnie jak ma to miejsce u kobiet nieotyłych, spowodowany środkiem żywieniowym - I3C, sugeruje, że I3C może być pomocny w redukcji ryzyka wystąpienia nowotworów zależnych od estrogenu.

PROFILAKTYKA RAKA PIERSI

Przeprowadzono badania na kobietach z ryzykiem wystąpienia nowotworu piersi wykonano badania określające skalę dawki. Podawano 50, 100, 200, 300 i 400 mg I3C przez 4 tygodnie, jako kontrole zastosowano grupę, której podawano placebo. W wyniku badań u dwóch pacjentek zaobserwowano nieznaczny wzrost aminotransferazy alaninowej (dawka nie sprecyzowana). Dawka 300 mg spowodowała wzrost poziomu 2-hydroksyestronu w stosunku do 16 α -hydroksyestronu w moczu [Wong i wsp., 1997].

INNE BADANIA KLINICZNE

MUC1 jest dużą transmembranową glikoproteiną ulegającą nadekspresji przez większość nowotworów. Wysoka ekspresja MUC1 jest zasocjowana z agresywnymi guzami, a antygeny MUC1 jest wykorzystywany jako marker do monitorowania postępów choroby u pacjentów z nowotworem piersi. Wykazano, że I3C hamuje ekspresję genu MUC1 w komórkach nowotworu piersi, inhibicja następuje zarówno na poziomie mRNA jak i białka, zależnie o dawki i czasu podawania [Lee, 2004]. I3C hamuje wzrost komórek nowotworu prostaty LNCaP, zależnie od dawki, przez zablokowanie cyklu komórkowego G1.I3C selektywnie hamuje ekspresję białka CDH6 oraz silnie stymuluje produkcję inhibitora p16 CDK [Zhang, 2003].

PODSUMOWANIE

Indol-3-karbinol w postaci połączeń siarkowych(glukozyzolanów) jest składnikiem roślin należących do rodziny Krzyżowych.

W oparciu o dane bibliograficzne indol-3-karbinol ma zastosowanie w prewencji nowotworów piersi, odbytu i innych typów nowotworów. Ponadto stosowany jest w fibromalagii, brodawczakowości, dysplazjach szyjki macicy liszaju rumieniowatym. Oprócz tego zalecany jest w celu równoważenia gospodarki hormonalnej, detoksykacji organizmu oraz jako środek wzmacniający układ odpornościowy.

Indol-3-karbinol zdaje się być bezpiecznym składnikiem diety. Dzielne spożycie wraz z dietą waha się od 20-120mg/dobę.

Indol-3-karbinol może być bezpieczny, jeśli jest stosowany we właściwy sposób w dawkach leczniczych. Dawki 200-400mg/dobę zdają się być bezpieczne i dobrze tolerowane, jeśli czas używania preparatu nie jest dłuższy niż 3 miesiące. Istnieją także doniesienia, iż stosowanie indol-3-karbinolu w dawkach 100-200 mg/dobę jest bezpieczne i dobrze tolerowane przez okres 15 miesięcy używania.

W okresie ciąży i laktacji przyjmowanie indol-3-karbinolu w ilościach pochodzących z naturalnych źródeł zdaje się być bezpieczne. Brak jest wystarczającej ilości dowodów na to, iż stosowanie indol-3-karbinolu w postaci suplementów diety w tym okresie było bezpieczne. Z tego powodu stosowanie indol-3-karbinolu w tym okresie nie jest zalecane.

Indol-3-karbinol zdaje się być skuteczny w terapii nowotworów śródbłonna szyjki macicy (cervical intraepithelial neoplasia). Podawanie indol-3-karbinolu przez 12 tygodni spowodowało całkowitą regresję u 45-50% pacjentek z II i III stopniem nowotworów śródbłonna szyjki macicy. Dawki 200mg/dobę zdawały się być tak samo skuteczne jak dawki 400 mg/dobę.

Istnieją również wstępne wyniki badań świadczące, że długoterminowe podawanie indol-3-karbinolu może skutecznie zredukować wzrost brodawczaków u pacjentów z nawrotami brodawczakowości układu oddechowego. Jednak jednoznaczne stwierdzenie skuteczności w tym zaleceniu wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach.

Mechanizm działania: indol-3-karbinol jest najważniejszą pochodną o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, którą wyizolowano z roślin krzyżowych. Jest to pochodna grupy związków zwanych glukozyzalanami. Jak wynika z badań *in vitro* i badań na zwierzętach, związek ten powstaje po hydrolizie glukozyzolanów w tkankach roślinnych. Ocenia się, że dziennie spożycie indol-3-karbinolu w diecie mieści się w zakresie od 20 do 120 mg/dobę. Sam indol-3-karbinol nie jest aktywny, dopiero w przewodzie pokarmowym ulega przekształceniu do aktywnych metabolitów diindolimetanu i indolilokarbazolu. Dlatego podanie parenteralne indol-3-karbinolu nie jest skuteczne. Badania naukowe są skupione nad aktywnością indol-3-karbinolu w profilaktyce nowotworów piersi, szyjki i śluzówki macicy oraz nowotworów odbytu. Powodem badań są obserwacje z, których wynika, że dieta bogata w rośliny należące do rodziny Krzyżowych skojarzona jest ze zmniejszonym ryzykiem zapadalności na nowotwory. Badacze przypuszczają, że indol-3-karbinol jest jednym z czynników odpowiedzialnych za tą aktywność. Z drugiej strony istnieją przesłanki o tym, że indol-3-karbinol ma wpływ na metabolizm wątrobowy. Niektóre z działań indol-3-karbinolu

zdają się mieć charakter zapobiegający nowotworom, podczas gdy inne potencjalnie zwiększają ryzyko ich wystąpienia. Część naukowców uważa, że indol-3-karbinol może być szczególnie użyteczny w terapii i zapobieganiu nowotworów zależnych od hormonów, w szczególności nowotworów piersi. Indol-3-karbinol indukuje enzymy wątrobowe należące do grupy cytochromów: P450 1A1 (CYP1A1 i CYP 1A2), które wpływają na metabolizm estrogenów. Estradiol w prawidłowych warunkach metabolizowany jest do 16 α -hydroksyestronu i 2 α -hydroksyestronu. 16 α -hydroksyestron wykazuje działanie genotoksyczne i rakotwórcze, uważa się również, że jest czynnikiem zwiększającym ryzyko powstania nowotworów piersi oraz śluzówki macicy. Indol-3-karbinol powoduje zmniejszenie produkcji tego metabolitu, zwiększając produkcję 2 α -hydroksyestronu, co prawdopodobnie jest mechanizmem ochronnym przeciw nowotworom zależnym od hormonów. Indol-3-karbinol indukuje także cytochromy P450 2B1, 2B2, 3A1 i 3A2, jak również enzymy fazy II metabolizmu ksenobiotyków takie jak S-transferaza glutationowa, reduktaza chinonowa i difosforydynotransferaza glukoronidowa. Faza II procesu metabolizmu ksenobiotyków ma wpływ na detoksykację poprzez zwiększenie ich rozpuszczalności w wodzie, a co za tym idzie zwiększenie wydalania. Istnieją również przesłanki o właściwościach antyoksydacyjnych indol-3-karbinolu, o właściwościach indukowania apoptozy jak i wpływie na cykl komórkowy. Większość wyników badań naukowych wskazuje, że indol-3-karbinol wykazuje działanie przeciwnowotworowe, jakkolwiek istnieją dowody świadczące o jego potencjalnie odwrotnych właściwościach. Wpływ na metabolizm niektórych toksyn powoduje zwiększenie ich działania kancerogenego poprzez syntezę bardziej szkodliwych metabolitów. Ostatecznie stwierdzenie czy indol-3-karbinol jest związkiem zapobiegającym powstawaniu nowotworów czy indukującym powstawanie nowotworów, wymaga uwzględnienia towarzyszących czynników takich jak dieta oraz czas i dawki tego związku. Przykładem są badania na zwierzętach, gdzie podawanie indol-3-karbinolu wraz z czynnikami prokancerogennymi lub przed ich podaniem ma działanie zmniejszające ich toksyczność. Jeśli jednak indol-3-karbinol podany zostaje po traktowaniu zwierząt czynnikiem kancerogennym, w okresie inicjacji nowotworu to może on spełniać rolę czynnika indukującego wzrost guza i zwiększać ryzyko jego rozwoju. Jakkolwiek dane doświadczalne są rozbieżne, to istnieją przesłanki świadczące o korzystnym działaniu indol-3-karbinolu w chorobach związanych z ludzkim wirusem brodawczakowatości. Indol-3-karbinol zdaje się wykazywać działanie immunomodulujące. W modelach zwierzęcych indol-3-karbinol w wysokich dawkach wykazuje działanie depresyjne na aktywność komórek NK natomiast wzmacnia nadwrażliwość typu opóźnionego. Wyjaśnienie czy działania na układ odpornościowy są odpowiedzialne za działanie przeciwnowotworowe indol-3-karbinolu wymaga dalszych badań.

Działania uboczne: podawany doustnie indol-3-karbinol jest na ogół dobrze tolerowany. Jakkolwiek część pacjentów przejawia zarumienienie skóry i niewielki wzrost poziomu enzymów wątrobowych. Objawy te występują jednak rzadko. W bardzo wysokich dawkach powyżej 400 mg/dobę u pacjentów występują objawy zaburzeń równowagi, drgawki i znużenie. Istnieją również przesłanki, że u niektórych pacjentów indol-3-karbinol może być czynnikiem indukującym powstawanie i rozwój guzów nowotworowych. Istnieją dane świadczące, że u pacjentów z rozwijającym się nowotworem indol-3-karbinol może mieć niekorzystny wpływ ze względu na zwiększenie ekspozycji na kancerogeny. Jakkolwiek są to jedynie przesłanki pochodzące z badań wstępnych a efekty takie nie zostały potwierdzone w badaniach klinicznych. Stwierdzenie czy indol-3-karbinol może mieć niekorzystny wpływ na organizm człowieka lub stwarzać zagrożenie, wymaga dalszych badań.

Dawkowanie i droga podania. Indol-3-karbinol stosuje się wyłącznie doustnie. W dysplazji szyjki macicy podaje się 200-400mg/dobę indol-3-karbinolu. Jakkolwiek dawka 200mg/dobę zdaje się być tak samo skuteczna. W prewencji raka piersi podaje się 300mg/dobę indol-3-karbinolu. Dorosłym z brodawczakowatością układu oddechowego podaje się 200mg/dobę indol-3-karbinolu. Dzieciom z brodawczakowatością układu oddechowego podaje się indol-3-karbinol w zależności od wagi dziecka. Indol-3-karbinol w Stanach Zjednoczonych stał się bardzo popularnym suplementem diety. Narodowy Instytut Zdrowia uznał indol-3-karbinol jako potencjalny środek przeciwnowotworowy i obecnie sponsoruje badania kliniczne mające na celu ustalenie skuteczności działania tego związku.

6. BIBLIOGRAFIA

Agrawal RC, Kumar S. Prevention of chromosomal aberration of mouse bone marrow by indole-3-carbinol. *Toxicol Let.* 1999;106:137-41

Bailey GS, Dashwood RH, Fong AT, et al. Modulation of mycotoxin and nitrosamine carcinogenesis by indole-3-carbinol: quantitative analysis of inhibition versus promotion. *IARC Sci Publ.* 1991;105:275-80

Balk JL. Indole-3-carbinol for cancer prevention. *Altern Med Alert.* 2000;3:105-7

Bell MC, Crowlay-Nowick P, Bradlow LH, Sepkovic DW, Schmidt-Grimmingen D, Howell P, et al. Placebo-controlled trial of indole-3-carbinol in the treatment of CIN. *Gynecologic Oncology.* 2000;78:123-9

Bradfield CA, Bjeldanes LF. Modification of carcinogen metabolism by indolylic autolysis product of *Brassica oleracea*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1991; 289:153-63

Bradlow HL, Michnovicz J, Telang NT, Osborne MP. Effects of dietary indole-3-carbinol on estradiol metabolism and spontaneous mammary tumors in mice. *Carcinogenesis.* 1991;12:1571-4

Bradlow HL, Sepkovic EW, Telang NT, Osborne MP. Multifunctional aspects of the action of indole-3-carbinol as an antitumor agent. *Ann NY Acad Sci.* 1999;889:204-13

Broadbent TA, Broadbent HS. The chemistry and pharmacology of indole-3-carbinol (indole-3-methanol) and 3-(methoxymethyl)indole. [Part II]. *Curr Med Chem.* 1998;5(6):469-91

Chang Y-C, Riby J, Chang GH-F, Peng B, Firestone G, Bjeldanes LF. Cytostatic and antiestrogenic effects of 2-(indol-3-ylmethyl)-3,3'-diindolylmethane, a major in vivo product of dietary indole-3-carbinol. *Biochem Pharmacol.* 1999;58: 825-34

Christensen JG, LeBlanc GA. Reversal of multidrug resistance in vivo by dietary administration of the phytochemical indole-3-carbinol. *Cancer Res.* 1996;56(3):574-81

Dashwood RH, Uyetake L, Fong AT, Hendricks JD, Bailey GS. In vivo disposition of the natural anti-carcinogen indole-3-carbinol after p.o. administration to rainbow trout. *Food Chem. Toxicol.* 1989;27(6):385-92

Dashwood RH. Indole-3-carbinol: anticarcinogen or tumor promoter in brassica vegetables? *Chem Biol Interact.* 1998;110:1-5

DeKruif CA, Marsman JW, Venekamp JC, Falke HE, Noordhoek J, Blaauboer BJ, Wortelboer HM. Structure elucidation of acid reaction products of indole-3-carbinol: Detection in vivo and enzyme induction in vitro. *Chem-Biol Interact.* 1991 ;80(3):303-15

Gonzalez JM, Yusta B, Garcia C, Carpio M. Pulmonary and hepatic lesions in experimental 3-hydroxymethylindole intoxication. *Vet Hum Toxicol.* 1986;28(5):418-20

Grubbs CJ, Steele VE, Casebolt T, Juliana MM, Eto I, Whitaker LM, Dragnev KH, Kelloff GJ, Lubet RL. Chemoprevention of chemically-induced mammary carcinogenesis by indole-3-carbinol. *Anticancer Res.* 1995;15:709-16

He YH, Friesen MD, Ruch RJ, Schut HA. Indole-3-carbinol as a chemopreventive agent in 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) carcinogenesis: inhibition of PhIP-DNA adduct formation, acceleration of PhIP metabolism, and induction of cytochrome P450 in female F344 rats. *Food Chem Toxicol.* 2000;38:15-23

Jongen WMF, Topp RJ, Wienk KJH, Homan EC. Modulating effects of naturally occurring indoles on SCE induction depend largely on the type of mutagen. *Mutat Res.* 1989;222(3):263-9

Jongen WMF. Glucosinates in Brassica: Occurrence and significance as cancer-

modulating agents. *Proc Nutr Soc.* 1996;55(1B):433-46

Kim DJ, Han BS, Ahn B, Hasegawa R, Shirai T, Ito N, Tsuda H. Enhancement by indole-3-carbinol of liver and thyroid gland neoplastic development in a rat medium-term multiorgan carcinogenesis model. *Carcinogenesis.* 1997;18(2):377-81

Kojima T, Tanaka T, Mori H. Chemoprevention of spontaneous endometrial cancer in female Donryu rats by dietary indole-3-carbinol. *Cancer Res.* 1994;54(6):1446-9

Kuo ML, Lee KC, Lin JK. Genotoxicities of nitropyrenes and their modulation by apigenin, tannic acid, ellagic acid and indole-3-carbinol in the *Salmonella* and CHO systems. *Mutat Res.* 1992;270(2):87-95

Kwon CS, Grose KR, Riby J, Chen YH, Bjeldanes LF. In vivo production and enzyme-inducing activity of indolo[3,2-b]carbazole. *J Agric Food Chem.* 1994;42(11): 2536-40

Leblanc GA, Stuart JD, Dunn SE, Baldwin WS. Effect of the plant compound indole-3-carbinol on hepatic cholesterol homeostasis. *Fd Chem Toxic.* 1994;32(7):633-9

Lee U, Han F, Beak J, Hisatsune A, Kim KCh, Inhibition of MUC1 expression by indole-3-carbinol. *Int J Cancer.* 2004;109:810-6

McAlindon TE, Gulin J, Klug TL, Lahita R, Chen T. Effects of indole-3-carbinol (I3C) on estrogen metabolism and disease activity in women with SLE. The American College of Rheumatology-63rd Annual Scientific Meeting. Abstract#1165. 1999

Michnovicz JJ, Bradlow HL. Induction of estradiol metabolism by dietary indole-3-carbinol in humans. *J Natl Cancer Inst.* 1990;82:947-9

Michnovicz JJ. Increased estrogen 2-hydroxylation in obese women using oral indole-3-carbinol. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998;22(3):227-9

Nishie K, Daxenbichler ME. Toxicology of glucosinolates, related compounds (nitriles, R-goitrin, isothiocyanates) and vitamin U found in cruciferae. *Food Cosmet Toxicol.* 1980;18(2):159-72

Osborne MP, Karmali RA, Hershcopf RJ, Bradlow HL, Kourides IA, Williams WR, et al. Omega-3 fatty acids: Modulation of estrogen metabolism and potential for breast cancer prevention. *Cancer Invest.* 1988;8:629-31

Pence BC, Buddingh F, Yang SP. Multiple dietary factors in the enhancement of dimethylhydrazine carcinogenesis: main effect of indole-3-carbinol. *J Natl Cancer Inst.* 1986;77:269-76

Riby JE, Feng C, Chang Y-U, Schaldach CM, Firestone GL, Bjeldanes LF. The major cyclic trimeric product of indole-3-carbinol is a strong agonist of the estrogen receptor signaling pathway. *Biochemistry.* 2000;39:910-8

Rosen CA, Woodson GE, Thompson JW, Hengesteg AP, Bradlow HL. Preliminary results of the use of indole-3-carbinol for recurrent respiratory papillomatosis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;118(6):810-5

Sasagawa C, Matsushima T. Mutagen formation on nitrite treatment of indole compounds derived from indole-glucosinolate. *Mutat Res.* 1991;250(1-2):169-74

Schneider J, Huh MM, Bradlow HL, Fishman J. Anti-estrogen action of 2-hydroxyestrone on MCF-7 human breast cancer cells. *J Biol Chem.* 1984;259:4840-5

Schneider J, Kinne D, Fracchia A, Pierce V, Andersen KE, Bradlow HL, Fishman J. Abnormal oxidative metabolism of estradiol in women with breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982;79:3047-51

Sharma S, Stutzman JD, Kelloff GJ, Steele VE. Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Res.* 1994;54(22):5848-55

Shertzer HG, Sainsbury M. Intrinsic acute toxicity and hepatic enzyme inducing properties of the chemoprotectants indole-3-carbinol and 5,10-dihydroindeno[1,2-b]indole in mice. *Food Chem Toxicol.* 1991;29(4):237-42

Tabor MW, Shertzer HG, Myers BL. In vitro metabolism of the dietary chemopreventive agent indole-3-carbinol. *FASEB (Fed Am Soc Exp Biol) J.* 1988;2(5):abstract 4881

Tanaka T, Kojima T, Morishita Y, Mori H. Inhibitory effects of the natural products indole-3-carbinol and sinigrin during initiation and promotion phases of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Jpn J Cancer Res.* 1992;83:835-42

Telang NT, Katdare M, Bradlow HL, et al. Inhibition of proliferation and modulation of estradiol metabolism: novel mechanisms for breast cancer prevention by the phytochemical indole-3-carbinol. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1997;216:246-52

Telang NT, Suto A, Wong GY, Osborne MO, Bradlow HL. Induction by estrogen metabolite 16 α -hydroxyestrone of genotoxic damage and aberrant proliferation in mouse mammary epithelial cells. *J Natl Cancer Inst.* 1992;84:634-8

Tiedink HGM, Davies JAR, Jongen WMF, Van Broekhoven LW. Stability of mutagenic nitrosated products of indole compounds occurring in vegetables. *IARC Sci Publ.* 1991;105:584-7

Ursin G, London S, Stanczyk FZ, Gentschein E, Paganini-Hill A, Ross RK, Pike MC. Urinary 2-hydroxyestrone/16 α -hydroxyestrone ratio and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Nat Cancer Inst.* 1999;91(12):1067-72

Wattenberg LW, Loub WD. Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced neoplasia by naturally occurring indoles. *Cancer Res.* 1978;38:1410-3

Wilker C, Johnson L, Safe S. Effects of developmental exposure to indole-3-carbinol or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive potential of male rat offspring. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1996;141(1):68-75

Wong GYC, Bradlow L, Sepkovic D, Mehl S, Mailman J, Osborne MP. Dose-ranging study of indole-3-carbinol for breast cancer prevention. *J Cellular Biochem Suppl.* 1997;28/29:111-6

Youssef AF, Levine BS, Tomlinson MJ, Crowell J. Thirteen week oral toxicity studies of the chemopreventive agent indole-3-carbinol in rats and dogs. *Toxicologist.* 1995;15:292 [Abstract]

Yuan F, Chen D-Z, Liu K, Sepkovic DW, Bradlow HL, Auburn K. Anti-estrogenic activities of indole-3-carbinol in cervical cells: Implication for prevention of cervical cancer. *Anticancer Res.* 1999;19:1673-80

Zhang J, Hsu JC, Kinseth MA, Bjeldanes LF, Firestone GL. Indole-3-carbinol induces a G1 cell cycle arrest and inhibits prostate-specific antigen production in human LNCaP prostate carcinoma cells. *Cancer.* 2003;98(11):2511-20

Zhao F, Mayura K, Kocurek N, Edwards JF, Kubena LF, Safe S, Phillips TD. Effects of 2,2',4',4',5,5'-hexachlorobiphenyl and indole-3-carbinol on 3,3',4,4'5-pentachlorobiphenyl-induced teratogenesis in chicken embryos and C57BL/6 mice. *Toxicologist.* 1996;30(1 pt. 2):197 [Abstract]