

## Risikovurdering af quercetin i kosttilskud

### **Opdrag**

Fødevarestyrelsen har anmodet om en risikovurdering vedrørende tilsætningen af stoffet quercetin fra *Sophora japonica* til et kosttilskud. Det oplyses, at der er tale om en tilsætning af 128 mg quercetin pr. anbefalet daglig dosis.

Derudover anmodes om udarbejdelse af en specifikation for stoffet.

### **Konklusion**

På baggrund af en beregnet øvre grænse for sikkert dagligt indtag på 28 mg quercetin for en voksen person, vurderer DTU Fødevareinstituttet, at det er sundhedsmæssigt betænkeligt at tilsætte en daglig dosis på 128 mg quercetin til et kosttilskud.

### **Metodebeskrivelse**

Firmaet har fremsendt en sikkerhedsvurdering for quercetin. Referencerne i denne sikkerhedsvurdering er primært publiceret for mere end 10 år siden.

Der er derfor lavet en supplerende litteratursøgning i databaserne PubMed og Web of Science dækkende perioden 1. januar 2007 til 4. august 2017. De fundne data er efterfølgende gennemgået med henblik på at identificere relevant og ny viden om quercetin til brug for risikovurderingen af en tilsætning af quercetin (i form af quercetin dihydrat) til et kosttilskud på 128 mg quercetin pr. anbefalet daglig dosis.

### **Vurdering**

#### **Forekomst**

Quercetin er et naturligt forekommende stof (flavonoid der kemisk tilhører gruppen af polyphenoler) og findes primært i form af glykosider i mange frugter, grøntsager, kerner og blade. Hovedkilderne til quercetin er løg, æbler, tranebær og blåbær samt sort te og rødvin (Harwood et al. 2007).

Det daglige indtag af quercetin (primært i form af glykosider) fra kosten er rapporteret til at variere fra mindre end 5 mg/dag til ca. 40 mg/dag (Harwood et al. 2007). I Danmark er det gennemsnitlige daglige indtag rapporteret til 8,6 mg/dag og 90 percentilen til 16,9 mg/dag (Justesen et al. 2000).

#### **Toksikokinetik**

Quercetinglykosider optages kun i ringe grad fra tyndtarmen efter indtagelse, men hydrolyseres efterfølgende i tyktarmen til quercetin og sukkerdelen, hvorefter quercetin kan optages i blodbanen

(NTP 1992). Der er i litteraturen ikke fundet oplysninger om omfanget af hydrolyseringen af quercetinglykosider og dermed vides det heller ikke, hvor meget quercetin der kan optages fra kosten.

Der er talrige undersøgelser af optagelse og omdannelse af quercetin efter oral indtagelse. I tyndtarmen omdannes quercetin til flere forskellige omdannelsesprodukter, og både fri quercetin og omdannelsesprodukterne optages derefter fra tyndtarmen. Undersøgelser i både mennesker og i forsøgsdyr peger på, at op til 60% af en indtaget dosis quercetin (total quercetin) kan optages fra tyndtarmen. Efter optagelse fordeles quercetin og omdannelsesprodukterne til kroppens væv og organer, hvorefter de hurtigt omdannes i leveren og udskilles med urin eller galde. (Harwood et al. 2007, IARC 1999, NTP 1992).

### **Skadelige effekter på arvematerialet / DNA (generne)**

En række *in vitro* forsøg (cellekulturer) med quercetin har vist skadelige effekter på DNA. Genmutationer er observeret i bakterier (Resende et al. 2012, Cross et al. 1996, Silva et al. 2000). DNA skader i form af kromosomskader og DNA strengbrud er også observeret i pattedyrceller (Silva et al. 2000, Caria et al. 1995, Das et al. 2017).

På denne baggrund vurderer DTU Fødevareinstituttet, at quercetin er genotoksisk *in vitro*.

Der er også udført en række studier, hvor det genotoksiske potentiale af quercetin *in vivo* (dyreforsøg) er undersøgt. Langt de fleste studier har undersøgt for kromosomskader i knoglemarven. De fleste studier har ikke påvist en genotoksisk effekt. Der er dog den begrænsning ved flere af studierne, at det ikke er vist, hvorvidt quercetin når frem til cellerne i knoglemarven (Ciernak et al. 2004, Ngomuo & Jones 1996, Aeschbacher et al. 1982, Caria et al. 1995, Taj & Nagarajan 1996), hvorfor disse studier ikke kan inddrages i en vurdering af det genotoksiske potentiale af quercetin *in vivo*.

Der er fundet tre veludførte *in vivo* studier (dyreforsøg), som ikke er refereret i firmaets ansøgning: I det ene studie er der i knoglemarvsceller fra mus set kromosomskader samt DNA strengbrud efter injektion af quercetin i bughulen (da Silva et al. 2002). Kromosomskader blev påvist ved en dosis på 1250 mg/kg legemsvægt per dag, mens der ved den højeste dosis på 2500 mg/kg legemsvægt per dag og ved den laveste dosis på 625 mg/kg legemsvægt per dag ikke blev påvist kromosomskader. DNA strengbrud blev påvist ved alle tre doser, dog uden en lineært dosis respons sammenhæng. I et andet studie med mus sås ligeledes kromosomskader i knoglemarvscellerne efter injektion af quercetin i bughulen (doser mellem 25 og 100 mg/kg legemsvægt per dag) samt efter oral administration af quercetin (100 mg/kg legemsvægt per dag, den eneste dosis i studiet) (Mazumdar et al. 2011).

I det tredje studie blev der ikke påvist kromosomskader i knoglemarvsceller fra rotter eller øget DNA reparation i leverceller fra rotter efter oral administration af quercetin i doser op til 2000 mg/kg legemsvægt per dag (Utesch et al. 2008). I dette studie er det påvist, at quercetin nåede frem til cellerne i knoglemarven.

Samlet set indikerer de fleste *in vivo* studier, at quercetin ikke er genotoksisk *in vivo*, inklusiv et velgennemført studie med rotter (Utesch et al. 2008). Der er dog to veludførte studier med mus, der

viser en genotoksisk effekt efter oral administration af quercetin (Mazumdar et al. 2011) såvel som efter injektion i bughulen (Mazumdar et al. 2011, da Silva et al. 2002).

På denne baggrund vurderer DTU Fødevareinstituttet, at det ikke kan udelukkes, at quercetin kan være genotoksisk *in vivo*.

### **Generelle effekter og kræftfremkaldende effekter**

Der er fem korterevarende studier (fra 21 dage til 5 uger) med oral administration af quercetin til rotter og mus (Ruiz et al. 2006, Barrenetxe et al. 2006, García-Saura et al. 2005, Rangan et al. 2002, Nakamura et al. 2000, alle citeret fra Harwood et al. 2007).

Disse studier, som også er refereret i firmaets ansøgning, peger på, at quercetin ikke giver alvorlige toksiske effekter ved doser op til 1000 mg/kg legemsvægt per dag hos rotter (3 studier) og op til 3000 mg/kg legemsvægt per dag hos mus (2 studier) (Harwood et al. 2007).

Der er seks længerevarende studier af ældre dato (1952-1984) og af forskellig varighed (5,5-28 måneder) med oral administration af quercetin til rotter, mus og hamstere (Ambrose et al. 1952, Stoewsand et al. 1984, Hosaka & Hirono 1981, Takanashi et al. 1983, Hirono et al. 1981, Morino et al. 1982, alle citeret fra Harwood et al. 2007, IARC 1999 og fra NTP 1992 (undtagen Ambrose et al. 1952, Stoewsand et al. 1984)).

Disse studier, som også er refereret i firmaets ansøgning, peger på, at quercetin ikke giver alvorlige toksiske effekter inklusiv kræftsvulster (tumorer) ved doser op til 5000 mg/kg legemsvægt per dag hos rotter (4 studier), op til 7500 mg/kg legemsvægt per dag hos mus (1 studie) og op til 12.000 mg/kg legemsvægt per dag hos hamstere (1 studie) (NTP 1992, IARC 1999, Harwood et al. 2007). Alle disse studier har større eller mindre begrænsninger med henblik på en vurdering af en mulig kræftfremkaldende effekt af quercetin og vil derfor ikke blive inddraget i vurderingen.

Der er to længerevarende studier med oral administration af quercetin, der begge peger på, at quercetin ikke er kræftfremkaldende hos rotter (Ito et al. 1989) eller hos mus (Saito et al. 1980). Begge studier er refereret i firmaets ansøgning.

I studiet af Ito et al. (1989) fik rotter (50 dyr/køn/gruppe) 0, 1,25 eller 5,0% quercetin med foderet i 104 uger, svarende til et gennemsnitligt indtag på 0, 427/497 eller 1926/2372 mg/kg legemsvægt per dag for hanner/hunner (Ito et al. 1989). I den højeste dosisgruppe sås nedsat legemsvægt hos begge køn. Forekomsten af tumorer var sammenlignelig mellem dyr i kontrolgruppen og behandlede dyr. Forfatterne konkluderede derfor, at dette studie peger på, at quercetin ikke er kræftfremkaldende i rotter ved indtagelse af gennemsnitlige daglige doser i foderet på op til 1926/2372 mg/kg legemsvægt per dag (for hanner/hunner) i 2 år.

Dette studie er velgennemført og er sammenligneligt med OECD testguideline for et kronisk toksicitets / cancer forsøg (OECD TG 453).

I studiet af Saito et al. (1980) fik mus 0% (16 hanner og 15 hunner) eller 2% (38 hanner og 35 hunner) quercetin med foderet i hele levetiden (120 uger), svarende til 0 eller 3000 mg/kg legemsvægt per dag (iflg. Harwood et al. 2007). Forekomsten af tumorer var sammenlignelig mellem dyr i kontrolgruppen og behandlede dyr.

Begrænsninger i dette studie med henblik på en vurdering af en mulig kræftfremkaldende effekt af

quercetin er 1) det lille antal dyr (i et testguideline studie er der 50 dyr/køn/gruppe), 2) kun en enkelt dosisgruppe (i et testguideline studie er der 3 doserede grupper og en kontrolgruppe), samt 3) kun et meget kort abstrakt samt en kort beskrivelse i Harwood et al. (2007) har været tilgængelig for vurderingen.

Der er endvidere to længerevarende studier med oral administration af quercetin til rotter, der begge peger på en mulig kræftfremkaldende effekt af quercetin (Pamukcu et al. 1980, NTP 1992). Begge studier er refereret i firmaets ansøgning.

I studiet af Pamukcu et al. (1980) fik rotter 0% (9 hanner og 10 hunner) eller 0,1% (7 hanner og 18 hunner) quercetin med foderet i 58 uger, svarende til 0 eller 52/47 mg/kg legemsvægt per dag (for hanner/hunner, iflg. Harwood et al. 2007). Der sås tumorer i blæren hos 2/7 hanner og 3/18 hunner samt tumorer i tyndtarmen hos 6/7 hanner og 14/18 hunner versus ingen tumorer i kontrolgruppen. Begrænsninger i dette studie med henblik på en vurdering af en mulig kræftfremkaldende effekt af quercetin er 1) det lille antal dyr (i et testguideline studie er der 50 dyr/køn/gruppe), 2) kun en enkelt dosisgruppe (i et testguideline studie er der 3 doserede grupper og en kontrolgruppe), samt 3) den korte eksponeringstid (i et testguideline studie med rotter er eksponeringstiden 104 uger).

I NTP studiet (NTP 1992) fik rotter (50 dyr/køn/gruppe) 0, 1000, 10.000 eller 40.000 ppm quercetin med foderet i 104 uger, svarende til et gennemsnitligt indtag på 0, 40, 400 eller 1900 mg/kg legemsvægt per dag. I den højeste dosisgruppe sås nedsat tilvækst hos begge køn. Hos hanrotter sås primært toksiske effekter i nyrerne i form af kronisk nefropati (nyreskade, dosis-relateret sværhedsgrad), øget forekomst af hyperplasi (forøgelse af antallet af celler) i nyreepithelet (dosis-relateret), samt øget forekomst af godartede tumorer (adenomer, dosis-relateret). Hos hanrotter sås også øget forekomst af hyperplasi i parathyroidea (biskjoldbruskkirtlerne, dosis-relateret). Der sås ingen effekter i nyrerne hos hunrotter. Der blev ikke observeret alvorlige toksiske effekter i andre væv og organer.

Baseret på den øgede forekomst af adenomer i nyrerne hos hanrotter konkluderede forfatterne, at der er nogen evidens for en kræftfremkaldende effekt af quercetin hos hanrotter, mens der ikke er evidens for en kræftfremkaldende effekt af quercetin hos hunrotter.

Dette studie er velgennemført og er sammenligneligt med OECD testguideline for et kronisk tox / cancer forsøg (OECD TG 453).

Det Internationale Agentur for Kræftforskning (IARC 1999) har inddraget alle ti ovennævnte studier i deres vurdering af en mulig kræftfremkaldende effekt af quercetin og har konkluderet, at der er begrænset evidens for en kræftfremkaldende effekt af quercetin hos forsøgsdyr. Der er ingen humane data. Baseret herpå er den overordnede IARC vurdering, at quercetin ikke kan klassificeres for en eventuel kræftfremkaldende effekt i mennesker (gruppe 3). I gruppe 3 placeres de stoffer, som IARC har vurderet, men hvor der ikke er tilstrækkelig evidens for klassificering enten som 'erkendt / sandsynlig / mulig kræftfremkaldende i mennesker' (IARC gruppe 1 / 2A / 2B) eller som 'ikke kræftfremkaldende i mennesker' (IARC gruppe 4). I firmaets ansøgning er placeringen af quercetin i gruppe 3 beskrevet, som at IARC ikke har klassificeret quercetin som kræftfremkaldende i mennesker. DTU Fødevarerinstitutionen bemærker, at dette ikke er en korrekt fortolkning.

I NTP studiet sås en statistisk signifikant øget forekomst af adenomer i nyrerne hos hanrotter i den højeste dosisgruppe (9/50 versus 1/50 i kontrolgruppen,  $p=0,010$ ) og i den midterste dosisgruppe (7/50 versus 1/50 i kontrolgruppen,  $p=0,032$ ). Forekomsten var ikke øget i den laveste dosisgruppe (2/50 versus 1/50 i kontrolgruppen,  $p=0,526$ ). Et nul-effekt niveau (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) for øget forekomst af tumorer vurderes således til 1000 ppm quercetin i foderet svarende til 40 mg/kg legemsvægt per dag.

På denne baggrund vurderer DTU Fødevareinstituttet, at det ikke kan udelukkes, at quercetin kan være kræftfremkaldende hos mennesker ved indtagelse af høje doser over længere tid. Baseret primært på NTP studiet (NTP 1992) vurderer DTU Fødevareinstituttet, at der er en tærskel for en eventuel kræftfremkaldende effekt.

### **Reproduktionsskadelige effekter og effekter på det ufødte barn**

Der er to ældre studier med rotter, som begge peger på, at quercetin ikke giver reproduktionsskader eller skader på det ufødte barn.

I det ene studie sås ingen toksiske effekter hos hverken mødre eller afkom, efter at mødrene havde fået quercetin oralt i doser på 2, 200 eller 2000 mg/kg legemsvægt per dag på enten dag 9 i drægtighedsperioden eller fra dag 6-15 i drægtighedsperioden (Wilhite 1982, citeret fra NTP 1992, IARC 1999 og Harwood et al. 2007).

I det andet studie sås ingen toksiske effekter på forældregenerationen eller afkom efter oral administration af quercetin i foderet til forældregenerationen i doser op til 58/76 mg/kg legemsvægt per dag (for hanner/hunner) i 64 uger (Stoewsand et al. 1984, citeret fra NTP 1992 og Harwood et al. 2007).

### **Undersøgelser i mennesker**

Der er ikke fundet humane data, som er relevante for en vurdering af de mulige sundhedsskadelige effekter af tilsætning af quercetin til et kosttilskud.

### **Risikovurdering**

DTU Fødevareinstituttet vurderer på ovennævnte baggrund, at den kritiske effekt af quercetin efter oral indtagelse er de skadelige effekter (histopatologiske ændringer inkl. godartede tumorer) set i nyrerne hos hanrotter, der havde fået quercetin med foderet gennem lang tid (104 uger). Det kan ikke udelukkes, at quercetin kan være kræftfremkaldende hos mennesker ved indtagelse af høje doser over længere tid. DTU Fødevareinstituttet vurderer dog, at der er en tærskel for en eventuel kræftfremkaldende effekt. Et NOAEL for øget forekomst af tumorer er vurderet til 1000 ppm quercetin i foderet svarende til 40 mg/kg legemsvægt per dag. DTU Fødevareinstituttet vurderer endvidere, at det ikke kan udelukkes, at quercetin kan være genotoksisk *in vivo* efter oral administration.

For at komme fra et NOAEL på 40 mg/kg legemsvægt per dag til en øvre grænse for et sikkert indtag hos mennesker anvendes en samlet usikkerhedsfaktor (UF) på 100, som tager højde for ekstrapolering fra rotte til menneske og for inter-individuel følsomhed mellem mennesker. Den øvre grænse for sikkert indtag af quercetin sættes således til 0,4 mg/kg legemsvægt per dag. Dette svarer til en daglig dosis på 28 mg quercetin for en person, der vejer 70 kg.

På baggrund af en beregnet øvre grænse for sikkert dagligt indtag på 28 mg quercetin for en voksen person, vurderer DTU Fødevareinstituttet, at det er sundhedsmæssigt betænkeligt at tilsætte en daglig dosis på 128 mg quercetin til et kosttilskud.

### Referencer

Aeschbacher et al. (1982). Nonmutagenicity *in vivo* of the food flavonol quercetin. *Nutr Cancer* 4, 90-98.

Caria et al. (1995). Genotoxicity of quercetin in the micronucleus assay in mouse bone marrow erythrocytes, human lymphocytes, V79 cell line and identification of kinetochore-containing (CREST staining) micronuclei in human lymphocytes. *Mutat Res* 343, 85-94.

Ciernak et al. (2004). Modulatory effect of quercetin on DNA damage, induced by etoposide in bone marrow cells and on changes in the activity of antioxidant enzymes in rats. *Annales Academiae Medicae Bialostocensis Vol. 49, Suppl. 1 Proceedings*, 167-169.

Cross et al. (1996). Effect of quercetin on the genotoxic potential of cisplatin. *Int J Cancer* 66, 404-408.

Das et al. (2017). Correlation of binding efficacies of DNA to flavonoids and their induced cellular damage. *J Photochem Photobiol B: Biology* 170, 256-262.

Da Silva et al. (2002). Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food Chem Toxicol* 40, 941-947.

Harwood et al. (2007). A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of *in vivo* toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food Chem Toxicol* 45, 2179-2205.

IARC (1999). Quercetin. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 73 Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon, France, 497-515.

Ito et al. (1989). Lack of carcinogenicity of quercetin in F344/DuCrj rats. *Jpn J Cancer Res* 80, 317-325.

Justesen et al. (2000). Estimation of daily intake distribution of flavonols and flavanones in Denmark. *Næringsforskning* 44, 158-160.

Mazumdar et al. (2011). Role of quercetin on mitomycin C induced genotoxicity: Analysis of micronucleus and chromosome aberrations *in vivo*. *Mutat Res* 721, 147-152.

Ngomuo and Jones (1996). Genotoxicity studies of quercetin and shikimate *in vivo* in the bone marrow of mice and gastric mucosal cells of rats. *Vet Hum Toxicol* 38, 176-180.

NTP (1992). Toxicology and carcinogenesis studies of quercetin (CAS No. 117-39-5) in F344/N rats (feed studies). National Toxicology Program, Technical Report series No. 409, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.

Pamukcu et al. (1980). Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern (*Pteridium aquilinum*). *Cancer Res* 40, 3468-3472.

Resende et al. (2012). Mutagenicity of Flavonoids Assayed by Bacterial Reverse Mutation (Ames) Test. *Molecule* 17, 5255-5268.

Saito et al. (1980). Test of carcinogenicity of quercetin, a widely distributed mutagen in food. *Teratog Carcinog Mutagen* 1, 213-221. *Kun abstract tilgængeligt for denne vurdering.*

Silva et al. (2000). Chemical features of flavonols affecting their genotoxicity. Potential implications in their use as therapeutical agents. *Chemico-Biol Int* 124, 29-51.

Taj and Nagarajan (1996). Inhibition by quercetin and luteolin of chromosomal alterations induced by salted, deep-fried fish and mutton in rats. *Mutat Res* 369, 97-106.

Utesch et al. (2008). Evaluation of the potential *in vivo* genotoxicity of quercetin. *Mutat Res* 654, 38-44.