

Janina Drozd^(B,E,F), Elżbieta Anuszevska^(B,E,F)

Czarna jagoda – perspektywy nowych zastosowań w profilaktyce i wspomaganiu leczenia chorób cywilizacyjnych

Bilberry plant – prospects of new applications in prevention and supportive treatment of civilisation diseases

Narodowy Instytut Leków, Warszawa

STRESZCZENIE

Owoce borówki czernicy są tradycyjnym składnikiem diety i źródłem związków o charakterze przeciwutleniającym, jak antocyjany i fenolokwasy. Charakter tych związków daje możliwość szerokiego wykorzystania borówki czernicy w profilaktyce i wspomaganiu terapii szeregu chorób cywilizacyjnych: sercowonaczyniowych, nowotworowych, neurodegeneracyjnych i innych chorób wieku podeszłego.

Słowa kluczowe: borówka czernica, antocyjany, fenolokwasy, stres oksydacyjny.

Czarna jagoda, owoc o wspaniałym smaku, który gości na naszych stołach od połowy czerwca do końca lipca, jest jednym z pierwszych, letnich owoców, zbieranym ze stanu naturalnego. Jemy go chętnie w postaci surowej: świeży i mrożony oraz w postaci przetworów: soków, konfitur i dodatków do deserów, a ostatnio także jako składnik suplementów diety.

Czarna jagoda, czyli borówka czernica (*Vaccinium myrtillus*) z rodziny wrzosowatych *Ericaceae*, to gatunek wstępujący pospolicie w Europie północnej i środkowej, Ameryce Północnej oraz w północnej części Azji [1, 2, 3]. Praktycznie występuje na całym obszarze Polski, rośnie na glebach wilgotnych i kwaśnych, tworząc poszycie sosnowych i świerkowych lasów. Borówka czernica jest

ABSTRACT

Bilberry fruits are part of a traditional diet contributing to the intake of natural antioxidants, such as anthocyanins and phenolic acids. A specific nature of these agents promotes a wide use of bilberry in prevention and supportive treatment of many civilisation diseases, including cardiovascular diseases, cancer, neurodegenerative and other age-related diseases.

Keywords: bilberry, anthocyanins, phenolic acids, oxidative stress.

Bilberry, a fruit of wonderful taste included in our diet from mid-June to the end of July, is one of the first summer fruits obtained from natural growth. We like it raw (fresh or frozen) and preserved (juice, jam, dessert topping and, recently, a dietary supplement ingredient).

Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) from the heather (*Ericaceae*) family is a common species in Northern and Central Europe, North America and Northern Asia [1, 2, 3]. It is found practically in the whole area of Poland, grows in damp and acidic soils and forms underbrush of pine and spruce forests. Bilberry is a low-growing (up to 30 cm) shrub with a blooming season from April to mid-June. The fruit is a black berry with bluish, waxy coating, red pulp and dark purple

Udział współautorów / Participation of co-authors: A – przygotowanie projektu badawczego/ preparation of a research project; B – zbieranie danych / collection of data; C – analiza statystyczna / statistical analysis; D – interpretacja danych / interpretation of data; E – przygotowanie manuskryptu / preparation of a manuscript; F – opracowanie piśmiennictwa / working out the literature; G – pozyskanie funduszy / obtaining funds

niewysoką krzewinką (do 30 cm) kwitnącą od kwietnia do połowy czerwca. Owocem jest czarna jagoda z niebieskawym, woskowym nalotem, z czerwonym miąższem i ciemnofioletowym sokiem. Liście ma drobne, cienkie, jajowate, na brzegach drobno piłkowane.

Tradycyjnie stosowany surowiec leczniczy

Borówka czernica zdobyła sobie uznanie nie tylko jako smaczny owoc, ale także w medycynie ludowej jako surowiec leczniczy. Zarówno owoc jak i liść stosowany był już od XVI w. w leczeniu różnych dolegliwości, a zwłaszcza w: biegunkach, stanach zapalnych jamy ustnej i gardła, w stanach złego krążenia i zaburzeniach widzenia.

...za świadectwem Lamissiusza, że liście iey w wodzie gotowane bardzo były skuteczne w czasie zarazy... Suche jagody, albo powidelka z cukrem smażone żążywaią się w biegunkach osobliwie suchotnych, na choroby piersi, i w szkorbutcie.

Jan Krzysztof Kluk

Dykcyonarz Roślinny, Warszawa 1811

Obecnie w lecznictwie stosowany jest głównie owoc borówki czernicy – *Fructus Myrtilli*, zbierany na przełomie czerwca i lipca oraz, coraz rzadziej, liść borówki czernicy – *Folium Myrtilli*, zbierany pomiędzy czerwcem i sierpniem. Do celów farmaceutycznych owoce są suszone w warunkach naturalnych, w cieniu i przewiewie, lub w suszarniach, w temperaturze od 50 do 60°C, natomiast liście suszone są w warunkach naturalnych lub w temperaturze 40°C.

Czarna jagoda jako surowiec tradycyjnie stosowany w medycynie ludowej doczekała się trzech monografii farmakopealnych. *Farmakopea Polska* wydanie IX tom I na s. 1336 zawiera monografię 01/2008:1602 *Myrtilli Fructus Recens* – Owoc borówki czernicy, świeży (*Bilberry fruit, fresh*). W definicji surowca jest jego opis: świeży lub zamrożony dojrzały owoc *Vaccinium myrtillus* zawierający nie mniej niż 0,30% antocyjanów w przeliczeniu na chlorek 3-0-glukozydu cyjanidyny (chryzantemina). Poza definicją, w monografii opisano właściwości surowca, sposób badania jego tożsamości i zawartości 3-0-glukozydu cyjanidyny.

W tym samym tomie na s. 1337 znajduje się monografia 07/2008:2394 *Myrtilli Fructus Recentis Extractum Siccum Raffinatum et Normatum* – Wyciąg suchy oczyszczony i standaryzowany ze świeżych owoców borówki czernicy (*Fresh bilberry fruit dry extract, refined and standardised*). Wyciąg powinien zawierać od 32.4% do 39.6% antocyjanów w przeliczeniu na chlorek 3-0-glukozydu cyjanidyny.

Trzecia monografia znajdująca się na s.1338, 01/2008:1588 dotyczy suchego owocu borówki czernicy – *Myrtilli Fructus Siccus* (*Bilberry fruit dried*). Surowiec

juice. Bilberry has small, thin, egg-shaped leaflets with finely serrated margins.

Traditional medicinal plant material

Bilberry has been recognised not only as tasty fruit but also as medicinal plant material in folk medicine. Both the fruit and the leaf were used as early as in the 16th century for the treatment of various complaints, in particular diarrhoea, stomatitis and pharyngitis as well as circulation and vision problems.

...According to Lamissius, its leaves, when boiled in water, were extremely effective during the plague time... Dried fruits or fruits fried with sugar are used for treating specific diarrhoeas, breast illnesses and scurvy.

Jan Krzysztof Kluk

Dykcyonarz Roślinny, Warszawa 1811

In current medicine, bilberry fruit, *Fructus Myrtilli*, is mainly used and harvested in late June and early July as well as, decreasingly, bilberry leaf, *Folium Myrtilli*, harvested between June and August. For pharmaceutical purposes, fruits are dried in a natural mode under shadow and draught conditions or in drying plants at 50 to 60°C. Leaves are dried in a natural mode or at 40°C.

As a traditional raw plant material used in folk medicine, bilberry has been a subject of three pharmacopeia monographs. The Polish Pharmacopeia, 9th edition, vol. 1, p. 1336, contains a monograph No. 01/2008:1602 *Myrtilli Fructus Recens* – Bilberry fruit, fresh. The definition of material describes it as fresh or frozen, ripe *Vaccinium myrtillus* fruit which contains not less than 0.30% of anthocyanins as cyanidin-3-O-glucoside chloride (chrysanthemine). The monograph also includes a description of the material properties as well as methods of its identification and determination of cyanidin-3-O-glucoside chloride content.

In the same volume, p. 1337, there is a monograph No. 07/2008:2394 *Myrtilli Fructus Recentis Extractum Siccum Raffinatum et Normatum* – Fresh bilberry fruit dry extract, refined and standardised. The extract should contain 32.4% to 39.6% of anthocyanins as cyanidin-3-O-glucoside chloride.

The third monograph, p. 1338, No. 01/2008:1588, refers to dried bilberry fruit – *Myrtilli Fructus Siccus*. The material should contain not less than 1.0% of tannins as pyrogallol acid.

Biologically active compounds

Fructus Myrtilli is an anthocyanin and tannin material. It contains 5–12% of tannins, mainly in the condensed form – catechin compounds (catechin and epicatechin derivatives). Anthocyanins include delphinidin, cyanidin, malvidin, peonidin and petunidin derivatives. The material also contains ursolic acid, phenolic acids

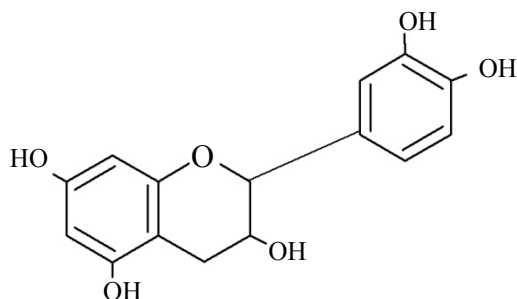
powinien zawierać nie mniej niż 1.0% garbników, w przeliczeniu na pirogalol.

Związki aktywne biologicznie

Fructus Myrtilli zaliczany jest do surowców garbnikowych i antocyjanowych. Zawartość garbników w surowcu wynosi 5–12%, głównie są to garbniki skondensowane – katechinowe (pochodne katechiny i epikatechiny). Ze związków antocyjanowych możemy znaleźć pochodne delfinidyny, cyjanidyny, malwidyny, peonidyny i petunidyny. Ponadto surowiec zawiera kwas ursolowy, fenolokwasy (chlorogenowy, ferulowy, syringowy i kawowy), witaminy: C, PP, A i z grupy B, kwasy organiczne, cukry i pektyny oraz mikroelementy, takie jak: wapń, magnez, fosfor, mangan, miedź i potas [3].

Folium Myrtilli zawiera natomiast do 7% garbników katechinowych, procyanidyny, flawonoidy (pochodne kwercetyny i kemferolu), irydoidy (aspenlozyd, monotropeinę), związki triterpenowe, fenolokwasy (chinowy, chlorogenowy, kawowy, salicylowy, p-kumarowy), alkaloidy chinolizydynowe oraz związki manganu i chromu [3].

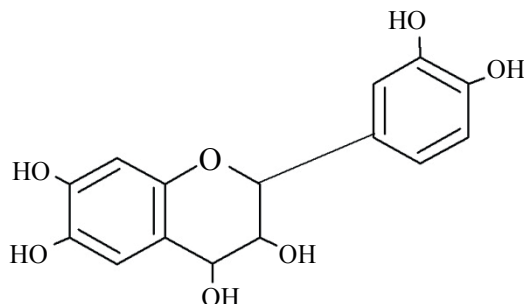
Podstawową strukturą garbników katechinowych jest cząsteczka katechiny lub bardziej prawidłowo: katecholu, czyli hydroksyflawanolu-3.



hydroksyflawanol-3

możliwe są cztery izomery optyczne: (+) katechina, (-) katechina, (+) epikatechina i (-) epikatechina

Produktem utleniania katechiny jest struktura leukoantocyjanidyny.

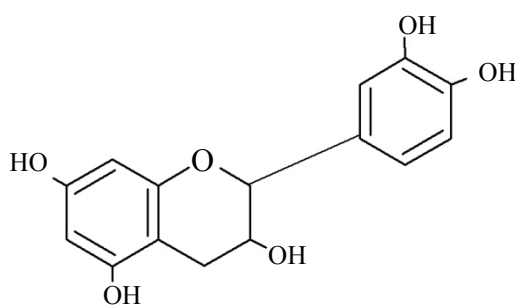


leukoantocyjanidyna

(chlorogenic, ferulic, syringic and caffeic acids), C, PP, A and B-group vitamins, organic acids, carbohydrates, pectin and microelements such as calcium, magnesium, phosphorus, manganese, copper and potassium [3].

Folium Myrtilli contains up to 7% of catechin tannins, procyanidins, flavonoids (quercetin and kaempferol derivatives), iridoids (aspenloside, monotropein), triterpenes, phenolic acids (quinic, chlorogenic, caffeic, salicylic and p-coumaric acids), quinolizidine alkaloids as well as manganese and chromium compounds [3].

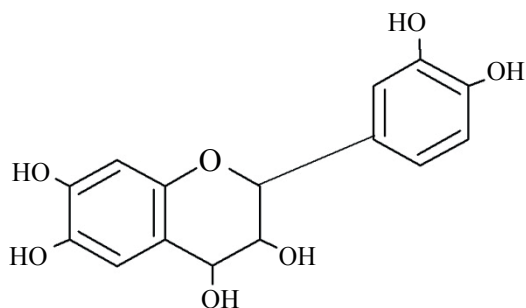
The basic structure of catechin tannins is a catechin or, more precisely, catechol i.e. hydroxyflavanol-3 molecule.



hydroksyflawanol-3

There are four possible optical isomers: (+) catechin, (-) catechin, (+) epicatechin and (-) epicatechin.

A catechin oxidation product is leucoanthocyanidin.



leukoantocyjanidin

Through oxidation, leucoanthocyanidins can be transformed into anthocyanins or tannins. Catechins and leucoanthocyanidins are not tannins because they cannot bind proteins [1].

Bilberry is one of the best sources of anthocyanins, polyphenol-type compounds, which are probably responsible for its health-boosting effects. Anthocyanin content, 300–700 mg per 100 g of fresh fruits, is far higher compared to other berry plant materials. In addition to anthocyanins, 100 g of fresh fruits contains 3 mg of vitamin C, 3 mg of quercetin and 20 mg of

Leukoantocyjanidyny poprzez utlenianie mogą dać antocyjany lub garbniki. Katechiny i leukoantocyjanidyny nie są garbnikami, ponieważ nie posiadają zdolności wiązania białka [1].

Borówka czernica jest jednym z najbogatszych źródeł antocyjanów, związków o charakterze polifenoli i to one są prawdopodobnie odpowiedzialne za prozdrowotne działanie tego surowca. W porównaniu do innych surowców jagodowych, zawartość antocyjanów jest wielokrotnie wyższa i stanowi 300-700 mg / 100 g świeżych owoców. Poza antocyjanami, 100 g świeżych owoców zawiera także 3 mg witaminy C, 3 mg kwercetyny i 20 mg katechiny [4]. Większość produktów handlowych uzyskiwanych z czarnej jagody standaryzowana jest na zawartość antocyjanów i powinno ich być nie mniej niż 25%.

Biodostępność

Antocyjany w przewodzie pokarmowym absorbowane są w formie niezmienionej, aglikon w połączeniu z resztą cukrową. Absorpcja zachodzi w żołądku i jelicie cienkim, ale ze stosunkowo niewielką wydajnością, około 11% 3-glukozydu malwidyny i około 20% 3-glukozydu cyjanidyny. W osoczu stwierdza się obecność tych związków już w kilka minut po ich podaniu doustnym [5, 6]. Dane odnośnie biodostępności antocyjan uzyskano w badaniach z wykorzystaniem innych surowców, niż czarna jagoda, głównie z winogron i w badaniach na zwierzętach [7]. Brak jest badań z udziałem ludzi i dotyczących antocyjanów pochodzących z czarnej jagody.

Wskazania do stosowania

Tradycyjnie czarna jagoda stosowana była w niezżytach żołądka i jelit jako lek przeciwbiegunkowy, głównie u dzieci. Dzięki zawartości witaminy C stosowano ją także w leczeniu szkorbutu, a zewnętrznie w zapaleniu jamy ustnej i gardła. Surowiec był wykorzystywany także w celu poprawy układu naczyniowego i problemach z widzeniem zmierzchowym [3].

Liście borówki czernicy stosowano również w niezżytach jelit, a także w stanach zapalnych dróg moczowych i kamicy nerkowej oraz jako środek przeciwcukrzycowy. Napary z liści stosowano w artretyzmie, złym krążeniu, hemoroidach, stanach zapalnych skóry.

American Herbal Product Association zalicza czarną jagodę do Grupy I (Class 1), czyli surowców, co do których stosowania brak jest jakichkolwiek przeciwwskazań [4].

Proponowane dawkowanie w zależności od źródła różni się dość znacznie. PDR for Herbal Medicines podaje dzienną dawkę suszonych owoców w wysokości 20–60 g lub 60–160 mg suchego ekstraktu, w zależności od intensywności dolegliwości.

Zaburzenia procesu widzenia

Obecnie wyciąg z borówki czernicy jest jednym z najważniejszych surowców roślinnych stosowanych

catechin [4]. Most of bilberry commercial products are standardised for anthocyanin content which should be at least 25%.

Bioavailability

Anthocyanins are absorbed unchanged in the gastrointestinal tract; aglycone bound to a sugar group. Absorption occurs in the stomach and small intestine, but the process efficiency is relatively low: approximately 11% of malvidin 3-glucoside and approximately 20% of cyanidin 3-glucoside. In plasma, the compounds are detected as early as several minutes after oral administration [5, 6]. Anthocyanin bioavailability data have been obtained in studies on substances other than bilberry – mainly in studies on grapes and in animal studies [7]. There have been no studies in humans related to bilberry anthocyanins.

Therapeutic indications

Bilberry was traditionally used for the treatment of gastroenterocolitis and diarrhoea, mainly in children. Due to vitamin C content, it was also used in the therapy of scurvy and, externally, of stomatitis and pharyngitis. The plant material was also applied for the vascular system and night vision improvement [3].

Moreover, bilberry leaves were utilised for the treatment of enterocolitis, urinary tract infections, nephrolithiasis and as an antidiabetic agent. Infusions of bilberry leaves were used for treating arthritis, cardiovascular diseases, haemorrhoids and dermatitis.

Bilberry has been given a Class 1 rating by the American Herbal Products Association, which means there are no contraindications for its use [4].

Various sources recommend rather different dosing. According to “PDR for Herbal Medicines”, a daily dose should include 20–60 g of dried fruits or 60–160 g of dry extract depending on the symptom severity.

Vision problems

Bilberry extract is currently one of the most important raw plant materials used for prevention and treatment of various eye diseases, including nocturnal amblyopia, cataract, macular degeneration or diabetic retinopathy [3, 8]. Results of *in vitro*, animal and human studies have confirmed beneficial effects of bilberry in the therapy of above conditions [9, 10]. Moreover, improved night vision after eating bilberry jam, reported by RAF pilots during World War II, has been confirmed, which may result from the effects of the plant: strengthening blood vessels, improving ocular microcirculation, reducing vascular permeability and intraocular pressure [11, 12, 13].

These effects most likely occur due to the presence of (among others) bilberry anthocyanins. Further studies are necessary to discover in detail a relationship between the

w profilaktyce i wspomaganiu leczenia różnych chorób oczu: niedowidzeniu zmierzchowym, zaćmie, degeneracji plamki żółtej czy retinopatii cukrzycowej [3, 8]. Uzyskane wyniki w badaniach *in vitro*, jak i z udziałem zwierząt i ludzi, potwierdzają pozytywny efekt działania czarnej jagody w przypadkach ww. schorzeń [9, 10]. Potwierdzono także obserwacje poczynione w czasie II wojny światowej przez pilotów RAF-u, że po dżemie z czarnych jagód lepiej widzieli w nocy. Wynikać to może z faktu, że surowiec ten wzmacnia naczynia krwionośne, poprawiając mikrokrążenie oczne, zmniejsza przepuszczalność naczyń krwionośnych i obniża ciśnienie śródoczne [11, 12, 13].

Najprawdopodobniej, to m.in. antocyjany występujące w borówce czernicy odpowiedzialne są za to działanie. Dokładne powiązanie działania substancji aktywnych występujących w tym surowcu z uzyskiwanymi efektami, wymaga dalszych badań. Trudno jest o definitywne wnioski, ponieważ prowadzone badania nie spełniają w większości wymagań stawianym badaniom klinicznym. Podawane produkty nie są standaryzowane na zawartość substancji czynnych, podawane są łącznie z innymi związkami, np. witaminą E; różne są okresy podawania i nie są zapewnione odpowiednie układy kontrolne.

Działanie przeciwutleniające

Antocyjany, główne składniki aktywne borówki czernicy wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej, w tym silne działanie przeciwutleniające, neutralizujące reaktywne formy tlenu [14, 15]. Są trwałe w środowisku kwaśnym, a wraz ze wzrostem pH tworzą związki fenolowe. Przy pH 10–11 zachodzą w ich strukturze nieodwracalne zmiany, powstają produkty o charakterze fenolanów z przegrupowaniem wiązań podwójnych, a w dalszej kolejności z rozpadem heterocyklicznego pierścienia C. W przewodzie pokarmowym ulegają degradacji do m.in. fenolokwasów, które są odpowiedzialne za działanie biologiczne surowca.

Stres oksydacyjny jest jednym z czynników odgrywających istotną rolę w etiologii szeregu schorzeń, takich jak: choroby neurodegeneracyjne (choroba Parkinsona, Alzheimer'a czy stwardnienie zanikowe boczne), choroby sercowo-naczyniowe, nowotworowe czy procesy degeneracyjne, związane z podeszłym wiekiem. Działanie przeciwutleniające antocyjanów borówki czernicy warunkuje hamowanie szeregu reakcji utleniania, powodowanych przez stres oksydacyjny, prowadzących np. do zmian degeneracyjnych w układzie dopaminergicznym [16].

Zafra-Stone i wsp. [9] wykazali, że produkt zawierający mieszaninę ekstraktów z różnych owoców jagodowych, cechuje się silnym działaniem przeciwutleniającym, działaniem antyangiogennym i przeciwmiażdżycowym. Produkt ten hamował indukcję czynników transkrypcyjnych AP-1 i NFκB oraz cytokin pozapalnych, w tym IL-8. Badania *in vitro* potwierdzają działanie ochronne przed

action of bilberry active substances and its outcomes. It is difficult to draw firm conclusions because the majority of conducted studies do not meet the requirements of clinical trials. The products are not standardised for the active substance content; they are administered in combination with other agents, e.g. vitamin E; there are various dosing periods and the control systems are not ensured.

Antioxidant effects

Anthocyanins, the main bilberry active substances, demonstrate a broad spectrum of biological activity, including strong antioxidant effects which neutralise reactive oxygen species [14, 15]. They are stable in acidic medium and form phenols when pH increases. When the pH value is 10–11, their structures change irreversibly and phenolates are produced with rearrangement of double bonds followed by heterocyclic ring C decomposition. In the gastrointestinal tract, they are degraded to phenolic acids which induce biological activity of the plant material.

Oxidative stress is one of the factors that considerably affect the aetiology of many diseases, including neurodegenerative diseases (Parkinson's disease, Alzheimer's disease or amyotrophic lateral sclerosis), cardiovascular diseases, cancer or age-related degenerative processes. Antioxidant effects of bilberry anthocyanins are related to inhibition of a series of oxidation reactions, caused by the oxidative stress, that lead to degenerative lesions in the dopaminergic system [16].

Zafra-Stone et al. [9] have demonstrated that a product containing a mixture of various berry fruits shows significant antioxidant, antiangiogenic and antiatherogenic effects. The product inhibited induction of AP-1, NFκB transcription factors and proinflammatory cytokines, including IL-8. *In vitro* studies have confirmed oxidative stress-preventing effects; however, applied active compound concentrations were many fold higher than those to be used *in vivo* [17].

Studies in laboratory animals have not yielded such clear findings as the *in vitro* studies [18]. Moreover, studies in healthy volunteers have not shown any effects of a diet rich in berry fruits on lipid peroxidation [19]. Studies in subjects at a higher risk of cardiovascular diseases or in diabetic patients were the only studies that have confirmed oxidative stress-preventing effects of berry fruits or their juices [20].

Cancer prevention

Cancer is a disease resulting from mutations in key genes related to a cell cycle and proliferation. When the repair system of a cell is faulty or inefficient, any DNA defect poses a risk of irreversible changes in the genetic material. Oxygen radicals seem to have a particularly harmful effect on the genetic material and they are significant factors in the aetiology of cancer. In literature, the importance of

stressem oksydacyjnym, z tym, że zastosowane w nich stężenia związków aktywnych są wielokrotnie wyższe niż możliwe do zastosowania *in vivo* [17].

Badania z udziałem zwierząt laboratoryjnych nie dają już tak jednoznacznych wyników jak badania *in vitro* [18]. Również badania z udziałem zdrowych wolontariuszy nie wykazały wpływu diety bogatej w owoce jagodowe na peroksydację lipidów [19]. Tylko w badaniach, w których brały udział osoby z grup podwyższonego ryzyka występowania schorzeń sercowo-naczyniowych czy diabetycy, potwierdzano ochronne działanie przed stresem oksydacyjnym owoców jagodowych lub soków z nich uzyskanych [20].

Profilaktyka chorób nowotworowych

Nowotwory są schorzeniem wynikającym z mutacji w kluczowych genach związanych z cyklem komórkowym i proliferacją. Wszelkie uszkodzenia DNA przy wadliwym lub niewydajnym systemie naprawczym komórki, zwiększają prawdopodobieństwo wystąpienia nieodwracalnych zmian w materiale genetycznym. Wydaje się, że rodniki tlenowe wyróżniają się aktywnością uszkadzającą materiał genetyczny komórki i są istotnym czynnikiem w etiologii nowotworów. W literaturze zwraca uwagę podkreślanie znaczenia udziału owoców i warzyw w codziennej diecie, w aspekcie profilaktyki przeciwnowotworowej [9, 21].

Wielokierunkowe przeciwnowotworowe działanie antocyjanów wynika przede wszystkim z ich dużego potencjału przeciwutleniającego i polega na: bezpośredniej neutralizacji reaktywnych form tlenu, stymulacji ekspresji enzymów II fazy metabolizmu ksenobiotyków, ograniczeniu tworzenia oksydacyjnych adduktów z DNA, zmniejszeniu peroksydacji lipidów, hamowania mutageny indukowanej przez egzogenne karcynogeny i hamowania proliferacji komórek [22–26].

Wykazano, że antocyjany mają zdolność blokowania cyklu komórkowego w różnych jego fazach przez oddziaływanie na regulatorowe białka cyklu (np. p52, p21, p27, cyklinę D1, cyklinę A) [27–30]. Charakterystyczne dla tych związków jest selektywne działanie w stosunku do komórek nowotworowo zmienionych oraz niewielki lub brak wpływu na wzrost komórek prawidłowych [31, 32]. Wykazano także proapoptotyczne działanie ekstraktów antocyjanowych [22, 33].

Potencjał przeciwnowotworowy antocyjanów związany jest również z ich działaniem przeciwzapalnym. Ma to znaczenie w przypadku nowotworu jelita grubego ze względu na silne powiązania między stanem zapalnym a procesem karcynogenezy [34, 35]. Dowiedziono ponadto, że przeciwnowotworowe działanie antocyjanów może polegać na hamowaniu procesu angiogenezy i zdolności tworzenia przerzutów [36, 37]. Jest jeszcze jeden efekt terapii preparatami antocyjanowymi – indukcja procesu różnicowania i hamowania proliferacji komórek nowotworowych [37–39].

fruits and vegetables in a daily diet is highlighted in the aspect of cancer prevention [9, 21].

Comprehensive, anticancer effects of anthocyanins mainly result from their high antioxidant potential and include the following mechanisms: direct neutralisation of reactive oxygen species, stimulated expression of enzymes related to the second phase of xenobiotic metabolism, inhibition of oxidative DNA adduct production, reduced lipid peroxidation, inhibition of mutagenesis induced by exogenous carcinogens and inhibition of cell proliferation [22–26].

It has been demonstrated that anthocyanins can block various stages of a cell cycle by affecting its regulatory proteins (e.g. p52, p21, p27, cyclin D1, cyclin A) [27–30]. Characteristic properties of these compounds are: selective activity on cancerous cells and a slight or no effect on normal cell growth [31, 32]. Proapoptotic effects of anthocyanin extracts have also been demonstrated [22, 33].

The anticancer potential of anthocyanins is also related to their anti-inflammatory activity which is important in the case of colorectal cancer due to strong relations between inflammation and carcinogenesis [34, 35]. Moreover, it has been evidenced that the anthocyanin anticancer effects may be related to angiogenesis and metastasis inhibition [36, 37]. There is one more effect of anthocyanin therapy: induction of cancer cell differentiation and proliferation inhibition [37–39].

The evidence of anthocyanin anticancer effects has been confirmed in *in vitro* studies with animal model experiments. Analyses of cancer and intact tissues, sampled before and after the therapy, have revealed that anthocyanin-enriched diet leads to reduced proliferation rate and enhanced apoptosis of cancer cells with no effect on intact cells. Reduced growth of blood vessels has also been observed [40, 41].

The anticancer potential of berry fruits, including bilberry, is not only related to anthocyanins, but also to procyanidins (another name for tannins). Due to the polymeric structure, they are poorly absorbed in the gastrointestinal tract and their concentrations in the colon can reach several hundred micromoles per one litre of intestine contents, which gives a chance for effective, local anticancer activity [42].

Recent identification of bilberry resveratrol may be worth mentioning here. This is an aromatic compound, diphenylethane derivative with a stilbene group. Resveratrol shows potent antioxidant effects and is considered to demonstrate anticancer activity at various carcinogenesis stages, including initiation, promotion and progression. It probably inhibits enzymatic activity during the first stage of metabolism and stimulates the second stage enzymes, which results in smaller amounts and facilitated elimination of active xenobiotic metabolites. During progression, it induces

Dowody na przeciwnowotworowe działanie antocyjanów w badaniach *in vitro* zostały potwierdzone w podjętych doświadczeniach na modelach zwierzęcych. Badania tkanek nowotworowych i prawidłowych, pobranych przed i po terapii wykazały, że dzięki diecie wzbogaconej w antocyjany zredukowana została szybkość proliferacji komórek nowotworowych i nasiloną została ich apoptoza, bez wpływu na komórki prawidłowe. Stwierdzono także ograniczenie rozrostu naczyń krwionośnych [40,41].

Przeciwnowotworowy potencjał owoców jagodowych, w tym borówki czernicy, jest związany nie tylko z obecnością antocyjanów, lecz także z obecnością procyanidyn, znanych także jako taniny. Podczas pasażu przez przewód pokarmowy są, ze względu na polimeryczną strukturę, w niewielkim stopniu wchłaniane i ich stężenie w okrężnicy może sięgać kilkuset mikromoli w litrze treści jelitowej, co stwarza szansę na efektywne, miejscowe działanie przeciwnowotworowe [42].

Warto może w tym miejscu wspomnieć o stwierdzonej nie tak dawno obecności resweratrolu w czarnej jagodzie. Jest to związek aromatyczny, pochodna difenylloetanu, posiadająca układ stilbenu. Resweratrol działa silnie przeciwutleniająco i przypisuje się mu aktywność przeciwnowotworową związaną z różnymi etapami kancerogenezy, zarówno na etapie inicjacji, promocji jak i progresji. Prawdopodobnie hamuje aktywność enzymów fazy I metabolizmu, a pobudza aktywność enzymów fazy II, przez co zmniejsza ilość aktywnych metabolitów ksenobiotyków i ułatwia ich eliminację. Na etapie progresji między innymi stymuluje procesy apoptozy [43]. Ilość resweratrolu w czarnej jagodzie jest niewielka i zależy od miejsca, z którego pochodzi surowiec, 10 x mniejsza niż jego zawartość w winogronach (6.5 µg/g suchego surowca) [44, 45].

Z powyższych danych wynika, iż czarna jagoda może stać się cennym surowcem w prewencji chorób, w których patogenezie ma udział stres oksydacyjny.

Działanie przeciwbakteryjne

Tradycyjnie, w medycynie ludowej, czarna jagoda była stosowana w różnych stanach zapalnych, zwłaszcza śluzówki jamy ustnej i gardła. Powszechnie znane jest bakterioobójcze i dezynfekujące działanie naturalnych związków fenolowych, a także ich silne działanie przeciwzapalne [46, 47]. Wykazano, że mieszanina ekstraktów z owoców jagodowych działa toksycznie w stosunku do zasiedlającej żołądek bakterii, *Helicobacter pylori*, odpowiedzialnej prawdopodobnie za różne schorzenia przewodu pokarmowego, w tym za nowotwory żołądka i dwunastnicy [9]. Badania populacji fińskiej, gdzie owoce jagodowe stanowią znaczny udział w diecie, wykazały, że te, które zawierają duże ilości tanin wykazują działanie przeciwbakteryjne i chronią przed patogenami. Stwarza to nowe możliwości wykorzystania owoców jagodowych w przemyśle żywnościowym [48].

among others apoptosis processes [43]. The amount of resveratrol in bilberry is small and depends on the plant location. It is 10-fold lower than the amount of the agent in grapes (6.5 µg/g of dried plant material) [44, 45].

The above data show that bilberry may become a valuable material for prevention of oxidative stress-related diseases.

Antibacterial effects

Traditionally, in folk medicine, bilberry was used for the treatment of various inflammatory conditions, particularly stomatitis and pharyngitis. It is commonly known that natural phenolic compounds demonstrate antibacterial, disinfectant and potent anti-inflammatory effects [46, 47]. It has been shown that a mixture of berry fruit extracts is toxic to a stomach bacterium called *Helicobacter pylori* which probably stimulates development of various gastrointestinal diseases, including gastroduodenal cancer [9]. Studies in Finnish population, whose diet contains a lot of berry fruits, have revealed that the fruits with large amounts of tannins demonstrate antibacterial effects and protect from pathogens. This creates a new potential for application of berry fruits in the food industry [48].

Immunomodulating activity

Data from literature and own studies show that certain raw plant materials and their preserves demonstrate high immunostimulating activity, both *in vivo* and *in vitro* [49–54].

A comparison of immune activities of synthetic immunomodulators, levamisole and isoprinosine, and the activity of *Fructus Myrtilli* water extracts suggests strong immunostimulating effects of the extract [55].

Polyphenols contained in berry fruits are believed to have a comprehensive impact on humoral mediators related to the cell immune response through modulation of inflammatory cytokine release. Moreover, phenolic acids affect the effector phase of antibody production; chlorogenic, ellagic, gallic, caffeic and salicylic acids induce IgG antibody production [55, 56].

Stimulation of the immune system during co-administration of antibiotics and raw plant material extracts, including bilberry, suggests a potential for their application aimed at immune system improvement in patients treated with antibiotics [57, 58]. Thus, bilberry as a supportive treatment to the antibiotic therapy may be considered beneficial for the immune system of a patient.

Many literature reports which present results of studies on the use of *in vitro* cell cultures, animal studies and clinical studies in both healthy volunteers and diseased subjects confirm that a diet rich in berry fruits protects our bodies from environment-related hazards [59, 60]. Large amounts of antioxidant agents in those fruits suggest

Aktywność immunomodulująca

Z badań własnych i piśmiennictwa wynika, że niektóre surowce roślinne oraz przetwory z nich uzyskane, zarówno *in vivo* jak i *in vitro*, wykazują znaczną aktywność immunostymulującą [49–54].

Porównanie aktywności immunologicznej syntetycznych immunomodulatorów: lewamizolu i izoprynozyny, z aktywnością wodnych wyciągów z *Fructus Myrtilli*, wskazuje na silne działanie immunostymulujące wyciągu [55].

Przypuszcza się, że polifenole zawarte w owocach jagodowych wywierają wielokierunkowy wpływ na humoralne mediatory związane z odpowiedzią immunologiczną typu komórkowego poprzez modulację uwalniania cytokin prozapalnych. Fenolokwasy mają również wpływ na fazę efektorową produkcji przeciwciał, a kwasy; chlorogenowy, elagowy, galusowy, kawowy i salicylowy działają pobudzająco na produkcję przeciwciał klasy IgG [55, 56].

Stymulacja układu immunologicznego przy łącznym stosowaniu antybiotyków i wyciągu z surowców roślinnych, w tym z czarnej jagody, wskazuje na możliwość wykorzystania ich dla polepszenia kondycji układu immunologicznego chorych leczonych antybiotykami [57, 58]. Można więc sądzić, że stosowanie czarnej jagody jako terapii wspomagającej, obok właściwej antybiotykoterapii, będzie korzystne dla układu immunologicznego pacjenta.

Liczne doniesienia literaturowe prezentujące wyniki badań z zastosowaniem hodowli komórek *in vitro*, badania na modelach zwierzęcych oraz badania kliniczne z udziałem zarówno zdrowych wolontariuszy, jak i osób chorych, potwierdzają fakt, że dieta bogata w owoce jagodowe chroni nasze organizmy przed szkodliwym działaniem środowiska [59, 60]. Bogactwo związków o działaniu przeciwutleniającym, występujących w tych owocach, wskazuje na potencjalną rolę w przeciwdziałaniu licznym schorzeniom, jak: choroby sercowonaczyniowe, stany zapalne, cukrzyca czy nowotwory. Z uwagi jednak na różnorodność modeli doświadczalnych zastosowanych w badaniach, ostateczne postawienie wniosków wymaga przeprowadzenia odpowiednio zaplanowanych badań klinicznych, zgodnie z wytycznymi GCP.

their potential for prevention of many diseases, such as cardiovascular and inflammatory diseases, diabetes or cancer. However, due to a variety of investigational models used in the studies, properly planned clinical trials, in accordance with the GCP guidelines, must be conducted in order to draw final conclusions.

Piśmiennictwo / References

1. Kohlmümzer S. *Farmakognozja*. PZWL, 2000.
2. Ożarowski A. *Ziołolecznictwo*. PZWL, 1980.
3. van Wyk B-E, Wink M. *Rośliny lecznicze świata*. MedPharm Polska 2008.
4. Duthie SJ. *Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: Evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process*. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51, 665-674.
5. Prior RL, Wu X. *Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities*. Free Radic. Res. 2006; 40, 1014-1028.
6. Felgines C, Terier O, Besson C, Fraisse D, Lamaison JL, Remesy C. *Blackberry anthocyanins are slightly bioavailable in rats*. J. Nutr. 2002; 132 (6), 1249-1253.
7. Erlund I, Freese R, Marniemi J, Hakala P, Alfthan G. *Bioavailability of quercetin from berries and the diet*. Nutr. Cancer 2006; 54(1), 13-17.
8. Canter PH, Ernst E. *Anthocyanosides of Vaccinium myrtilus (bilberry) for night vision-a systematic review of placebo-controlled trials*. Surv. Ophthalmol. 2004; 49, 38-50.
9. Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Benicia CA. *Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention*. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51(6), 675-683.
10. Matsunaga N, Imai S, Inokuchi Y, Shimazawa M, Yokata S, Araki Y, Hara H. *Bilberry and its main constituents have*

- neuroprotective effects against retinal neuronal damage in vitro and in vivo. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009; 53, 869-877.
11. Kmiec K. *Rośliny z zielnika S. Wyspiańskiego*. Panacea, 2008; 2 (23).
 12. Nijveldt RJ, Nood E, Hoom DEC, Boelens PG, Norren K, Leeuwen PAM. *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications*. *Am J. Clin. Nutr.* 2001; 74, 418-425.
 13. Pietta PG. *Flavonoids as antioxidants*. *J. Nat. Prod* 2000; 63(7), 1035-1042.
 14. Seeram NP. *Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease*. *J. Agric. Food Chem.*, 2008; 13; 56(3), 627-629.
 15. Dai J, Gupte A, Gates L, Mumper RJ. *A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms*. *Food Chem. Toxicol.* 2009; 47; 837-847.
 16. Katsube N, Iwashita T, Tsushida T, Hamaki K, Kobori M. *Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (Vaccinium myrtillus) and the anthocyanins*. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51, 68-75.
 17. Rahman I., Biswas S.K., Kirkham PA. *Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols*. *Biochem. Pharmacol.* 2006; 72(11), 1439-1452.
 18. Lee KF, Chung WY, Benzie IF. *Urine 8-oxi-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine(8-oxodG), a specific marker of oxidative stress, using direct, isocratic LC-MS/MS: Method evaluation and application in study of biological variation in healthy adults*. *Clin. Chem. Acta* 2010; 411, 416-422.
 19. Freese R, Vaarala O, Turpeinen AM, Mutanen M. *No difference in platelet activation or inflammation markers after diets rich or poor in vegetables, berries and apple in healthy subjects*. *Eur. J. Nutr.* 2004; 43, 175-182.
 20. Karlsen A, Paur I, Bohn SK, Sakhi GI, Borge GI, Serafini M, Erlund I, Laake P, Tonstad S, Blomhoff R. *Bilberry juice modulates plasma concentration of NF-kappaB related inflammatory markers in subjects at increased risk of CVD*. *Eur. J. Nutr.* 2010; 49(6), 435-355.
 21. Seeram NP. *Berry fruits for cancer prevention: current status and future prospects*. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56(3), 630-635.
 22. Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. *Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro*. *J. Agric Food Chem.* 2006; 54, 9329-9339.
 23. Srivastava A, Akoh CC, Fischer J, Krewer G. *Effect of anthocyanin fractions from selected cultivars of Georgia-grown blueberries on apoptosis and phase II enzymem*. *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55(8), 3180-3185.
 24. Yi W, Fischer J, Krewer G, Akoh CC. *Phenolic compounds from blueberries can inhibit colon cancer cell proliferation and induce apoptosis*. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53, 7320-7329.
 25. Bao L, Yao XS, Tsi D, Yau CC, Chia CS, Nagai H, Kurihara H. *Protective effects of bilberry (Vaccinium myrtillus) extract on KBrO3-induced kidney damage In mice*. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56(2), 420-425.
 26. Bao L, Yao XS, Yau CC, Tsi D, Chia CS, Nagai H, Kurihara H. *Protective effects of bilberry (Vaccinium myrtillus) extract on restraint stress-induced liver damage In mice*. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56(17), 7803-7807.
 27. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Ammann S, Oksman-Caldentey KM, Buchert J. *Enzyme assisted processing increases antimicrobial and antioxidant activity of bilberry*. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56(3), 681-688.
 28. Bermudez-Soto MJ, Larrosa M, Garcia-Cantalejo JM, Spin JC, Tomas-Barberan FA, Garcia-Conesa MT. *Up regulation of tumor suppressor carcinoembryonic antygen-related cell adhesion molekule 1 in human colon cancer Caco-2 cells following repetitive exposure to dietary levels of a polyphenol-rich chokeberry juice*. *J.Nutr. Biochem.*, 2007; 18, 259-271.
 29. Coates EM, Popa G, Gill CI, McCann MJ, McDougall GJ, Steward D, Rowland I. *Colon -available raspberry polyphenols exhibit anti-cancer pisk*. *J Nutr.* 2006; 136, 3046-3053.
 30. Seeram NP. *Berty fruits for kancer prevention current status and future prospects*. *J. Agric. Ford Chem.*, 2008; 56, 630-635.
 31. Galvano F, La Fauci L, Lazzarino G, Fogliano V, Ritieni A, Ciapellano S, Battistini NC, Tavazzi B, Galvano G. *Cyanidins: metabolism and biological properties*. *J. Nutr. Biochem.* 2004; 15, 2-11.
 32. Zhao C, Giusti MM, Malik M, Moyer MP, Magnuson BA. *Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic kancer and nontumorigenic colonic cell growth*. *J.Agric. Food Chem.* 2004; 52, 6122-6128.
 33. Boot C, Hargreaves DF, Hadfield JA, McGrown AT, Potten CS. *Isoflavones inhibit intestinal epithelial cell proliferatin and induce apoptosis In vitro*. *Br. J. Cancer*, 1999; 80; 1550-1557.
 34. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Hancock B, Kong E, Trzaskos JM, Evans JF, Tapeto MM. *Suppression of intestinal polyposis In Apc 716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2)*. *Cell*, 1996; 87, 803-809.
 35. Prescott SM, White RL. *Self-promotion? Intimate connections between APC and prostaglandin H synthase-2*. *Cell*, 1996; 87, 783-786.
 36. Baghi D, sen CK, Baghi M, Atalay M. *Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berty extract formula*. *Biochemistry (Mosc.)* 2004; 69, 75-80.
 37. Brandstetter H, Grams F, Glitz D, Lang A, Huber R, Bode W, Krell HW, Engh RA. *The 1,8-A crystal structure of a matrix metalloproteinase 8-barbiturate inhibitor complex reveals a previously unobserved mechanizm for collagenase substrate recognition*. *J.Biol. Chem.* 2001; 276, 17405-17412.
 38. Fimognari C, Berti F, Usze M, Cantelli-Forti G, Hrelia P. *Induction of apoptosis in two human leukemia cell lines as well as differentiation in human promyelocytic Wells by cyanidin-3-O-beta-glucopyranoside*. *Biochem Pharmacol.* 2004; 67, 2047-2056.

39. Rodrigo KA, Rawal Y, Renner RJ, Schawartz SJ, Tian Q, Arsen PE, Mallery SR. *Suppression of the tumorigenic phenotype in human oral squamous cell carcinoma Wells by an ethanol extract derived from freeze-dried black raspberries*. Nutr. Cancer, 2006; 54, 58-68
40. Serafino A, Sinibaldi-Vallebona P, Lazzarino G, Tavazzi B, Rasi G, Pierimarchi P. *Wells induced by cyanidin-3-O-beta-glucopyranoside*. FASEB J. 2004; 18, 1940-1942.
41. Stoner GD, Wang LS, Casto BC, Andreola F, Moroni G, Galvano G, Galvano F, Garaci E. *Differentiation of human melanoma Laboratory and clinical studies of cancer chemoprevention by antioxydants In berries*. Carcinogenesis, 2008; 29; 1665-1674.
42. Thomasset S, Berty DP, Cai H, West K, Marzyło TH, Marsden D, Brown, Dennison A, Garcea G, Miller A, Hemingway D, Steward WP, Gescher AJ. *Pilot study of oral anthycyanis for colorectal cancer chemoprevention*. Cancer Prev. Res. 2009; 2; 625-633.
43. Janeczko Z, Bochenek B, Jurczyszyn A. *Właściwości biologiczne resweratrolu i możliwości jego stosowania w terapii szpiczaka mnogiego*. Leki ziołowe. Panacea 2009, 2(27), 9-11.
44. Lyons MM, Toma RB, Cho SY, Reiboldt W, Lee J, van Breemen RB. *Resveratrol in raw and baked blueberries and bilberries*. J. Agric. Food Chem. 2003, 51(20), 5867-5870.
45. Rimando AM, Kalt W, Magee JB, Dewey J, Ballington JR. *Resveratrol, pterostilbene and piceatannol in vaccinium berries*. J. Agric. Food Chem. 2004, 52(15), 4713-4719.
46. Scalbert A, Williamson G. *Dietary intake and bioavailability of polyphenols*. J. Nutr. 2000; 130 (supl. 8S); 2073S-2085S.
47. Biesalski HK. *Polyphenols and inflammation: Basic interactions*. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 2007; 10(6), 724-728.
48. Guo W, Kong E, Meydani M. *Dietary polyphenols, inflammation and cancer*. Nutr. Cancer 2009; 61(6), 807-810.
49. Heinonen M. *Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics-a Finnish perspective*. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51(6), 684-691.
50. Sawicka T, Drozd J, Prosińska J, Borkowski B. *Aktywność immunostymulacyjna niektórych fenolokwasów i związków estrowych*. Herba Pol., 1994; 40, 31-34.
51. Drozd J. *Zmiany aktywności immunostymulującej farmakopealnych surowców garbnikowych zachodzące podczas przechowywania*. Biul. Inst. Leków, 1997; 4, 60-65.
52. Sawicka T, Rogala E, Strzelecka H, Drozd J, Prosińska J, Radomska-Leśniewska D, Skopińska-Różewska E. *Adaptacja testów biologicznych do oceny aktywności preparatów jeżówki purpurowej*. Część I. Badanie *in vivo* (38-42), część II-badanie *in vitro*. Terapia, 2001; 3 (2), 43-46.
53. Prosińska J, Sawicka T, Drozd J. *Investigations of the thymomimetic activity of a selected phytopharmaceutical preparation-Reumaherb tablets by flow cytometry*. Acta Pol. Pharm-Drug Res 2002; 59, 267-275..
54. Drozd J, Sawicka T, Prosińska J. *Estimation of humoral activity of Eleuterococcus senticosus*. Acta Polon Pharm-Drug Res 2002; 59, 395-400.
55. Drozd J, Tautt J. *Badania porównawcze aktywności immunostymulującej Fructus Myrtilli ze związkami o ustalonym działaniu na układ odpornościowy*. Biul.Inst.Leków, 2002; 46, 1-2, 45-48.
56. Lu Y, Foo LY. *Polyphenolics of Salvia-a review*. Phytochem, 2002; 59(2), 117-140.
57. Drozd J, Anuszewska E. *The influence of plant materials, containing ellagic acid and selected antibiotics on immunological response in mice*. Acta Pol. Pharm-Drug Res, 2005; 62,3,237-240.
58. Drozd J, Anuszewska E. *Effects of bilberry fruit aqueous extract and selected antibiotics on immune response in mice*. Acta Pol. Pharm-Drug Res 2009; 66,2,181-184.
59. Fresco P, Borges F, Diniz C, Marques MP. *New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols*. Med. Res. Rev. 2006; 26(6), 747-766.
60. Neto CC. *Cranberry and bluberry: evidence for protective effects against cancer and vascular diseases*. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51(6), 652-664.

Adres do korespondencji / Mailing address:

Janina Drozd

Narodowy Instytut Leków

00-725 Warszawa, ul. Chełmska 30/34