

GINKGO BILOBA L. (JINAN DVOULALOČNÝ) – SYMBOL ŽIVOTNÍ SÍLY

GINKGO BILOBA L. – A SYMBOL OF LIFE FORCE

JIRÍ PATOČKA¹, ANNA STRUNECKÁ²

¹Katedra toxikologie, Vojenská lékařská akademie, Hradec Králové

²Katedra fyziologie a vývojové biologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha

SOUHRN

Preparáty připravené z jinanu dvoulaločného (*Ginkgo biloba* L.) – prastarého stromu, který roste na Zemi v nezměněné formě již více než 200 milionů let – obsahují unikátní látky zajímavých biologických vlastností. Početné klinické studie prokázaly, že extrakty z listů jinanu zlepšují kognitivní funkce. Jejich hemodynamické, hemoreologické a metabolické účinky se uplatňují při cerebrální, srdeční i periferní ischemii, při traumatickém poškození mozku, edémech i zánětech. Jinan nabízí slibnou pomoc pro seniory, pacienty s Alzheimerovou demencí i pro pacienty s cerebrovaskulárními poruchami.

Klíčová slova: Ginkgo biloba, kognitivní funkce, kognitiva, nootropika, neuroprotektiva

SUMMARY

Ginkgo biloba – venerable tree, growing on the earth in unchanged form more than 200 million years – containing unique compounds of interesting biological properties. Numerous well-controlled clinical studies have revealed that Ginkgo may improve the cognitive functions. The hemodynamic, hemorheological, and metabolic effects may have a role in treating ischemia, traumatic brain injury, edema, and inflammation. Ginkgo shows promise in patients with dementia, normal aging, and cerebrovascular-related disorders.

Key words: Ginkgo biloba, cognitive function, cognitive drugs, nootropics, neuroprotectives

Úvod

Kognitivní funkce mozku, jako jsou učení a paměť, intelekt, motivace apod., jsou velmi často narušeny u řady organicky podmíněných onemocnění, demencí nejrůznějšího původu, delirantních stavů a organických psychosyndromů, schizofrenie apod. Současná medicína zná již řadu léčiv pozitivně ovlivňujících kognitivní funkce a jejich počet se každým rokem rozšiřuje. Farmakoterapie poruch kognitivních funkcí je rychle se rozvíjející disciplínou a farmaceutický průmysl trvale obohacuje trh novými preparáty. Léčiva kognitivních funkcí nejsou jednotnou skupinou látek a lze je zhruba rozdělit do tří kategorií – kognitiva, nootropika a neuroprotektiva (Jiráček, 2000).

Kognitiva jsou látky zlepšující funkci centrálního cholinergního systému. Radíme mezi ně zejména centrálně účinné inhibitory acetylcholinesterázy a agonisty acetylcholinových receptorů, prekursorů acetylcholinu a látky, které mohou zprostředkovaně posílit funkci cholinergního nervového systému.

Nootropika tvoří skupinu látek schopných zlepšovat metabolické funkce mozku (cerebral metabolic enhancers) a aktivovat tak kognitivní funkce v situacích, kdy tyto jsou narušeny. Způsob, jakým je možno tohoto efektu dosáhnout, může být různý, a proto nootropika netvoří ani chemicky ani farmakologicky jednotnou skupinu látek (Benešová et al., 1991).

Neuroprotektiva jsou také chemicky i farmakologicky nejednotnou skupinou léčiv. Jejich společným znakem je

ochrana nervové buňky a jejich fyziologických funkcí před poškozením, ale mechanismy, kterými je toho možno dosáhnout, jsou různé. Mezi neuroprotektiva jsou proto řazeny zametáče volných kyslíkových radikálů (scavengery), blokátory ionotropních receptorů excitačních aminokyselin, blokátory různých napětově řízených kalciových kanálů v neuronální membráně, protizánětlivá léčiva, látky působící jako nervové růstové hormony nebo jejich prekursorů a další látky.

Mnohé z látek používaných v terapii poruch kognitivních funkcí mají však řadu nežádoucích účinků, což je pro dlouhodobé podávání velmi nepříjemné. Výskyt nežádoucích účinků je velmi často důvodem pro snížení dávek léčiv až pod jejich účinnou koncentraci nebo dokonce důvodem pro přerušení léčby. Není proto divu, že jsou hledány především bezpečnější preparáty a pozornost farmakologických firem se obrací i směrem k přírodním látkám. Značný zájem farmakologů vyvolal v posledních dvaceti letech strom nazvaný jinan dvoulaločný (*Ginkgo biloba*). Jeho listy byly po téměř pět tisíc let používány v tradiční čínské medicíně při léčbě zánětu průdušek, ale teprve farmaceutické objevy posledních let ukázaly na široké možnosti jeho využití v moderní medicíně.

Biologie

Jinan dvoulaločný je jediným zástupcem kdysi druhově bohaté čeledi jinanovitých (*Ginkgoaceae*), která započala svůj vývoj již v prvohorách – v devonu. Svého největšího rozvoje dosáhla tato čeleď v druhohorách, kdy



Obrázek 1

pásma. Nikde však neroste volně v přírodě ve velkém počtu jedinců. Jinany mají zpravidla krátký tlustý kmen, rozložitou korunu a dorůstají výšky 30–40 metrů (obr. 1). Strom zaujme nejen svým vznosným vzrůstem a celkovým vzhledem, ale i svými listy pozoruhodného tvaru s vějířovitou žilnatinou, které vyrůstají po několika na koncích větví (obr. 2). Johann Wolfgang Goethe (1749–1832) byl inspirován nádherným vzhledem stromu a krásou jeho listů k napsání básně nazvané *Ginkgo biloba*.

Listy jinanu dvoulaločného jsou opadavé, klínovité a zářezem rozdělené na dva laloky, což dalo stromu druhé jméno. Studenti biologie musí tento listnatý strom, který se např. v Praze vyskytuje pouze v několika ojedinělých exemplářích (jeden z nich vedle skleníku v botanické zahradě v Benátské ulici, jiný např. v areálu Psychiatrické léčebny Bohnice) znát zejména proto, že patří mezi nahosemenné rostliny, zatímco naprostá většina listnatých stromů patří mezi rostliny krytosemenné. Rozdíl mezi těmito dvěma skupinami rostlin spočívá ve květech, které jsou u krytosemenných uspořádány tak, že vajíčka se tvoří uvnitř uzavřených semeníků, které nejsou přímo přístupné pylovým zrnům. Jinan dvoulaločný je strom dvojdomý, což znamená, že na jednom stromě jsou ve květech (na ploidolistech) pouze vajíčka, zatímco tyčinky s pylovými zrny jsou ve květech jiného stromu. Po oplození se na samičích stromech vyvíjejí semena v plodech velikosti třešně. Většinou se pěstují stromy samčí, protože plody samičích stromů na podzim opadávají a u zralé vydávají velmi nepříjemný zápach. Obsahují také velké množství silných alergenů a ty ve styku s kůží mohou vyvolat silné dráž-

rostla po celé severní polokouli, ale koncem křídý začala vymírat a do dnešní doby zůstal jediný druh, *Ginkgo biloba*. I ten postupně mizel z volné přírody a dochoval se pouze v zahradách Dálného Východu, kde je považován za posvátný strom. Odtud se pak znovu postupně rozšířil jako okrasný strom do botanických zahrad a parků. Pro svou vysokou dekorativní hodnotu se jinan pěstují v parcích a zahradách celého mírného



Obrázek 2

dění, zrudnutí i vznik puchýřů. Plod má hořkou, nejedlou dužninu a obsahuje semeno, které se v Číně používá v lidovém léčitelství jako expektorans nebo při problémech s močením, jako jsou časté nutkavé močení a pomůčování. Po uvaření nebo upečení se dá semeno jíst. V západní medicíně se používají jenom listy, dužnina plodů a syrová semena jsou jedovatá (Leung a Foster, 1996). Listy *Ginkgo* se začaly používat v lidovém léčitelství západních zemí v 80. letech 20. století jako droga zlepšující funkci kardiovaskulárního systému. Čínská medicína však listy stromu používá již několik tisíciletí, převážně při astmatu, chorobách průdušek a při poruchách prokrvení tkání. Moderní analytické metody objevily v listech *Ginkgo* mnoho zajímavých látek.

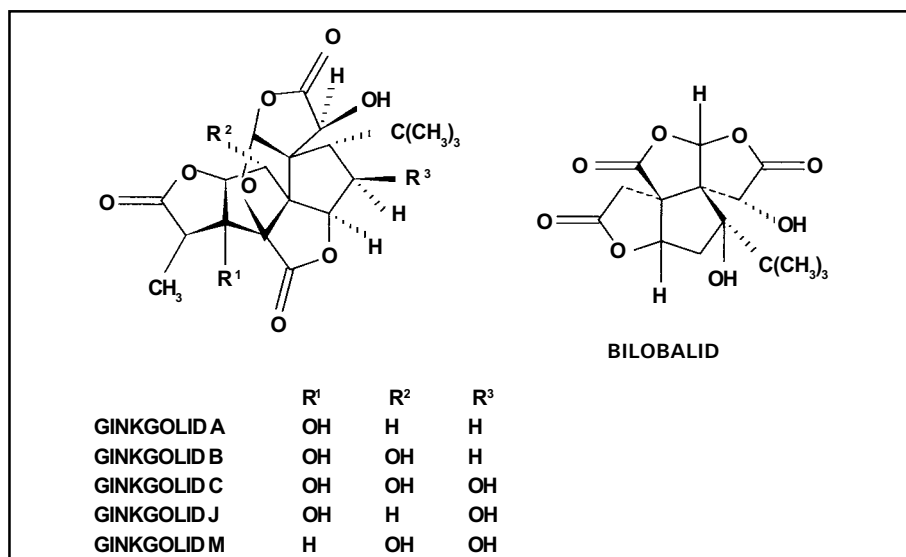
Obsahové látky

Zdrojem obsahových látek jinanu dvoulaločného jsou jeho listy, sklizené v podzimním období, když sežloutnou. Tehdy je množství obsahových látek nejvyšší. Až dosud v nich bylo nalezeno více než 60 biologicky aktivních látek, z nichž nejvýznamnější jsou **terpenoidy, flavonoidy a organické kyseliny** (Patočka, 1992).

Terpenoidy jsou z pohledu farmakologického účinku drogy pravděpodobně nejdůležitější skupinou obsahových látek. Je to zejména sesquiterpenoidní polyketon bilobalid a pět od něj odvozených ginkgolidů (obr. 3). Jedná se o unikátní chemické struktury typu polycyklických éterů a je pro ně charakteristická přítomnost terc-butyllové skupiny, která se v přírodních látkách vyskytuje jen vzácně. Z flavonových glykosidů byly nalezeny amentoflavon, bilobetin, sequoiaflavon, quercetin, kamferol a ginkgetin. Z významných organických kyselin byla nalezena kyselina hydroxykynurenová a askorbová. Přítomné jsou také tanniny.

Standardizovaný extrakt a léčebné preparáty

Vzhledem k tomu, že rostlinný materiál obsahuje velké množství různých látek, jejichž složení se navíc často mění podle místa a doby sběru, je snahou farmaceutických firem zabezpečit stále složení a standardní farmakologický účinek výrobou tzv. standardizovaných preparátů. Standardizovaný extrakt z listů jinanu dvoulaločného je purifikovaný výtažek (*Extractum ginkgo bilobae*, EGb 761) zbavený některých nežádoucích příměsí, např. toxic-

Obrázek 3: Chemická struktura obsahových látek *Ginkgo biloba*

kých fenolických látek, jako jsou ginkgolové kyseliny (Ndjoko et al., 2000) nebo různé alergeny. Tento extrakt, obsahující 6 % terpenických laktonů a 24 % flavonových glykosidů (Snow, 1996), je pak základem pro výrobu většiny léčebných přípravků. V České republice jsou registrovány přípravky **Bilobil** (cps), **Gincosan Pharmaton** (cps), **Ginkor Fort** (cps), **Tanakan** (tbl, sol) a **Tebokan** (tbl, gtt).

Farmakologické účinky obsahových látek

Farmakologický účinek jednotlivých složek není až na výjimky znám, většinou bývá testován jako směs všech účinných látek ve formě standardizovaného extraktu. Bylo prokázáno, že tento extrakt chrání organismus před anoxií (Schaffler a Reeh, 1985; Chatterjee, 1985) a brání poškození mozku při nedostatku kyslíku (Chatterjee, 1985). Extrakt také snižuje agregaci erytrocytů i trombocytů tím, že inhibuje destičkový aktivační faktor (PAF) (Chung et al., 1987). Na tomto efektu se podílí zejména ginkgolid B (Akiba et al., 1998). Kyselina 6-hydroxykynurenová, přítomná v extraktu, inhibuje ionotropní receptory excitačních aminokyselin typu NMDA. Významný je farmakologický efekt extraktu na centrální cholinergní nervový systém. Bylo prokázáno, že u starých zvířat zvyšuje jeho chronické podávání denzitu muskarinových cholinergních receptorů v hipokampu (Taylor, 1985), jejich afinitu k acetylcholinu (Taylor, 1985) a aktivuje vysokoafinitní systém vychytávání cholinu v hipokampálních synaptosomech (Křištofiková a Klaschka, 1997). Vzhledem k zásadnímu významu deficitu cholinergního přenosu v mozku v patogenezi Alzheimerovy choroby (Drachman, 1978) je účinek extraktu Egb 761 na jeho aktivaci, respektive zpomalení neurodegenerativních pochodů velmi významný a řadí jej mezi léčiva s nootropním i neuroprotektivním účinkem. Neuroprotektivní účinek je pravděpodobně vyvolán tím, že některá z účinných složek inhibuje produkci NO (Calapai et al., 2000). Bylo prokázáno, že extrakt Egb 761 funguje jako zameřič (scavenger) NO (Bastianetto et al., 2000b). Byl také popsán účinek extraktu na vychytávání volných kyslíkových radikálů a snížení peroxidace lipidů neuronální membrány. Extrakt chrání organismus i před účinkem neurotoxických účinných toxinů (Rojas et al., 2000). Nedávno byl popsán i antistresový účinek Egb 761 (Ježová et al., 2001).

Některé z flavonových glykosidů inhibují c AMP fosfodiesterázu, což vede ke zvýšení hladiny c AMP (Campos et al., 2000) a k ovlivnění mobilizace vápníku z intracelulárních zdrojů. Egb 761 zlepšuje průtok krve na periférii i v mozku zvýšením fluidity krve, ale dilatuje také velké arterie i kapiláry. Tento mechanismus účinku je vysvětlován ovlivněním produkce NO (Chen et al., 1997; Arnould et al., 1998; Jung et al., 1990).

Uplatnění v psychiatrii

Preparáty z jinanu dvoulaločného nacházejí uplatnění především u ischemicko-vaskulárních demencí v počátečním nebo středně pokročilém stadiu (Kleijnen a Klipschild, 1992), ale také v počátečních fázích primárně degenerativních demencí, jako je např. Alzheimerova choroba (Hofferberth, 1994). Dobrého účinku je dosahováno u lehkých poruch paměti, jako jsou např. benigní stařecká zapomnětlivost, „minimal cognitive impairment“ (MCI) (Itil a Martorano, 1995) nebo „age-associated memory impairment“ (AAMI) (van Dongen et al., 2000). Příznivý účinek u Alzheimerovy nemoci spočívá zřejmě ve zlepšení funkcí cholinergního nervového systému a

v antioxidační a antikoagulační aktivitě Egb 761 (Oken et al., 1998; Diamond et al., 2000). Projevuje se zlepšením krátkodobé paměti (Subhan a Hindmarch, 1984; Hindmarch, 1986) a zvýšením pozornosti a všípivosti do paměti (Gessner et al., 1985). V současné době je přímý účinek látek z jinanu na centrální cholinergní nervový systém považován za rozhodující pro zlepšení kognitivních funkcí (Le Bars et al., 1997, 2000; Nathan, 2000). Ukazuje se také, že Egb 761 chrání neurony před toxickým účinkem beta-amyloidu (Bastianetto et al., 2000a). Obvyklá dávka je 3× denně 40–80 mg, ale dávky mohou být i vyšší, protože snášenlivost je velmi dobrá. Mohou být také kombinovány s dalšími farmakoterapeutickými kognitivními strategiemi. Racionální jsou zejména kombinace s dalšími nootropiky a neuroprotektivy, přírodními i syntetickými. Možnosti využití extraktu v gerontopsychiatrii byly ověřovány v klinických pokusech u pacientů s chronickou cerebrovaskulární nedostatečností (Michel, 1985) a primární degenerativní demencí (Weitbrecht a Jansen, 1986). Jak prokázala nedávná švýcarská studie, účinek Egb 761 u Alzheimerovy choroby je srovnatelný s účinkem inhibitorů cholinesterázy, tacrinem, donepezilem, rivastigminem a metrifonátem (Wettstein, 2000). Zajímavou a zdá se že i účinnou kombinaci představuje preparát z *Ginkgo biloba* a *Panax ginseng* (žen-šen) (Wesnes et al., 2000). Jsou konány experimenty s preventivním podáváním preparátů, které by mohly chránit před možným vznikem Alzheimerovy choroby osoby se zvýšeným rizikem. Podávání preparátů z *Ginkgo biloba* pacientům s depresemi po dobu osmi týdnů vedlo k významné redukci Hamiltonovy škály (Schubert a Halama, 1993). Byly také úspěšné v 84 % případů sexuální dysfunkce vyvolané antidepresivy typu SSRI nebo SNRI (Cohen a Bartlik, 1998).

Závěr

Nahosemenný strom jinan dvoulaločný, který v nezměněné formě přežil dobu ledovou a další kataklyzmat na Zemi po více než 200 milionů let, nabízí člověku na začátku 3. tisíciletí pomoc při terapii i prevenci mnoha neduhů, které jsou zcela evidentně spjaté s rozvojem technologicko-konzumní civilizace. Tato „živá fosilie“ kupodivu velmi dobře snáší i dnešní inhalacemi zamořené prostředí velkých měst. Přežije populace jinanů i zájem farmaceutického průmyslu? Odhalí člověk tajemství životní síly, které ve svých listech nese jinan od doby prvohor?

Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.
Katedra toxikologie
Vojenská lékařská akademie
500 01 Hradec Králové
E-mail: patocka@pmfjhk.cz

LITERATURA

- Akiba S, Kawauchi T, Oka T, Hashizume T, Sato T. Inhibitory effect of the leaf extract of *Ginkgo biloba* L. on oxidative stress-induced platelet aggregation. *Biochem Mol Biol Int* 1998;46:1243–1248.
- Arnould T, Michiels C, Janssens D, Berna N, Remacle J. Effect of Ginkor Fort on hypoxia-induced neutrophil adherence to human saphenous vein endothelium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31:456–463.

Bastianetto S, Ramassamy C, Dore S, Christen Y, Poirier J, Quirion R. The Ginkgo biloba extract (EGb 761) protects hippocampal neurons against cell death induced by beta-amyloid. *Eur J Neurosci* 2000a;12:1882–1890.

Bastianetto S, Zheng WH, Quirion R. The Ginkgo biloba extract (EGb 761) protects and rescues hippocampal cells against nitric oxide-induced toxicity: involvement of its flavonoid constituents and protein kinase C. *J Neurochem* 2000b;74:2268–2277.

Benešová O, Krejčí J, Pavlík A. Nootropic drugs. Praha: Avicenum, 1991.

Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Marciano MC, Squadrito F, Inferrera G, Parisi A, Rizzo A, Crisafulli C, Fiore A, Caputi AP. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitric oxide synthesis. *Life Sci* 2000;67:2673–2683.

Campos-Toimil M, Lugnier C, Droy-Lefaix MT, Takeda K. Inhibition of type 4 phosphodiesterase by rolipram and Ginkgo biloba extract (EGb 761) decreases agonist-induced rises in internal calcium in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:E34–40.

Cohen AJ, Bartlik B. Ginkgo biloba for antidepressant-induced sexual dysfunction. *J Sex Marital Ther* 1998;24:139–143.

Diamond BJ, Shiflett SC, Feiwei N, Matheis RJ, Noskin O, Richards JA, Schoenberger NE. Ginkgo biloba extract: mechanisms and clinical indications. *Arch Phys Med Rehabil* 2000;81:668–678.

Drachman DA. Alzheimer's Disease: Senile Dementia and Related Disorders. Vol. 7. New York: Raven Press, 1978;141–148.

Gessner B, Voelp A, Klasser M. Study of the long-term action of a Ginkgo biloba extract on vigilance and mental performance as determined by means of quantitative pharmaco-EEG and psychometric measurements. *Arzneim Forsch* 1985;35:1459–1465.

Hindmarch I. Activity of Ginkgo biloba extract on short-term memory. *Presse Méd* 1986;15:1592–1594.

Hofferberth B. The efficacy of EGb761 in patients with senile dementia of the Alzheimer type: a double blind placebo controlled study on different levels of investigation. *Human Psychopharmacol* 1994;9:215–212.

Chatterjee SS. In: Agnoli A, Rapin JR, Scapagnini V, Weibrecht WV, eds. Effects of Ginkgo biloba Extract on Organic Cerebral Impairment. London, Paris: John Libbey Eurotext Ltd, 1985; 5–15.

Chen X, Salwinski S, Lee TJ. Extracts of Ginkgo biloba and ginsenosides exert cerebral vasorelaxation via a nitric oxide pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997;24:958–959.

Chung KF, Dent G, McCusker M, Guinot P, Page CP, Barnes PJ. Effect of a ginkgolide mixture (BN 52063) in antagonising skin and platelet responses to platelet activating factor in man. *Lancet* 1987;1(8527):248–251.

Itil T, Martorano D. Natural substances in psychiatry (Ginkgo biloba in dementia). *Psychopharmacol Bull* 1995;31:147–158.

Ježová D, Monček F, Dunčko R, Kriška M, Laššánová M. Nové psychofarmakologické účinky extraktu z Ginkgo biloba (EGb 761) u zdravých dobrovolníků. *Psychiatrie* 2001; Suppl.1:17–18.

Jirák R. Přehled nootropních a neuroprotektivních léčiv. *Remedia* 2000;10:441–445.

Jung F, Mrowietz C, Kiesewetter H, Wenzel E. Effect of Ginkgo biloba on fluidity of blood and peripheral microcirculation in volunteers. *Arzneim Forsch* 1990;40:589–593.

Kleijnen J, Knipschild P. Ginkgo biloba (Drug profiles). *Lancet* 1992; 340:1136–1139.

Křištofiková Z, Klaschka J. In vitro effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on the activity of presynaptic cholinergic nerve terminals in rat hippocampus. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1997;8:43–48.

Le Bars P, Katz MM, Berman A, Itil TM, Freedman AM, Schatzberg AF. A placebo-controlled, double-blind, randomized trial of an extract of Ginkgo biloba for dementia. *JAMA* 1997;278:1327–1332.

Le Bars PL, Kieser M, Itil KZ. A 26-week analysis of a double-blind, placebo-controlled trial of the ginkgo biloba extract EGb 761 in dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000;11:230–237.

Leung AY, Foster S. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1996; 390–391.

Michel PF. Chronic cerebral insufficiency and Ginkgo biloba extract. In: Agnoli A, Rapin JR, Scapagnini V, Weibrecht WV eds. Effects of Ginkgo biloba Extract on Organic Cerebral Impairment. London, Paris: John Libbey Eurotext Ltd, 1985; 71–76.

Nathan P. Can the cognitive enhancing effects of Ginkgo biloba be explained by its pharmacology? *Med Hypotheses* 2000;55:491–493.

Ndjoko K, Wolfender JL, Hostettmann K. Determination of trace amounts of ginkgolide acids in Ginkgo biloba L. leaf extracts and phytopharmaceuticals by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000;744:249–255.

Oken BS, Storzbach DM, Kaye JA. The efficacy of Ginkgo biloba on cognitive function in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998;55:1409–1415.

Patočka J. Jinan dvouláložný (*Ginkgo biloba*) jako léčivá rostlina. *Bull Čs Spol Biochem* 1992;20:19–21.

Rojas P, Rojas-Castaneda J, Vigueras RM, Rojas C. Ginkgo biloba pretreatment partially protects from the dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenylpyridinium. *Proc West Pharmacol Soc* 2000;43:87–88.

Schaffler K, Reeh PW. Double blind study of the hypoxia protective effect of a standardized Ginkgo biloba preparation after repeated administration in healthy subjects. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1985;35:1283–1286.

Snow J. Ginkgo biloba Monograph. *Prot J Bot Med* 1996;2:9–15.

Subhan Z, Hindmarch I. The psychopharmacological effects of Ginkgo biloba extract in normal healthy volunteers. *Int J Clin Pharm Res* 1984;4:89–93.

Taylor JE. Neuromediator binding to receptors in the rat brain. The effect of chronic administration of Ginkgo biloba extract. *Presse Med* 1986;15:1491–1493.

van Dongen MC, van Rossum E, Kessels AG, Sielhorst HJ, Knipschild PG. The efficacy of ginkgo for elderly people with dementia and age-associated memory impairment: new results of a randomized clinical trial. *J Am Geriatr Soc* 2000;48:1183–1194.

Wesnes KA, Ward T, McGinty A, Petrini O. The memory enhancing effects of a Ginkgo biloba/Panax ginseng combination in healthy middle-aged volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 2000;152:353–361.

Wettstein A. Cholinesterase inhibitors and Ginkgo extracts—are they comparable in the treatment of dementia? Comparison of published placebo-controlled efficacy studies of at least six months' duration. *Phytomedicine* 2000;6:393–401.