

DFG Senatskommission
zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln

SKLM



Toxikologische Bewertung von Rotschimmelreis: Aktualisierung

Endfassung vom 18.12.2012

Mitglieder und Gäste der DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln 2011-13

Mitglieder:

Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand (Vorsitzender), Prof. Dr. Patrick Diel, Prof. Dr. Karl-Heinz Engel, Prof. Dr. Johanna Fink-Gremmels, Prof. Dr. Jan G. Hengstler, Prof. Dr. Hans-Ulrich Humpf, Prof. Dr. Hans-Georg Joost, Prof. Dr. Dietrich Knorr, Prof. Dr. Doris Marko, Prof. Dr. I.M.C.M. Ivonne Rietjens, Prof. Dr. Pablo Steinberg

Ständige Gäste:

PD Dr. Christian Hertel, Prof. Dr. Sabine Kulling, Prof. Dr. Alfonso Lampen, Prof. Dr. Gerhard Rechkemmer, Dr. Richard H. Stadler, Prof. Dr. Stefan Vieths

Die Kommission dankt der Arbeitsgruppe „Lebensmittelinhaltsstoffe“:

Prof. Dr. Pablo Steinberg (AG Vorsitzender), Dr. Klaus E. Appel, Dr. Matthias Baum, Prof. Dr. Hubertus E. Brunn, Prof. Dr. Patrick Diel, Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand, Barbara Engeli, Prof. Dr. Jan G. Hengstler, Prof. Dr. Hans-Ulrich Humpf, Dr. Dirk Lachenmeier, Prof. Dr. Doris Marko, Prof. Dr. Christian Steffen, Prof. Dr. Peter Winterhalter für die Erarbeitung der Stellungnahme und dem SKLM Kommissionssekretariat vertreten durch Dr. Michael Habermeyer, Dr. Sabine Guth und Dr. Angelika Roth für die Unterstützung.

SKLM Kommissionssekretariat

Lebensmittelchemie und Toxikologie, Technische Universität Kaiserslautern,
Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern

E-Mail: sklm@rhrk.uni-kl.de • Tel.: +49 631 2054200 • Fax: +49 631 2054005

Rotschimmelreis wird zurzeit unter unterschiedlichen Bezeichnungen¹ vor allem über das Internet zumeist als Nahrungsergänzungsmittel mit Cholesterinspiegel-senkender Wirkung, d.h. ohne arzneimittelrechtliche Zulassung, angeboten. Diese Entwicklung hat die DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) zum Anlass genommen, Rotschimmelreis erstmals 2004 unter dem Gesichtspunkt seiner gesundheitlichen Unbedenklichkeit zu bewerten. Die SKLM hat nun, nachdem die European Food Safety Authority 2011 eine Bewertung von gesundheitsbezogenen Angaben (health claims) zu Monacolin K aus Rotschimmelreis vorgenommen hat, ihre Stellungnahme aktualisiert und am 18. Dezember 2012 folgenden Beschluss gefasst:

Toxikologische Bewertung von Rotschimmelreis

1 Einleitung

Rotschimmelreis ist ein Fermentationsprodukt von gewöhnlichem Reis mit bestimmten Schimmelpilzstämmen der Gattung *Monascus*. Durch die Fermentation entstehen neben roten Farbstoffen verschiedene potenziell wirksame Inhaltsstoffe wie Monacoline, Monankarine, Ankalactone und Citrinin. Die Verwendung von Rotschimmelreis zum Färben, Aromatisieren und Konservieren von Lebensmitteln sowie als Heilmittel zur Förderung der Verdauung und der Blutzirkulation in Ostasien reicht schon Jahrhunderte zurück [1]. In China wurde Rotschimmelreis 1982 als Lebensmittelzusatzstoff zur Färbung von Fleisch, Fisch und Sojaprodukten in eine Richtlinie für Lebensmittelzusatzstoffe aufgenommen [2]. In Japan hingegen sind nur die Pigmente des Rotschimmelreisstammes *Monascus purpureus* zur Verwendung in Lebensmitteln zugelassen. Dort erreichte bereits im Jahre 1977 die Produktion von Rotschimmelreis 100 Tonnen/Jahr [3].

Das Produkt „Rotes Reismehl“ wird, wenn es zum Färben von Lebensmitteln, also zu technologischen Zwecken eingesetzt werden soll, in der EU als Lebensmittelzusatzstoff und nicht als färbendes Lebensmittel eingestuft und bedarf folglich einer Zulassung, die als Lebensmittelfarbstoff bisher nicht gegeben ist [4, 5]. Hinsichtlich einer möglichen Verwendung zu anderen Zwecken wird die Verkehrsfähigkeit von „Rotem Reismehl“ als Lebensmittel in der EU nicht einheitlich bewertet.

Obwohl Rotschimmelreis als Zusatzstoff nicht zugelassen ist, wurde sein Einsatz bei vegetarischen Wurst-ähnlichen Produkten nachgewiesen [6]. In Zusammenhang mit

¹ u.a. als Roter Reis, rot fermentierter Reis, red yeast rice, red mould rice, Angkak, Hongqu und Red Koji sowie als CholestinTM, XuezhikangTM, HypoColTM, CholestolTM, CholesteSureTM und CholestOutTM

Berichten über allergische Reaktionen wurde ebenfalls eine - unzulässige - Verwendung bei der Herstellung von Wurstwaren aufgedeckt [7-9].

In den USA wurde ein Rotschimmelreis-Präparat (CholestinTM) als Nahrungsergänzungsmittel vertrieben [10]. Im Jahre 2000 wurde es von der Food and Drug Administration (FDA) aufgrund seiner arzneimittelähnlichen Wirkung als ungeprüftes Arzneimittel eingestuft [11].

In der EU wird Rotschimmelreis als Nahrungsergänzungsmittel zur Senkung des Cholesterinspiegels angeboten. Der „Novel Food“-Katalog der Europäischen Kommission erteilt dem Produkt „red yeast fermented rice“ den Status „FS“, d.h. das Produkt wurde vor dem 15.5.1997 nur als oder in Nahrungsergänzungsmitteln verwendet, jede andere Verwendung bedarf der Zulassung nach der Novel Food Verordnung

[http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/general_food/sum_26012010_en.pdf]. Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte warnte in einer Pressemitteilung vor dem Verzehr solcher Produkte [12], da der wirkungsrelevante Inhaltsstoff Monacolin K identisch ist mit Lovastatin, einem als Arzneistoff verwendeten potenten Statin. Statine hemmen die Cholesterinbiosynthese auf der Stufe der Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A (HMG-CoA) Reduktase. Die gleichzeitige Einnahme von Rotschimmelreis und Statinen sowie zahlreichen anderen Arzneimitteln kann zu einer Steigerung dieser Hemmwirkung mit der Folge von gesundheitlich nachteiligen Effekten führen.

Auf Anfrage der Europäischen Kommission hat die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority, EFSA) kürzlich eine Stellungnahme zur Begründung von Health Claims veröffentlicht, die sich auf Monacolin K aus Rotschimmelreis und den Erhalt normaler LDL-Cholesterinspiegel bezieht [13]. Die Einschätzung der EFSA stützt sich auf zwei klinische Studien [14, 15], die einen Effekt von Rotschimmelreispräparaten ab einer täglichen Dosis von ca. 10 mg Monacolin K auf den LDL Cholesterinspiegel bei Personen mit Hypercholesterinämie gezeigt haben, sowie auf die bekannte pharmakologische Wirkung von Lovastatin als Hemmstoff der HMG-CoA Reduktase. Diese Bewertung der EFSA stellt allerdings keine Einstufung oder Zulassung von Rotschimmelreis als Lebensmittel dar und es erfolgt keine Sicherheitsbewertung. Nach Ansicht der EFSA besteht eine Ursache-Wirkungsbeziehung zwischen dem Verzehr von Monacolin K

aus Rotschimmelreis und dem Erhalt normaler LDL-Cholesterinspiegel. Um die ausgelobten Wirkungen zu erreichen, müssen 10 mg Monacolin K pro Tag über Rotschimmelreispräparate aufgenommen werden. Weitere klinische Studien belegen die cholesterinsenkende Wirkung von Rotschimmelreis [16-18].

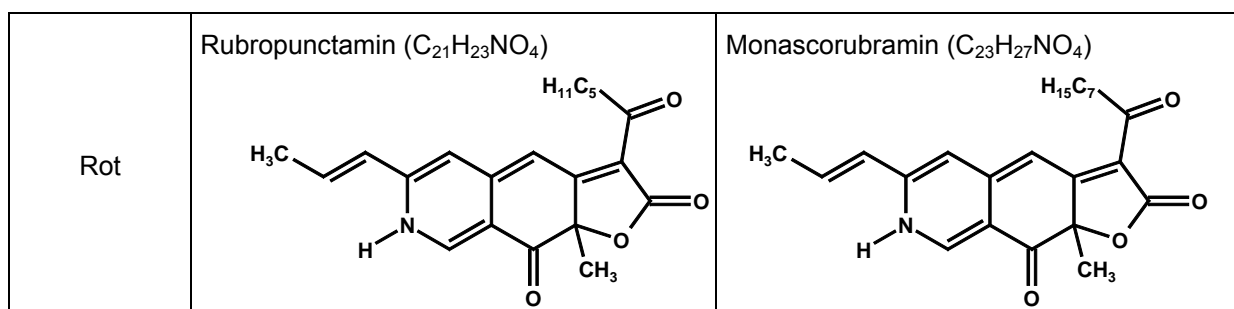
2 Inhaltsstoffe und deren biologische Wirkungen

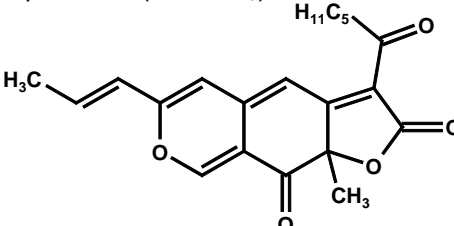
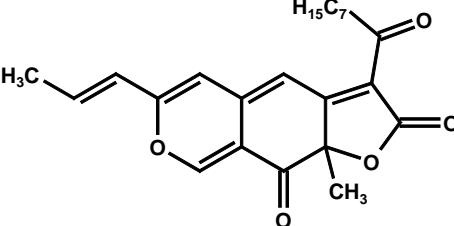
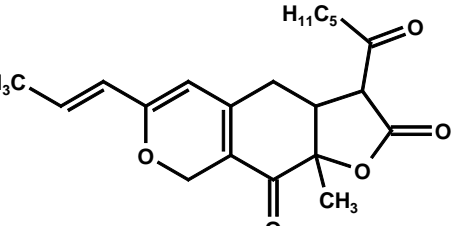
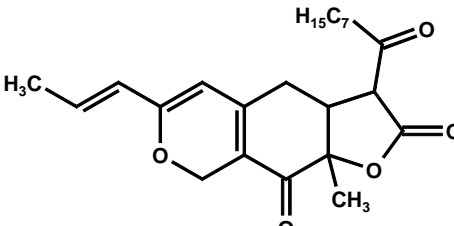
Rotschimmelreis wird durch Fermentation von gewöhnlichem Reis (*Oryza sativa*) mit bestimmten Schimmelpilzstämmen der Gattung *Monascus* (*M. ruber*, *M. purpureus*, *M. pilosus*, *M. floricidans*) gewonnen [19]. *Monascus spp.* werden taxonomisch zur Familie der *Monascaceae* gerechnet [20, 21]. Charakteristisch sind die endständigen, von Hyphen umgebenen Kleistothezien. Die Hauptbestandteile des Rotschimmelreises sind Kohlenhydrate (25-73%), Proteine (14-31%), Wasser (2-7%) und Fettsäuren (1-5%) [1, 22]. Die Gehaltsangaben variieren in Abhängigkeit vom Fermentationsverfahren. Während der Fermentation über mehrere Tage bis Wochen werden zahlreiche Produkte des Sekundärstoffwechsels des Schimmelpilzes gebildet, u.a verschiedene Pigmente, pharmakologisch wirksame Monacoline (HMG-CoA Reduktasehemmer) und Monankarine (Hemmstoffe der Monoaminoxidase), das Mykotoxin Citrinin sowie andere nicht färbende Substanzen [19, 23].

2.1 Pigmente

Monascus spp. bilden sowohl freie als auch komplex an Proteine, Aminosäuren und Peptide gebundene Pigmente [24]. Zu den farbgebenden Hauptkomponenten gehören neben den beiden roten Farbstoffen Rubropunctamin und Monascorubramin die orange-roten Pigmente Rubropunctatin und Monascorubrin sowie die gelben Pigmente Monascin und Ankaflavin [25-29] (s. Abbildung 1).

Abbildung 1: Hauptpigmente aus *Monascus spp* (nach [19])



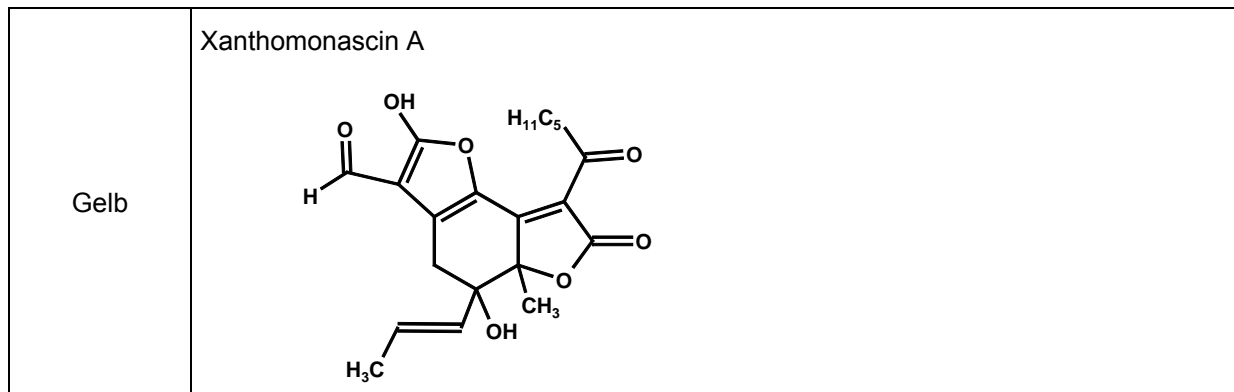
Orange-rot	Rubropunctatin ($C_{21}H_{22}O_5$) 	Monascorubrin ($C_{23}H_{26}O_5$) 
Gelb	Monascin (=Monascoflavin $C_{21}H_{26}O_5$) 	Ankaflavin ($C_{23}H_{30}O_5$) 

Der Gehalt an Pigmenten in Rotschimmelreis schwankt in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen wie Feuchtigkeitsgehalt, pH-Wert, Nährstoffangebot und Sauerstoffversorgung [30, 31]. Daten aus einem traditionell mittels *Monascus purpureus* hergestellten Rotschimmelreis ergaben einen Pigmentanteil von 0.3 % im Reismehl [1]. Daten zum Anteil einzelner Pigmente und deren natürliche Schwankungsbreite im traditionellen Produkt liegen jedoch nicht vor.

Die mittels HPLC aus dem Mycel aufgereinigten Pigmente Monascorubrin, Rubropunctatin, Monascin und Ankaflavin führten bei Inkubation von 3 Tage alten Hühnerembryonen über 9 Tage zu Missbildungen bzw. zum Tod der Embryonen. Die Dosis, die bei 50% der behandelten Embryonen diese Effekte verursachte (ED_{50}), lag für Monascorubrin bei 4.3, für Rubropunctatin bei 8,3, für Monascin bei 9,7 und für Ankaflavin bei 28 $\mu\text{g}/\text{Embryo}$. Im Gegensatz zu den C_7H_{15} -Seitenkettenhomologen Monascorubrin und Ankaflavin zeigten die C_5H_{11} -Seitenkettenhomologen Rubropunctatin und Monascin missbildungsauslösende Eigenschaften ab Dosen von 3 $\mu\text{g}/\text{Hühnerembryo}$. Studien zur Embryotoxizität und Teratogenität nach OECD Guidelines liegen nicht vor. Über antibakterielle und fungizide Eigenschaften bei einigen Pigmenten wurde berichtet [32]. Ankaflavin führte bei den Humankrebszelllinien HepG2 und A549 zu chromosomaler Kondensation und Fragmentation (IC_{50} 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$, [33]).

Ein weiteres gelbes Pigment (s. Abbildung 2), das Xanthomonascin A, wurde beschrieben, allerdings liegen bisher keine toxikologischen Daten hierzu vor [34].

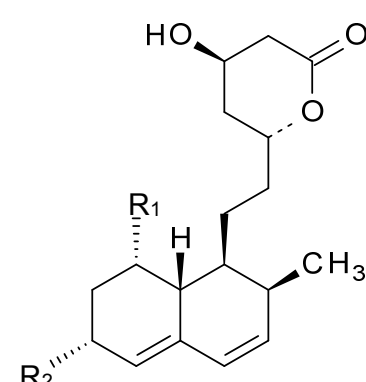
Abbildung 2: Xanthomonascin A aus *Monascus ssp.*



2.2 Monacoline

Monacoline sind Polyketide, die u.a. von Spezies der Gattung *Monascus* gebildet werden (Abbildung 3). In *Monascus ruber* verläuft die Biosynthese von Monacolin K über die Derivate Monacolin L, J und X. Monacolin K bildende *Monascus*-Stämme sind eher schwache Pigmentbildner [19]. In Rotschimmelreis sind mindestens 14 Monacoline nachgewiesen worden u.a. Monacolin K (Mevinolin), J, L, M, X, Dehydromonacolin K, Dihydromonacolin L und Compactin [35].

Abbildung 3: Struktur der Monacoline [35]

Monacoline	R1	R2	
	Monacolin K	CH ₃	
	Compactin	H	
	Monacolin M	CH ₃	
	Monacolin X	CH ₃	
	Monacolin J	CH ₃	OH
	Monacolin L	CH ₃	H
	ML-236A	OH	H
	ML-236C	H	H

Zahlreiche Monacoline wurden als Hemmstoffe der Cholesterinbiosynthese identifiziert. Die reversible kompetitive Hemmung der mikrosomalen HMG-CoA Reduktase verhindert die Reduktion von HMG-CoA zu Mevalonsäure und damit

sowohl die Bildung von Cholesterin als auch die weiterer Verbindungen wie Ubichinonen [36-38].

Diese Wirkung liegt dem Einsatz von Monacolin K als Arzneimittel zugrunde. Die heute übliche Bezeichnung für den Wirkstoff Monacolin K ist Lovastatin. Die therapeutische Dosis dieses Statins zur Behandlung der Hypercholesterinämie beträgt beim Erwachsenen durchschnittlich 40 mg täglich mit einer üblichen Einstiegsdosis von 20 mg/Tag. Die orale Bioverfügbarkeit von Lovastatin beim Menschen beträgt etwa 31% [39]. In Leber und Dünndarm wird Lovastatin vornehmlich durch Mitglieder der Cytochrom P450 (CYP) 3A Familie metabolisiert [40]. Lovastatin selbst ist unwirksam. Es wird unter alkalischen Bedingungen [35] oder enzymatisch [41] unter Öffnung des Laktonringes in die Wirkform, das hydrophile 6'-beta-Hydroxy-Lovastatin (Lovastatinsäure) umgewandelt. Lovastatinsäure wird im Tierversuch zu 80-100 % resorbiert [39]. Nach oraler Gabe von Lovastatin liegen Lovastatin und Lovastatinsäure in ähnlichen Konzentrationen im Blut vor [42].

Studien zur subakuten Toxizität von Lovastatin zeigten, dass orale Dosen von 100-200 mg/kg Körpergewicht/Tag beim Kaninchen tödlich waren. Diese Dosen wurden dagegen von Hunden, Ratten und Mäusen toleriert. Beobachtet wurden Leber- und Nierennekrosen, die sich auf eine spezifisch für das Kaninchen extrem starke Hemmung der Mevalonat-Synthese zurückführen ließen. Durch Gabe des Cholesterinvorläufers Mevalonat konnte der Effekt vollständig aufgehoben werden, nicht aber durch Gabe von Cholesterin. Daraus wurde gefolgert, dass die spezifische Toxizität von Lovastatin in Kaninchen auf die Depletion eines Metaboliten des Mevalonats zurückzuführen ist, der essentiell für das Überleben der Zellen ist [43].

Beim Menschen ist die bedeutsamste unerwünschte Wirkung von Lovastatin die Muskeltoxizität, die bei einer Monotherapie nur selten auftritt, häufig jedoch bei gleichzeitiger Gabe von Arzneimitteln, die als Substrate oder Hemmstoffe von CYP3A-Isoenzymen fungieren. Dazu gehören Vertreter aus der Klasse der Immunsuppressiva vom Ciclosporin-Typ [44], weitere Statine und andere Cholesterinsenker wie Fibrate, Antimykotika wie Itraconazol [45], bestimmte Antibiotika wie Erythromycin, Clarithromycin, Troleandomycin, Antidepressiva wie Nefazodon, Antikoagulantien vom Cumarin-Typ und bestimmte Protease-Inhibitoren. Auch die gleichzeitige Aufnahme von Grapefruitsaft kann den Metabolismus von

Lovastatin hemmen [46]. Durch Blockierung des CYP-vermittelten Statinabbaus steigen die Blutspiegel von Lovastatin und seinem aktiven Metaboliten Lovastatinsäure stark an [46, 47]. In mehreren Fällen führte dies zu einer Rhabdomyolyse (gravierende Muskelschädigung) mit Todesfolge [48].

Nahrungsergänzungsmittel aus Rotschimmelreis enthalten Monacoline in einer Konzentration bis 1,9 % [49-51]. Rotschimmelreisprodukte in Kapselform wiesen Gehalte von 0,31 bis 11,15 mg Monacolin K pro Kapsel auf [49]. Weiterhin ist das Verhältnis von der Lakton- zur Säureform, die die eigentliche Wirkform darstellt, stark variabel. Der Anteil der Säureform am Gesamtgehalt von Monacolin K kann zwischen 5 und 100% betragen [35, 49], so dass Bioverfügbarkeit und biologische Wirkung nur schwer abzuschätzen sind. Die Wirkung von Rotschimmelreis auf die Cholesterinsynthese ist daher nicht allein durch den Gehalt an Monacolin K bestimmt. Durch Optimierung der Fermentationsbedingungen und Auswahl der Reissorte sind erheblich höhere Konzentrationen an HMGCoA-Reduktase-Inhibitoren zu erzielen. So wird im Internet lösliches Rotschimmelreispulver mit bis zu 30 mg Monacolin K pro g Pulver angeboten (Grand Tech Bio Ltd., China). In Kulturen mit thailändischem Reis (*O. sativa* L. cv. RD6) konnten bis zu 34 mg Monacolin K sowie 22 mg Compactin (Desmethyl-Monacolin K, Mevastatin) pro g Pulver neben anderen Monacولين nachgewiesen werden [52]. Die Hemmwirkung der Wirkform von Compactin auf die HMG CoA-Reduktase ist etwa halb so groß wie die derjenigen von Monacolin K ($K_i=1,4$ nM bzw. 0,64 nM [36]).

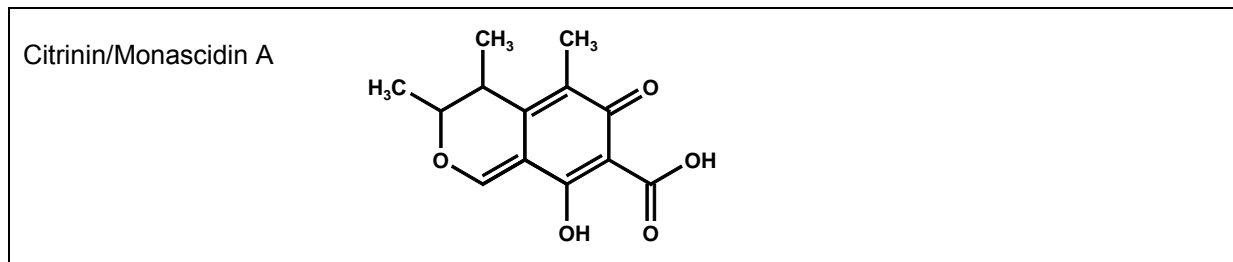
2.3 Citrinin

Das Mykotoxin Citrinin (Abbildung 4) wird von verschiedenen *Penicillium*-, *Aspergillus*- und *Monascus*-Stämmen (*M. purpureus*, *M. ruber*) [53] gebildet. Die Bildung von Citrinin (identisch mit Monascidin A) durch *Monascus spp.* hängt von den Kulturbedingungen ab [31]. So führt die Fermentation von lebensmittelrelevanten *Monascus*-Arten auf Reis zu Citriningehalten von bis zu etwa 2,5 g/kg Trockenmasse. In flüssiger Kultur wurden Werte bis maximal 56 mg/kg Trockenmasse erreicht [23, 54].

In kommerziellen Proben von *Monascus*-Fermentationsprodukten wie Rotschimmelreis wurden bis zu 17 µg Citrinin/g Trockenmasse [55] und in „vegetarischer Wurst“ bis zu 105 µg/kg nachgewiesen [56]. Heber et al. (1999)

wiesen mittels Enzymimmunoassay in sieben von neun Nahrungsergänzungsmitteln auf der Basis von Rotschimmelreis Citrininkonzentrationen von bis zu 65 µg/Kapsel nach [51]. Gordon et al. (2010) untersuchten mittels LC-MS/MS 12 kommerziell erhältliche Nahrungsergänzungsmittel und fanden in einem Drittel der Proben Citrininkonzentrationen von 24 bis 189 mg/kg bzw. 14 bis 114 µg Citrinin/Kapsel [49].

Abbildung 4: Struktur von Citrinin [57]



In einer 90 Tage Studie wurde fermentierter Rotschimmelreis, der mittels eines mutanten, Citrinin-produzierenden Stammes von *Monascus ruber* (NTU 505) hergestellt wurde (90 ppb Citrinin), an männliche Wistar Ratten verfüttert [58]. Der verabreichte Rotschimmelreis enthielt 1, 2, 10, 20 und 200 mg/kg Citrinin sowie 0,24 mg/kg KG Lovastatin. Kontrollgruppen erhielten unfermentierten Reis ohne Citrininzusatz bzw. unfermentierten Reis, der 2 und 200 mg Citrinin/kg enthielt. Auch bei der höchsten eingesetzten Dosis von entsprechend 200 mg/kg Citrinin (20 µg Citrinin/kg KG/Tag) zeigten sich keine toxikologisch signifikanten Veränderungen von Körpergewicht, Nahrungsaufnahme, Organgewichten, Serumspiegel und Histopathologie von Leber und Niere. Die EFSA hat aus dieser Studie für Citrinin eine Dosis ohne toxische Wirkung (NOAEL) von 20 µg/kg KG/Tag für Effekte auf die Niere bei Ratten abgeleitet [57]. Weitere Studien zur subchronischen Toxizität, aus denen ein NOAEL abgeleitet werden kann, liegen derzeit nicht vor [57].

Im Tierversuch erwies sich die chronische Gabe von Citrinin bei verschiedenen Spezies als nephrotoxisch [59, 60]. 6 Wochen alten männlichen Fischer-344-Ratten wurde 0,1 % Citrinin im Futter ad libitum (anfängliche Dosis entsprechend ca. 70 mg/kg KG/Tag [57]) über bis zu 80 Wochen verabreicht. Nach 40 Wochen kam es bei allen Tieren zu fokalen Hyperplasien des Tubulusepithels und zur Bildung von Adenomen in den Nieren. Nach 60 Wochen wurden benigne Nierentumore beobachtet, die histopathologisch als Klarzelladenome beschrieben wurden [59].

Bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten wurden in einer Pilotstudie nach oraler Gabe von 0,02 bzw. 0,05 % Citrinin im Futter (entsprechend 25 bzw. 70 mg/kg KG/Tag, [57]) über 48 Wochen zwar Schäden an den Epithelzellen der Nierentubuli aber noch keine Tumore beobachtet [60]. In einem Initiations-Promotions-Folge-Experiment wurde nach vorheriger zweiwöchiger oraler Gabe von *N*-Nitrosodimethylamin bzw. *N*-(3,5-Dichlorophenyl)succinimid etwa 25 bzw. 75 mg Citrinin /kg KG/Tag über die Nahrung für 20 Wochen verabreicht. Im Vergleich zu den Tieren, denen ausschließlich *N*-Nitrosodimethylamin bzw. *N*-(3,5-Dichlorophenyl)succinimid verabreicht wurde, traten vermehrt renale Tumore auf [60].

Adäquate Langzeit-Kanzerogenitätsstudien über 2 Jahre (104 Wochen) fehlen bisher.

Die *International Agency for Research on Cancer* (IARC) stuft die Substanz Citrinin in Gruppe 3 ein (d. h. der Stoff ist hinsichtlich der Kanzerogenität für den Menschen nicht einstuftbar) [61]. Ein Zusammenhang von Citrinin und/oder Ochratoxin A mit der sog. endemischen Balkan-Nephropathie, bei der es zu Fibrosen der Nierenrinde und zu Nekrosen der Tubulusepithelien bzw. zu Tumoren der ableitenden Harnwege kommt, wird sowohl für die Einzelsubstanzen wie auch für deren Kombination diskutiert. Als Ursache für diese Mykotoxin-induzierte Nephropathie wird der Verzehr von verschimmeltem Getreide in Endemie-Gebieten vermutet [62-64].

Eine mutagene Wirkung von Citrinin im Ames-Test wurde weder mit noch ohne Inkubation mit Leber-S9-Mix aus Ratte oder Mensch festgestellt [55, 65]. Lediglich im sog. *Salmonella*-Hepatocyten-Assay, bei dem primäre Ratten-Hepatocyten als metabolisches Aktivierungssystem verwendet wurden, zeigte sich eine konzentrationsabhängige mutagene Wirkung des Citrinins auf die Bakterien. Eine CYP3A4-vermittelte Aktivierung, eventuell gekoppelt mit anschließenden Konjugationsreaktionen durch Phase II-Enzyme, wurde als Metabolisierungsweg diskutiert [55]. In CYP3A4-exprimierenden NIH 3T3-Zellen wurde im Gegensatz zu den Wildtyp-Zellen ein dosisabhängiger Anstieg der Mutationsfrequenz beobachtet. In HepG2 Zellen induzierte Citrinin keine Einzelstrangbrüche [65], in humanen embryonalen Nierenzellen (HEK293) keine oxidativen DNA-Schäden und in Ovarzellen des Chinesischen Hamster und humanen Lymphozyten keinen Schwesterchromatidaustausch [66]. Hingegen zeigte Citrinin eine aneuploidogene Wirkung in der Lungenfibroblastenzelllinie V79 aus dem Chinesischen Hamster [67],

induzierte Mikronuklei in der menschlichen Leberzelllinie HepG2 [65] und in isolierten peripheren humanen Lymphozyten [68] und führte zu Chromosomenveränderungen in humanen peripheren mononukleären Blutzellen [69]. *In vivo* induzierte Citrinin Chromosomenveränderungen und Hypodiploidie in Knochenmarkszellen von Mäusen, denen über 8 Wochen 5 bzw. 20 mg Citrinin /kg KG/Tag oral verabreicht wurde [70].

Weiterhin zeigte Citrinin *in vitro* [71, 72] und *in vivo* [73-76] reproduktionstoxische, missbildungsauslösende und embryotoxische Effekte. Citrinin wirkte missbildungsauslösend in Hühnerembryonen [77, 78] (wobei die prozentuale Missbildungsauslösung bei den überlebenden Tieren ab einer Dosierung von 50 µg/Embryo 46% beträgt [77]). Zu beachten ist, dass die in den *in vivo* Studien eingesetzten Dosen eindeutig zu maternaler Toxizität führten und die beobachteten Effekte auf den Fötus möglicherweise hierauf zurückzuführen sein könnten [57].

Die verfügbaren *in vitro* Studien zeigen, dass die toxische Wirkung von Citrinin über verschiedene Mechanismen vermittelt werden kann, beispielsweise einer Hemmung von DNA- und RNA-Synthese, einer Hemmung von Mikrotubuli Zusammenführung und Tubulin Polymerisation, einer Veränderung der mitochondrialen Funktionalität und erhöhten Produktion an reaktiven Sauerstoffspezies, einer Inaktivierung des Heat Shock Protein 90 Multichaperonkomplexes und Aktivierung apoptotischer Signalwege wie der Caspase-Kaskade [57].

Die EFSA kommt in ihrer Stellungnahme zu dem Schluss, dass eine Dosis, bei der keine Besorgnis in Bezug auf Nephrotoxizität besteht, für den Menschen bei 0,2 µg/kg KG/Tag liegt. Dieser Wert wurde auf der Basis des vorliegenden NOAELs aus der subchronischen Studie an Ratten von 20 µg/kg KG/Tag und einem Sicherheitsfaktor von 100 abgeleitet. Aufgrund der vorliegenden Daten konnte aber eine genotoxische und kanzerogene Wirkung bei dieser Dosis nicht ausgeschlossen werden und es bestehen noch Unsicherheiten bei der Risikobewertung [57].

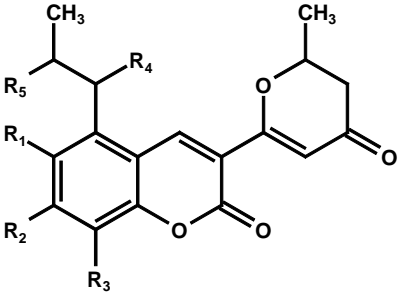
2.4 Weitere Produkte des Sekundärstoffwechsels von *Monascus* ssp.

2.4.1 Monankarine

Die Monankarine A-F (Abbildung 5) sind Verbindungen mit Pyranocumarinstruktur aus *Monascus anka* (*M. purpureus*), die trotz ihrer gelben Farbe nicht den Pigmenten

zugerechnet werden. Über die Konzentrationen von Monankarinen in Rotschimmelreis liegen keine Daten vor. Die diastereomeren Monankarine A und B sowie C und D wirken im mikromolaren Konzentrationsbereich hemmend auf die Monaminoxidase aus Gehirn- und Leberpräparationen von Mäusen [79]. Die höchste Aktivität zeigt Monankarin C mit einem IC_{50} -Wert von 11 μ M.

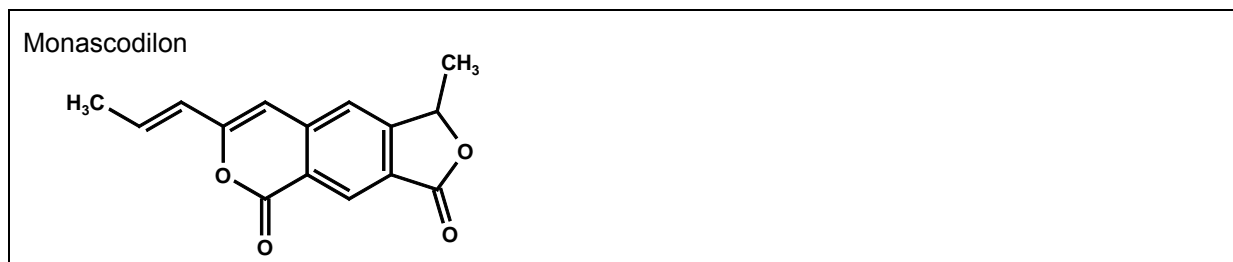
Abbildung 5: Struktur der Monankarine A-F [79]

Monankarine		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
	Monankarin A und B	CH ₃	OH	H	CH ₃	OH
	Monankarin C und D	CH ₃	OH	CH ₃	CH ₃	OH
	Monankarin E	H	OH	CH ₃	H	OH
	Monankarin F	CH ₃	OH	CH ₃	H	OH

2.4.2 Monascodilon

Monascodilon (Abbildung 6) wurde in 6 von 12 unbehandelten Rotschimmelreisproben in Konzentrationen von bis zu 0,4 mg/g nachgewiesen. Nach Erhitzen findet man eine Erhöhung der Monascodilongehalte, wobei die Vorläuferverbindungen bisher nicht identifiziert sind. Unter den im Labor gewählten Bedingungen (121°C, 20 min) werden Gehalte von bis zu 5 mg/g im Rotschimmelreis gefunden [80]. Über die pharmakologischen bzw. toxischen Eigenschaften ist bisher nichts bekannt.

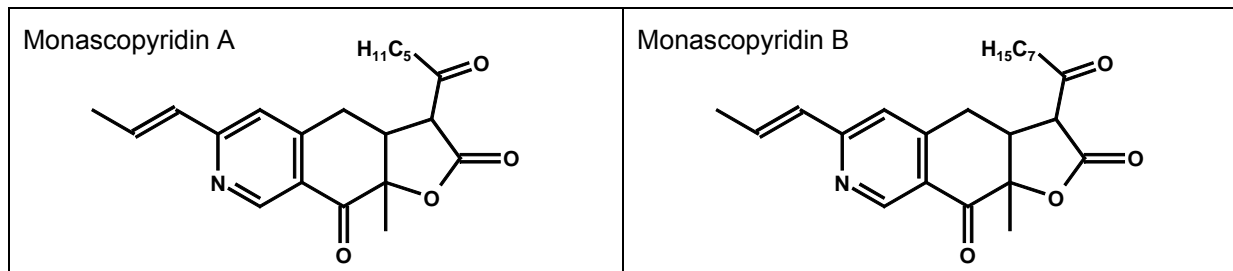
Abbildung 6: Struktur von Monascodilon [80]



2.4.3 Monascopyridine

Die farblosen Monascopyridine A und B (Abbildung 7) wurden nach der Fermentation von *Monascus purpureus* DSM1379 und DSM1603 in Rotschimmelreispräparaten in Gehalten von bis zu 6 mg/g gefunden [81]. Weiterhin wurden die Monascopyridine C bis F in fermentiertem Rotschimmelreis nachgewiesen [82-84]. Auch hier existieren bisher nur wenige Daten zu pharmakologischen bzw. toxischen Eigenschaften. Monascopyridine waren in immortalisierten humanen Nierenepithelzellen im mikromolaren Konzentrationsbereich zytotoxisch [83, 84]. Für die Monascopyridine C und D wird ein aneuploidogenes Potential diskutiert, beide Verbindungen lösten aber keine Apoptose aus [82, 83].

Abbildung 7: Strukturen von Monascopyridin A und B [81]



2.4.4 γ -Aminobuttersäure (GABA)

Bei der Fermentation von *Monascus purpureus* CCRC 31615 auf Reis wurden bis zu 1.5 g γ -Aminobuttersäure (GABA, Abbildung 8) pro kg gebildet [85]. GABA hat mehrere physiologische Funktionen, beispielsweise als Neurotransmitter inhibitorischer Neurone in Gehirn und Rückenmark und zeigt eine blutdrucksenkende sowie eine diuretische Wirkung [86]. Die intravenöse Gabe von 250 μ g/kg Körpergewicht GABA, isoliert aus Rotschimmelreis mittels HPLC, führte bei Ratten mit spontanem Bluthochdruck zur Blutdrucksenkung [87].

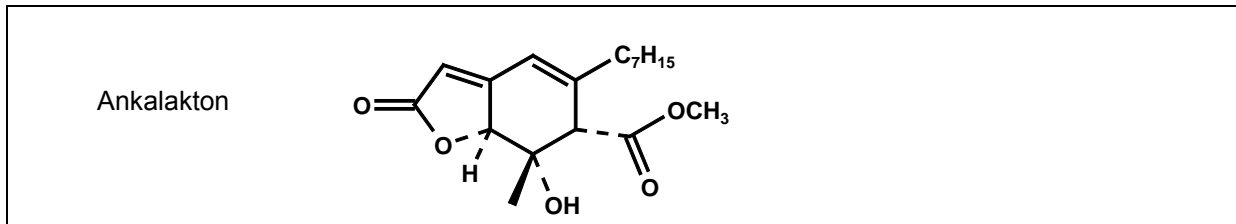
Abbildung 8: Struktur von GABA



2.4.5 Ankalakton

Das farblose Ankalakton (Abbildung 9) aus *Monascus anka* (*M. purpureus*) hemmt das Wachstum von *Escherichia coli* und *Bacillus subtilis* [88]. Über weitere pharmakologische bzw. toxische Eigenschaften ist bisher nichts bekannt.

Abbildung 9: Struktur von Ankalakton [88]



2.4.6 Weitere identifizierte Inhaltsstoffe

In den letzten Jahren sind eine Reihe weiterer Inhaltsstoffe in Fermentationsprodukten aus verschiedenen *Monascus sp.* identifiziert worden. Zu nennen sind beispielsweise Stigmast-4-en-3-on [89], Monapurfluoren A und B [90], Peroxymonascuspyron [91], Monascuspyrrol [92], Monasnicotinate A-D [93] und zytotoxische Steroide [94].

Über die toxikologischen Eigenschaften dieser Stoffe liegen bisher nur sehr wenige Daten vor. Im Wesentlichen wurde bisher die Zytotoxizität *in vitro* in verschiedenen Zelllinien untersucht. Verschiedene steroidale Verbindungen wiesen eine zytotoxische Wirkung gegenüber humanen Lungenadenokarzinomzellen und Ovarkrebszellen mit IC₅₀-Werten im µM Bereich auf [94]. Monapurfluoren A und B zeigten moderate antiproliferative Effekte im µM Konzentrationsbereich in humanen Kehlkopf- und Colonadenokarzinomzellen [90].

2.4.7 Nicht identifizierte Inhaltsstoffe

Fung et al. [95] konnten eine polare Fraktion aus Rotschimmelreis extrahieren, die sowohl die P-Glykoprotein Aktivität steigerte als auch verschiedene Arzneimittel-metabolisierende Cytochrome (CYP 1A2, 2C9 und 3A4) hemmte.

3 Biologische Wirkungen von Rotschimmelreis

Studien zur Toxizität von Rotschimmelreis in relevanten Testsystemen liegen bisher nicht vor. Untersuchungen zur Embryotoxizität von Rotschimmelreisextrakten am Hühnerembryo zeigten eine weitaus schwächere teratogene und letale Wirkung als aufgrund der Pigmentkonzentrationen zu erwarten gewesen wäre. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass die stärker embryotoxischen orange-roten Pigmente während des Fermentationsprozesses mit Aminogruppen aus der Matrix reagieren und nur die schwächer embryotoxischen gelben Pigmente Monascin und Ankaflavin erhalten bleiben. Ein Vergleich der Wirkung von Rotschimmelreisextrakten mit der Wirkung von Citrinin in Hühnerembryonen wurde nicht durchgeführt. Im Zusammenhang mit Untersuchungen zu Citrinin wurde aber von einer konzentrationsabhängigen mutagenen Wirkung des *Monascus*-Extraktes im *Salmonella*-Hepatocyten-Assay berichtet [55].

Im Zusammenhang mit Untersuchungen zur blutdrucksenkenden Wirkung von intravenös verabreichtem GABA wird von einer entsprechenden Wirkung auch nach oraler Gabe von *Monascus pilosus*-fermentiertem Weizen an Ratten berichtet [96].

3.1 Pharmakologische Wirkungen von Rotschimmelreis

Die pharmakologische Wirksamkeit von Rotschimmelreis wurde in mehreren klinischen Studien mit verschiedenen handelsüblichen Rotschimmelreis-Produkten nachgewiesen. Die in diesen Studien verwendeten täglichen Dosen von Rotschimmelreis betragen 1,2 bis 4,8 g, entsprechend Monacolin K (Summe von Monacolin K und Monacolin K-Säure) zwischen 7,2 mg [18] und 10-12,8 mg [97]. In diesen Studien wurde eine Senkung der LDL-Cholesterolkonzentration von bis zu 30 % und der Gesamtcholesterolkonzentration von bis zu 23% erzielt [15, 17, 18, 97, 98]. In einer Studie erwies sich Rotschimmelreis (2 x 2400 mg täglich) als ebenso wirksam wie 2 x 20 mg Pravastatin [18]. Neben der Wirkung von Rotschimmelreis auf die Blutspiegel von LDL-Cholesterin und Gesamt-Cholesterin wurde auch eine verminderte Sterblichkeit bei Patienten mit koronaren Herzerkrankungen und eine reduzierte Gesamtsterblichkeit bei Patienten nach einem Myocardinfarkt berichtet [16].

Ein Risiko dieser HMGCoA-Reduktasehemmstoffe ist die Interaktion mit Grapefruit [46] und zahlreichen Arzneimitteln, die mit dem CYP3A-Metabolismus wechselwirken [99]. Dies betrifft u.a. andere Lipidsenker (Gemfibrozil und andere Fibrate [48, 100]), Niacin (Nikotinsäure) in Mengen von 1 g oder mehr pro Tag, Amiodaron [101], Coumarinderivate [48], Ciclosporin [48], Mibefradil [48], Verapamil, Antimykotika wie Itraconazol und Ketoconazol [48], Makrolidantibiotika (Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin) [48], HIV Proteasehemmer [102] und Nefazodon [103]. Insbesondere beim Verzehr von Rotschimmelreis und gleichzeitiger Einnahme von Arzneimitteln mit CYP3A-hemmenden Eigenschaften können muskeltoxische Wirkungen auftreten. Ein Fall von Rhabdomyolyse bei einem Patienten, der nach einer Nierentransplantation mit Ciclosporin behandelt wurde und zusätzlich ein Rotschimmelreis-haltiges Produkt eingenommen hatte, wurde erstmals 2002 beschrieben [104]. Seitdem sind weitere Fälle von Myopathien nach Verzehr von Rotschimmelreis veröffentlicht worden [105-108].

Ebenfalls liegen einzelne Berichte über allergische Reaktionen nach Kontakt mit Rotschimmelreis bei der Herstellung von Wurstwaren vor. Die Exposition erfolgte sowohl über die Atemwege als auch über die Haut und äußerte sich in Symptomen wie Rhinitis, Bindehautentzündungen, Asthma und Hautekzemen. Untersuchungen am Patienten belegen eine Immunglobulin E-vermittelte Reaktion auf *Monascus purpureus* [7-9]. Systematische Untersuchungen zum allergisierenden Potenzial von Rotschimmelreis liegen nicht vor.

4 Zusammenfassung

Rotschimmelreis enthält neben einer Reihe von bekannten pharmakologisch wirksamen Stoffen weitere, bisher wenig oder nicht untersuchte Inhaltsstoffe. Je nach verwendetem Stamm und in Abhängigkeit von den gewählten Produktionsbedingungen ist mit unterschiedlichen Gehalten der einzelnen Inhaltsstoffe zu rechnen. Für Rotschimmelreis-Produkte werden Daten zur Identität und zum Gehalt der Inhaltsstoffe sowie Produkt-Spezifikationen und Reinheitskriterien oft nicht angegeben oder sind nicht bekannt. Toxikologische Basisdaten stehen für eine wissenschaftlich fundierte Sicherheitsbewertung von Rotschimmelreis nicht zur Verfügung.

Auf der Grundlage der bekannten Inhaltsstoffe sind zunächst Citrinin und die Hemmstoffe der HMGCoA-Reduktase, insbesondere Monacolin K und Compactin, sowie die Pigmente kritisch zu bewerten.

Citrinin wird als nephrotoxisch und teratogen beschrieben und führte in chronischen Toxizitätsstudien an Ratten ab einer Dosierung von 50 mg/kg KG/Tag nach 60 Wochen bei 100% der Tiere zu Nierentumoren. Adäquate Langzeit-Kanzerogenitätsstudien über 2 Jahre (104 Wochen) fehlen aber bisher. Die EFSA hat aus einer subchronischen Studie an Ratten eine Dosis ohne toxische Wirkung (NOAEL) von 20 µg/kg KG/Tag für Nierentoxizität bei Ratten und eine Dosis von 0,2 µg/kg KG/Tag für den Menschen abgeleitet, bei der keine Besorgnis in Bezug auf Nephrotoxizität besteht [57]. Aufgrund der vorliegenden Daten kann aber eine genotoxische und kanzerogene Wirkung bei dieser Dosis nicht ausgeschlossen werden und es bestehen noch Unsicherheiten bei der Risikobewertung [57].

Citrinin kann von allen lebensmittelrelevanten *Monascus spp.* gebildet werden. In handelsüblichen Nahrungsergänzungsmitteln wurden bis zu 114 µg/Kapsel gefunden [49]. Bei einer typischen Dosierung von 4 Kapseln/Tag à 600 mg läge die Citrinin-Exposition bei 456 µg/Tag oder 7,6 µg/kg Körpergewicht/Tag (bezogen auf 60 kg Körpergewicht). Im ungünstigsten Fall könnte somit bei Einnahme von Rotschimmelreis-Präparaten die von der EFSA abgeleitete Dosis von 0,2 µg/kg KG/Tag, bei der keine Besorgnis in Bezug auf Nierentoxizität besteht, erreicht oder sogar weit überschritten werden.

Die als Hemmstoffe der Cholesterinbiosynthese identifizierten **Monacoline** wurden in marktüblichen Nahrungsergänzungsmitteln in Konzentrationen von bis zu etwa 1,9% gefunden, wobei Monacolin K (Lovastatin) bis zu 90 % der Gesamtmonacolinmenge ausmachte. Es wurde in Gehalten von 0,31 bis zu 11,15 mg/Kapsel gefunden. Bei einer empfohlenen Einnahme von beispielsweise 4 Kapseln/Tag nähert man sich dem Bereich der therapeutischen Dosis von Lovastatin an oder liegt sogar deutlich darüber. Bei gleichzeitiger Einnahme von Stoffen mit CYP-hemmender Wirkung, die auch in Rotschimmelreis selbst vorkommen können, kann sich das Risiko des Auftretens von muskeltoxischen Wirkungen erhöhen. Das stark variierende Verhältnis von Monacolin K und Monacolin K-Säure in kommerziell erhältlichen Produkten ist ein zusätzlicher Unsicherheitsfaktor. Monacolin K-Säure ist die Wirkform von Monacolin K und wird sehr viel besser resorbiert als Monacolin K. Daher ist die alleinige Angabe des Monacolin-Gehaltes zur Beurteilung der Dosierung nicht ausreichend. Weiterhin wird die biologische Aktivität der anderen Monacoline, wie z.B. Compactin, welches halb so effektiv bezüglich der HMGCoA-

Reduktasehemmung ist wie Monacolin K, bisher nicht berücksichtigt. Möglicherweise wäre die Angabe des Gesamt-Monacolin-Gehaltes in Form von „Monacolin-Äquivalenten“ sinnvoll.

Sowohl die orange-roten **Pigmente** Rubropunctatin und Monascorubrin als auch die gelben Pigmente Monascin und Ankaflavin wiesen im unteren mikromolaren Bereich teratogene Wirkungen in Hühnerembryonen auf. Angaben zu einer möglichen teratogenen Wirkung in Warmblütern liegen nicht vor. Der Gehalt an Pigmenten in Rotschimmelreis liegt bei etwa 0.3% im Trockenprodukt, schwankt aber in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen. Bei typischer Dosierung lässt sich eine Aufnahme von etwa 7 mg Pigmenten/Tag annehmen, entsprechend 120 µg Pigmente/kg Körpergewicht.

5 Schlussbewertung

Rotschimmelreis enthält als pharmakologisch und toxikologisch besonders relevante Inhaltsstoffe Monacolin K (Lovastatin) und andere Monacoline sowie Citrinin, daneben eine Vielzahl weiterer Inhaltsstoffe, deren Wirkungen nur unzureichend bekannt sind. Monacoline sind potente Arzneistoffe zur Cholesterinsenkung, die nur unter ärztlicher Aufsicht gegeben werden dürfen. Gegen eine Verwendung als Nahrungsergänzungsmittel spricht die nachgewiesene pharmakologische Wirkung der einzelnen Rotschimmelreis-Inhaltsstoffe sowie die Tatsache, dass für eine sichere Verwendung ausreichende Informationen unter Einschluss von Verwendungseinschränkungen, Interaktionen und Begleit-/Nebenwirkungen erforderlich sind.

Insgesamt ist die Datenlage zur Sicherheit von Rotschimmelreis und seinen Inhaltsstoffen ungenügend. Darüber hinaus fehlen Standards bzw. Spezifikationen zur Sicherung von Reinheit und Identität der Präparate sowie Angaben zur Abwesenheit von toxischen Inhaltsstoffen. Außerdem wäre bei Verzehr von Zubereitungen mit Rotschimmelreis eine Erfassung und Bewertung von unerwünschten Wirkungen wünschenswert, vergleichbar einem Vigilanzsystem bei Arzneimitteln. Die Senatskommission bewertet aus den genannten Gründen Rotschimmelreis als derzeit nicht sicheres Lebensmittel/Nahrungsergänzungsmittel.

Referenzen

- [1] Ma, J., Li, Y., Ye, Q., Li, J., Hua, Y., Ju, D., Zhang, D., Cooper, R., Chang, M., Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *Journal of agricultural and food chemistry* 2000, *48*, 5220-5225.
- [2] Modern Food Additive Standards of the Chinese Ministry of Public Health, Chinese Ministry of Public Health, National Standard GB 27078-27063-8. 1982.
- [3] Sweeny, J. G., Estrada-Valdes, M.C., Iacobucci, G.A., Sato, H., Sakamura, S. , Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxynaphthalene. *Journal of agricultural and food chemistry* 1981, *29*, 1189-1193.
- [4] Kübler, K., Andzinski, L., Pätzold, R. , Bestimmung von *Monascus*-Pigmenten in fermentiertem Reismehl. *Lebensmittelchemie* 2010, *64*, 165.
- [5] *Verwaltungsgerichtshof Baden-Württemberg nach § 2 Abs. 1 LMBG* 1995.
- [6] Wild, D., Rotschimmelreis: Inhaltstoffe und Anwendung in Fleischerzeugnissen. *BAFF Mitteilungsblatt* 2000, *148*, 701-706.
- [7] Wigger-Alberti, W., Bauer, A., Hipler, U. C., Elsner, P., Anaphylaxis due to *Monascus purpureus*-fermented rice (red yeast rice). *Allergy* 1999, *54*, 1330-1331.
- [8] Hipler, U. C., Wigger-Alberti, W., Bauer, A., Elsner, P., Case report. *Monascus purpureus*-a new fungus of allergologic relevance. *Mycoses* 2002, *45*, 58-60.
- [9] Vandenplas, O., Caroyer, J. M., Cangh, F. B., Delwiche, J. P., Symoens, F., Nolard, N., Occupational asthma caused by a natural food colorant derived from *Monascus ruber*. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2000, *105*, 1241-1242.
- [10] Heber, D., Dietary supplement or drug? The case for cholestin. *The American journal of clinical nutrition* 1999, *70*, 106-108.
- [11] SoRelle, R., Appeals Court says Food and Drug Administration can regulate Cholestin. *Circulation* 2000, *102*, E9012-9013.
- [12] BfArM, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM warnt vor Red Rice-Produkten. *Pressemitteilung 17/2002* 2002.
- [13] EFSA, Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to monacolin K from red yeast rice and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1648, 1700) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/20061; EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. *EFSA Journal* 2011, *9*, 2304.
- [14] Heber, D., Yip, I., Ashley, J. M., Elashoff, D. A., Elashoff, R. M., Go, V. L., Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *The American journal of clinical nutrition* 1999, *69*, 231-236.
- [15] Lin, C. C., Li, T. C., Lai, M. M., Efficacy and safety of *Monascus purpureus* Went rice in subjects with hyperlipidemia. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 2005, *153*, 679-686.
- [16] Li, J. J., Lu, Z. L., Kou, W. R., Chen, Z., Wu, Y. F., Yu, X. H., Zhao, Y. C., Beneficial impact of Xuezhikang on cardiovascular events and mortality in elderly hypertensive patients with previous myocardial infarction from the China Coronary Secondary Prevention Study (CCSPS). *Journal of clinical pharmacology* 2009, *49*, 947-956.
- [17] Bogsrud, M. P., Ose, L., Langslet, G., Ottestad, I., Strom, E. C., Hagve, T. A., Retterstol, K., HypoCol (red yeast rice) lowers plasma cholesterol - a randomized placebo controlled study. *Scandinavian cardiovascular journal : SCJ* 2010, *44*, 197-200.
- [18] Halbert, S. C., French, B., Gordon, R. Y., Farrar, J. T., Schmitz, K., Morris, P. B., Thompson, P. D., Rader, D. J., Becker, D. J., Tolerability of red yeast rice (2,400 mg twice daily) versus pravastatin (20 mg twice daily) in patients with previous statin intolerance. *The American journal of cardiology* 2010, *105*, 198-204.
- [19] Jůzlová, P., Martínková, L., Kren, V., Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: a review. *J Industrial Microbiol* 1996, *16*, 163-170.
- [20] Hawksworth, D. L., Pitt, J. I., A New Taxonomy for *Monascus* Species based on Cultural and Microscopical Characters. *Austr J Bot* 1983, *31*, 51-61.

- [21] Bridge, P., Hawksworth, D.L. , Biochemical Tests as an Aid to the Identification of *Monascus* Species. *Letters in Applied Microbiology* 1985, 1, 25-29.
- [22] Wissenschaftliche Information für Ärzte und Apotheker, *Monascus purpureus* fermentierter Reis. *Monascus Science and Technology Development Company of Chengdu , Vertretung Europa, Bratislava* 2002.
- [23] Li, F., Xu, G., Li, Y., Chen, Y. , Study on the production of citrinin by *Monascus* strains used in food industry. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003, 32, 602-605.
- [24] Blanc, P. J., Loret, M.O., Santerre, A.L., Pareilleux, A., Prome, D., Prome, J.C., Laussac, J.P., Goma, G. , Pigments of *Monascus* *J Food Sci* 1994, 59, 862-865.
- [25] Hadfield, J. R., Holker, J.S.E., Stanway, D.N., The Biosynthesis of Fungal Metabolites. Part II. The b-Oxolactone Equivalents in Rubropunctatin and Monascorubramin. *J Chem Soc* 1967, 751-755.
- [26] Haws, E. J., Holker, J.S.E., Kelly, A., Powell, A.D.G., Robertson, A. , The Chemistry of Fungi. Part 37. The Structure of Rubropunctatin. . *J Chem Soc* 1959, 70, 3598-3610.
- [27] Kumasaki, S., Nakanishi, K., Nishikawa, E., Ohashi, M. , Structure of Monascorubrin. *Tetrahedron* 1962, 18, 1195-1203.
- [28] Inouye, Y., Nakanishi, K., Nishikawa, H., Ohashi, M., Terahara, A., Yamamura, S., Structure of Monascoflavin. *Tetrahedron* 1962, 18, 1195-1203.
- [29] Manchand, P. S., Whally, W.B., Chen, F.C. , Isolation and Structure of Ankaflavin; a New Pigment from *Monascus anka*. *Phytochemistry* 1973, 12, 2531-2532.
- [30] Johns, M. R., Stuart, D. M. , Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. *J Industr Microbiol* 1991, 8, 23-28.
- [31] Hajjaj, H., Kläebe, A., Goma, G., Blanc, P. J., Barbier, E., Francois, J., Medium-chain fatty acids affect citrinin production in the filamentous fungus *Monascus ruber*. *Applied and environmental microbiology* 2000, 66, 1120-1125.
- [32] Martinková, L., Patáková-Júzlová, Kren, V., Kucerová, Z., Havlíček, V., Olšovský, P., Hovorka, O., Řihová, B., Veselý, D., Veselá, D., Ulrichová, J., Prikrylová, V. , Biological activities of oligoketide pigments of *Monacus purpureus*. *Food Additives Contaminants* 1999, 16, 15-24.
- [33] Su, N. W., Lin, Y. L., Lee, M. H., Ho, C. Y., Ankaflavin from *Monascus*-fermented red rice exhibits selective cytotoxic effect and induces cell death on Hep G2 cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 2005, 53, 1949-1954.
- [34] Sato, K., Goda, Y., Sakamoto, S.S., Shibata, H., Maitani, T., Yamada, T., Identification of major pigments containing D-amino acid units in commercial *Monascus* pigments. *Chem Pharm Bull* 1997, 45, 227-229.
- [35] Li, Y. G., Zhang, F., Wang, Z. T., Hu, Z. B., Identification and chemical profiling of monacolins in red yeast rice using high-performance liquid chromatography with photodiode array detector and mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 2004, 35, 1101-1112.
- [36] Alberts, A. W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., Rothrock, J., Lopez, M., *et al.*, Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1980, 77, 3957-3961.
- [37] Brown, M. S., Faust, J. R., Goldstein, J. L., Kaneko, I., Endo, A., Induction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML-236B), a competitive inhibitor of the reductase. *The Journal of biological chemistry* 1978, 253, 1121-1128.
- [38] Endo, A., Chemistry, biochemistry, and pharmacology of HMG-CoA reductase inhibitors. *Klinische Wochenschrift* 1988, 66, 421-427.
- [39] Duggan, D. E., Chen, I. W., Bayne, W. F., Halpin, R. A., Duncan, C. A., Schwartz, M. S., Stubbs, R. J., Vickers, S., The physiological disposition of lovastatin. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 1989, 17, 166-173.
- [40] Jacobsen, W., Kirchner, G., Hallensleben, K., Mancinelli, L., Deters, M., Hackbarth, I., Benet, L. Z., Sewing, K. F., Christians, U., Comparison of cytochrome P-450-dependent metabolism and drug interactions of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors

lovastatin and pravastatin in the liver. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 1999, 27, 173-179.

[41] Wang, R. W., Kari, P. H., Lu, A. Y., Thomas, P. E., Guengerich, F. P., Vyas, K. P., Biotransformation of lovastatin. IV. Identification of cytochrome P450 3A proteins as the major enzymes responsible for the oxidative metabolism of lovastatin in rat and human liver microsomes. *Archives of biochemistry and biophysics* 1991, 290, 355-361.

[42] Lamson, M., Phillips, G., Shen, J., Lukacsko, P., Friedhoff, L., Niecestro, R. M., Pharmacokinetics of lovastatin extended-release dosage form (Lovastatin XL) in healthy volunteers. *Biopharmaceutics & drug disposition* 2002, 23, 143-149.

[43] Kornbrust, D. J., MacDonald, J. S., Peter, C. P., Duchai, D. M., Stubbs, R. J., Germershausen, J. I., Alberts, A. W., Toxicity of the HMG-coenzyme A reductase inhibitor, lovastatin, to rabbits. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1989, 248, 498-505.

[44] Corpier, C. L., Jones, P. H., Suki, W. N., Lederer, E. D., Quinones, M. A., Schmidt, S. W., Young, J. B., Rhabdomyolysis and renal injury with lovastatin use. Report of two cases in cardiac transplant recipients. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1988, 260, 239-241.

[45] Lees, R. S., Lees, A. M., Rhabdomyolysis from the coadministration of lovastatin and the antifungal agent itraconazole. *The New England journal of medicine* 1995, 333, 664-665.

[46] Kantola, T., Kivisto, K. T., Neuvonen, P. J., Grapefruit juice greatly increases serum concentrations of lovastatin and lovastatin acid. *Clinical pharmacology and therapeutics* 1998, 63, 397-402.

[47] Neuvonen, P. J., Jalava, K. M., Itraconazole drastically increases plasma concentrations of lovastatin and lovastatin acid. *Clinical pharmacology and therapeutics* 1996, 60, 54-61.

[48] Omar, M. A., Wilson, J. P., FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *The Annals of pharmacotherapy* 2002, 36, 288-295.

[49] Gordon, R. Y., Cooperman, T., Obermeyer, W., Becker, D. J., Marked variability of monacolin levels in commercial red yeast rice products: buyer beware! *Archives of internal medicine* 2010, 170, 1722-1727.

[50] Lachenmeier, D. W., Monakhova, Y. B., Kuballa, T., Lobell-Behrends, S., Maixner, S., Kohl-Himmelseher, M., Waldner, A., Steffen, C., NMR evaluation of total statin content and HMG-CoA reductase inhibition in red yeast rice (*Monascus* spp.) food supplements. *Chinese medicine* 2012, 7, 8.

[51] Heber, D., Lembertas, A., Lu, Q. Y., Bowerman, S., Go, V. L., An analysis of nine proprietary Chinese red yeast rice dietary supplements: implications of variability in chemical profile and contents. *J Altern Complement Med* 2001, 7, 133-139.

[52] Chairote, E. O., Lumyong, S., Chairote, G., Study on cholesterol lowering compounds in red yeast rice prepared from thai glutinous rice. *International Conference on the Role of Universities in Hands-On Education, Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang-Mai, Thailand 23-29 August 2009* 2009, 196-208.

[53] Rasheva, T. V., Nedeva, T. S., Hallet, J. N., Kujumdzieva, A. V., Characterization of a non-pigment producing *Monascus purpureus* mutant strain. *Antonie van Leeuwenhoek* 2003, 83, 333-340.

[54] Blanc, P. J., Laussac, J. P., Le Bars, J., Le Bars, P., Loret, M. O., Pareilleux, A., Prome, D., Prome, J. C., Santerre, A. L., Goma, G., Characterization of monascidin A from *Monascus* as citrinin. *International journal of food microbiology* 1995, 27, 201-213.

[55] Sabater-Vilar, M., Maas, R. F., Fink-Gremmels, J., Mutagenicity of commercial *Monascus* fermentation products and the role of citrinin contamination. *Mutation research* 1999, 444, 7-16.

[56] Dietrich, R., Usleber, E., Märtlbauer, E., Gareis, M., Nachweis des nephrotoxischen Mykotoxins Citrinin in Lebensmitteln und mit *Monascus* spp hergestellten Lebensmittelfarbstoffen. *Arch Lebensmittelhygiene* 1999, 50, 17-21.

[57] EFSA, Scientific Opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. *EFSA Journal* 2012, 10, 2605.

- [58] Lee, C. H., Lee, C. L., Pan, T. M., A 90-d toxicity study of monascus-fermented products including high citrinin level. *J Food Sci* 2010, 75, T91-97.
- [59] Arai, M., Hibino, T., Tumorigenicity of citrinin in male F344 rats. *Cancer letters* 1983, 17, 281-287.
- [60] Shinohara, Y., Arai, M., Hirao, K., Sugihara, S., Nakanishi, K., Combination effect of citrinin and other chemicals on rat kidney tumorigenesis. *Gann = Gan* 1976, 67, 147-155.
- [61] IARC, Citrinin. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum* 1986, 40, 67-82.
- [62] Vrabcheva, T., Usleber, E., Dietrich, R., Martlbauer, E., Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy. *Journal of agricultural and food chemistry* 2000, 48, 2483-2488.
- [63] Pfohl-Leszkwicz, A., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. N., Castegnaro, M., Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food additives and contaminants* 2002, 19, 282-302.
- [64] SKLM, *Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln, Gerhard Eisenbrand (Vorsitzender). Toxikologische Bewertung von Rotschimmelreis, Lebensmittel und Gesundheit II, Sammlung der Beschlüsse und Stellungnahmen/Opinions (1997-2004)*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weinheim 2005.
- [65] Knasmüller, S., Cavin, C., Chakraborty, A., Darroudi, F., Majer, B. J., Huber, W. W., Ehrlich, V. A., Structurally related mycotoxins ochratoxin A, ochratoxin B, and citrinin differ in their genotoxic activities and in their mode of action in human-derived liver (HepG2) cells: implications for risk assessment. *Nutrition and cancer* 2004, 50, 190-197.
- [66] Liu, B. H., Yu, F. Y., Wu, T. S., Li, S. Y., Su, M. C., Wang, M. C., Shih, S. M., Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin. *Toxicology and applied pharmacology* 2003, 191, 255-263.
- [67] Pfeiffer, E., Gross, K., Metzler, M., Aneuploidogenic and clastogenic potential of the mycotoxins citrinin and patulin. *Carcinogenesis* 1998, 19, 1313-1318.
- [68] Donmez-Altuntas, H., Dumlupinar, G., Imamoglu, N., Hamurcu, Z., Liman, B. C., Effects of the mycotoxin citrinin on micronucleus formation in a cytokinesis-block genotoxicity assay in cultured human lymphocytes. *Journal of applied toxicology : JAT* 2007, 27, 337-341.
- [69] Chang, C. H., Yu, F. Y., Wu, T. S., Wang, L. T., Liu, B. H., Mycotoxin citrinin induced cell cycle G2/M arrest and numerical chromosomal aberration associated with disruption of microtubule formation in human cells. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 2011, 119, 84-92.
- [70] Jeswal, P., Citrinin-induced chromosomal abnormalities in the bone marrow cells of *Mus musculus*. *Cytobios* 1996, 86, 29-33.
- [71] Chan, W. H., Shiao, N. H., Effect of citrinin on mouse embryonic development in vitro and in vivo. *Reprod Toxicol* 2007, 24, 120-125.
- [72] Chan, W. H., Citrinin induces apoptosis via a mitochondria-dependent pathway and inhibition of survival signals in embryonic stem cells, and causes developmental injury in blastocysts. *The Biochemical journal* 2007, 404, 317-326.
- [73] Reddy, R. V., Mayura, K., Hayes, A. W., Berndt, W. O., Embryocidal, teratogenic and fetotoxic effects of citrinin in rats. *Toxicology* 1982, 25, 151-160.
- [74] Singh, N. D., Sharma, A. K., Dwivedi, P., Patil, R. D., Kumar, M., Citrinin and endosulfan induced maternal toxicity in pregnant Wistar rats: pathomorphological study. *Journal of applied toxicology : JAT* 2007, 27, 589-601.
- [75] Singh, N. D., Sharma, A. K., Dwivedi, P., Patil, R. D., Kumar, M., Citrinin and endosulfan induced teratogenic effects in Wistar rats. *Journal of applied toxicology : JAT* 2007, 27, 143-151.
- [76] Singh, N. D., Sharma, A. K., Dwivedi, P., Patil, R. D., Kumar, M., Experimentally induced citrinin and endosulfan toxicity in pregnant Wistar rats: histopathological alterations in liver and kidneys of fetuses. *Journal of applied toxicology : JAT* 2008, 28, 901-907.
- [77] Ciegler, A., Vesonder, R. F., Jackson, L. K., Production and biological activity of patulin and citrinin from *Penicillium expansum*. *Applied and environmental microbiology* 1977, 33, 1004-1006.

- [78] Vesela, D., Vesely, D., Jelinek, R., Toxic effects of ochratoxin A and citrinin, alone and in combination, on chicken embryos. *Applied and environmental microbiology* 1983, *45*, 91-93.
- [79] Hossain, C. F., Okuyama, E., Yamazaki, M., A new series of coumarin derivatives having monoamine oxidase inhibitory activity from *Monascus anka*. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 1996, *44*, 1535-1539.
- [80] Wild, D., Toth, G., Humpf, H. U., New monascus metabolite isolated from red yeast rice (angkak, red koji). *Journal of agricultural and food chemistry* 2002, *50*, 3999-4002.
- [81] Wild, D., Toth, G., Humpf, H. U., New monascus metabolites with a pyridine structure in red fermented rice. *Journal of agricultural and food chemistry* 2003, *51*, 5493-5496.
- [82] Knecht, A., Cramer, B., Humpf, H. U., New *Monascus* metabolites: structure elucidation and toxicological properties studied with immortalized human kidney epithelial cells. *Molecular nutrition & food research* 2006, *50*, 314-321.
- [83] Knecht, A., Humpf, H. U., Cytotoxic and antimitotic effects of N-containing *Monascus* metabolites studied using immortalized human kidney epithelial cells. *Molecular nutrition & food research* 2006, *50*, 406-412.
- [84] Ferse, I., Langlitz, M., Kleigrewe, K., Rzeppa, S., Lenczyk, M., Harrer, H., Cramer, B., Humpf, H. U., Isolation and structure elucidation of two new cytotoxic metabolites from red yeast rice. *Natural product research* 2012, *26*, 1914-1921.
- [85] Su, Y.-C., Wang, J.-J., Lin, T.-T., Pan, T.-M., Production of the secondary metabolites gamma-aminobutyric acid and monacolin K by *Monascus*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2003, *30*, 41-46
- [86] Ueno, Y., Hayakawa, K., Takahashi, S., Oda, K., Purification and characterization of glutamate decarboxylase from *Lactobacillus brevis* IFO 12005. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 1997, *61*, 1168-1171.
- [87] Kohama, Y., Matsumoto, S., Mimura, T., Tanabe, N., Inada, A., Nakanishi, T., Isolation and identification of hypotensive principles in red-mold rice. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 1987, *35*, 2484-2489.
- [88] Nozaki, H., Date, S., Kondo, H., Kiyohara, H., Takaoka, D., Tada, T., Nakayama, M., Ankalactone, a new a, b-unsaturated g-lactone from *Monascus anka*. *Agric Biol Chem* 1991, *55*, 899-900.
- [89] Shang, X., Wang, R., Yin, S., Li, J., Jin, Z., [Steroids from *Monascus purpureus* metabolite]. *Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica* 2009, *34*, 1809-1811.
- [90] Hsu, Y. W., Hsu, L. C., Chang, C. L., Liang, Y. H., Kuo, Y. H., Pan, T. M., New anti-inflammatory and anti-proliferative constituents from fermented red mold rice *Monascus purpureus* NTU 568. *Molecules* 2010, *15*, 7815-7824.
- [91] Cheng, M. J., Chen, J. J., Wu, M. D., Yang, P. S., Yuan, G. F., Isolation and structure determination of one new metabolite isolated from the red fermented rice of *Monascus purpureus*. *Natural product research* 2010, *24*, 979-988.
- [92] Wu, M. D., Cheng, M. J., Yuan, G. F., Yech, Y. J., Chen, I. S., A New Pyrrole Derivative From the Extracts of the Fungus *Monascus Pilosus*-Fermented Rice. *Acta Chimica Slovenica* 2010, *57*, 305-309.
- [93] Wu, M. D., Cheng, M. J., Yech, Y. J., Chen, Y. L., Chen, K. P., Chen, I. S., Yang, P. H., Yuan, G. F., Monasnicotinate A-D, four new pyridine alkaloids from the fungal strain *Monascus pilosus* BCRC 38093. *Molecules* 2011, *16*, 4719-4727.
- [94] Shang, X. Y., Li, J. J., Liu, M. T., Li, S., Liu, Y., Wang, Y. F., Huang, X., Jin, Z. L., Cytotoxic steroids from *Monascus purpureus*-fermented rice. *Steroids* 2011, *76*, 1185-1189.
- [95] Fung, W. T., Subramaniam, G., Lee, J., Loh, H. M., Leung, P. H., Assessment of Extracts from Red Yeast Rice for Herb-Drug Interaction by in-vitro and in-vivo assays. *Scientific reports* 2012, *2*, 298.
- [96] Tsuji, K., Ichikawa, T., Tanabe, N., Obata, H., Abe, S., Tarui, S., Nakagawa, Y., Extraction of hypotensive substances from sheat beni-koji. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 1992, *39*, 913-918.
- [97] Lu, Z., Kou, W., Du, B., Wu, Y., Zhao, S., Brusco, O. A., Morgan, J. M., Capuzzi, D. M., Li, S., Effect of Xuezhikang, an extract from red yeast Chinese rice, on coronary events in a

- Chinese population with previous myocardial infarction. *The American journal of cardiology* 2008, *101*, 1689-1693.
- [98] Becker, D. J., Gordon, R. Y., Halbert, S. C., French, B., Morris, P. B., Rader, D. J., Red yeast rice for dyslipidemia in statin-intolerant patients: a randomized trial. *Annals of internal medicine* 2009, *150*, 830-839, W147-839.
- [99] Neuvonen, P. J., Niemi, M., Backman, J. T., Drug interactions with lipid-lowering drugs: mechanisms and clinical relevance. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2006, *80*, 565-581.
- [100] Klotz, U., Pharmacological comparison of the statins. *Arzneimittel-Forschung* 2003, *53*, 605-611.
- [101] Alsheikh-Ali, A. A., Karas, R. H., Adverse events with concomitant amiodarone and statin therapy. *Preventive cardiology* 2005, *8*, 95-97.
- [102] Hare, C. B., Vu, M. P., Grunfeld, C., Lampiris, H. W., Simvastatin-nelfinavir interaction implicated in rhabdomyolysis and death. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2002, *35*, e111-112.
- [103] Skrabal, M. Z., Stading, J. A., Monaghan, M. S., Rhabdomyolysis associated with simvastatin-nefazodone therapy. *Southern medical journal* 2003, *96*, 1034-1035.
- [104] Prasad, G. V., Wong, T., Meliton, G., Bhaloo, S., Rhabdomyolysis due to red yeast rice (*Monascus purpureus*) in a renal transplant recipient. *Transplantation* 2002, *74*, 1200-1201.
- [105] Smith, D. J., Olive, K. E., Chinese red rice-induced myopathy. *Southern medical journal* 2003, *96*, 1265-1267.
- [106] Mueller, P. S., Symptomatic myopathy due to red yeast rice. *Annals of internal medicine* 2006, *145*, 474-475.
- [107] Lapi, F., Gallo, E., Bernasconi, S., Vietri, M., Menniti-Ippolito, F., Raschetti, R., Gori, L., Firenzuoli, F., Mugelli, A., Vannacci, A., Myopathies associated with red yeast rice and liquorice: spontaneous reports from the Italian Surveillance System of Natural Health Products. *British journal of clinical pharmacology* 2008, *66*, 572-574.
- [108] Polsani, V. R., Jones, P. H., Ballantyne, C. M., Nambi, V., A case report of myopathy from consumption of red yeast rice. *Journal of clinical lipidology* 2008, *2*, 60-62.