

Teainin

Theanine

Birgöl VANİZOR KURAL¹, Huriye PATAN²

ÖZ

L-teainin başlıca yeşil, siyah, beyaz ve oolong çayın üretildiği *Camellia sinensis* yapraklarında bulunan ve çayın umami tadına katkı sağlayan özel bir amino asittir. Rahatlama, konsantrasyon ve öğrenme kabiliyetini geliştirme, nörolojik koruma, kafeinin olumsuz etkilerini azaltma, kan basıncını düşürme, vasküler hastalıkları önleme, antiobezite, antitümör ve antioksidan gibi pek çok farmakolojik ve biyoaktif etkileri olduğu belirtilmektedir.

Biyolojik aktivitesini nitrik oksit üretimini ve glutatyon (GSH) sentezini artırarak ve inflamatuvar cevabı baskılayarak gösterdiği ifade edilmektedir. Teainin metabolizması ile ilgili kesin kanıta dayalı sonuç bulunmamakla birlikte etilamin ve glutamik aside metabolize edildiği ve idrarla atıldığı ileri sürülmektedir.

Bu derlemenin amacı, ülkemizde oldukça fazla oranda tüketilen yeşil ve siyah çayda olan bulunan L-teaininin kimyasal ve fiziksel özelliklerini açıklayarak sağlık üzerine etkileri hakkında özet bilgi vermektir.

Anahtar Kelimeler: Amino asit, *Camellia sinensis*, Çay, Teainin.

ABSTRACT

L-theanine is especial amino acid, found mainly in *Camellia cinensis* leaves which green, black, white and oolong tea are produced, and that contributes to the umami taste of tea. It is stated that there are many pharmacological and bioactive effects such as relaxing, improving of the attentiveness and learning ability, neurological protection, supressing of negative effects of caffeine, reducing of blood pressure, preventing of vascular diseases, antiobesity, antitumor and antioxidant.

It is expressed that its biological activity is induced by induction of nitric oxide production and glutathion (GSH) synthesis, and suppression of inflammatory response. It has also been suggested that despite there is no definite evidence-based conclusion about the metabolism of the theanine, it is metabolized into ethylamine and glutamic acid and excreted by the urine.

The aim of this review is to express the chemical and physical properties of L-theanine found in green and black tea consumed highly in our country, and to give a brief information about the effects of it on health.

Keywords: Amino acid, *Camellia cinensis*, Tea, Theanine.

¹Prof. Dr., Tıbbi Biyokimya ABD., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi. bvanizorkural@ktu.edu.tr, ORCID: 0000-0003-0730-9660

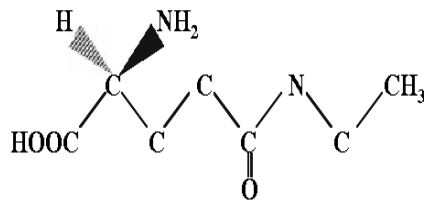
²Yüksek Lisans Öğrencisi, Tıbbi Biyokimya ABD, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. patanhuriye@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3608-8625

GİRİŞ

L-teanin ilk kez 1949 yılında Sakato tarafından yeşil çay yapraklarından izole edilmiş protein yapısına dahil olmayan bir amino asit olup 1964 yılı itibarıyla de besin takviyesi olarak kullanılmaya başlanmıştır.¹ En fazla *Camellia sinensis* olmak üzere *Camellia japonica*, *Camellia sasanqua* gibi çayların yapraklarında ve *Xerocomus badius* adı verilen bir mantar türünde bulunmaktadır.^{2, 3} L-teanin *Camellia sinensis* türü çay yapraklarının toplam kuru ağırlığının % 1-2'sini, toplam serbest amino asitlerin ise yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır.^{4, 5} Baros ve ark. (2017) teanin miktarlarını beyaz, yeşil, oolong ve siyah çayda sırasıyla 6,26, 6,56, 6,09 ve 5,13 mg/g olarak bulunduğunu belirtmişlerdir.⁶ Keenan ve ark. (2011) demleme süresinin artışı ile teanin miktarının arttığını ve bir kupa (200 mL) çayda yaklaşık 25 mg teanin bulunduğunu belirtmişlerdir.⁷ Çaydaki teanin miktarı güneş ışığından etkilenmektedir; az güneş olan iklimlerde teanin konsantrasyonları daha yüksektir.²

Teaninin kimyasal formülü $C_7H_{14}N_2O_3$, molekül ağırlığı ise 174,2 g/mol'dür. Doğadaki diğer amino asitlerde olduğu gibi, teanin kiral özelliğe sahiptir; L ve D olmak üzere iki enantiomeri vardır. D-teanin ise toplam teaninin %1,85'i kadardır.^{8, 9} Mikroskopik incelemelerde L-teaninin renksiz kristal yapıda olup, iğne şeklinde bir görünüme sahip olduğu bildirilmiştir.^{8, 10}

Sulu ortamlarda yüksek çözünürlüğe sahipken etanol, metanol, kloroform gibi çözücülerde çözünmemektedir.¹¹ Asidik ortamlarda kararlıdır; ancak baz hidrolizi sırasında etilamine ve glutamik aside dönüşümü gerçekleşir.¹⁰



Şekil 1. L-Teaninin Kimyasal Yapısı.¹²

L-teanin γ -etilamino-L-glutamik asit, γ -glutamiletamid, 2-amino-4 bütirik asit olarak da adlandırılmaktadır.¹³

Teanin nörotransmitter olan glutamat ve γ -aminobütirik asit ile yapısal olarak benzerlik göstermektedir. Glutamatın karboksilik ucunun başka bir amin grubu ile ve ardından etil grubu ile modifiye edilmesi sonucu L-teanin oluşmaktadır.¹⁴

Teanin, çayın umami tadı ve kalitesine önemli katkı sağlar.¹⁵ Tat reseptörü T1R1 aile 1 (T1R1) ve aile 3 (T1R3) umami tat reseptörleri üzerinde teaninin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, teaninin T1R1+T1R3 reseptör hücreleri üzerinde etkili olduğu ve onların ekspresyonunu aktive ettiği gözlenmiştir.¹⁶

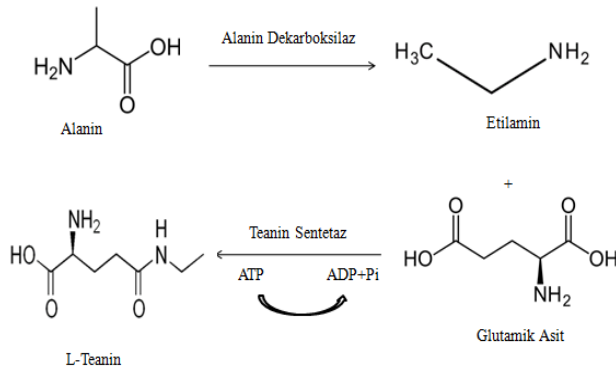
Teanin Sentezi

L-teanin çay yapraklarından ekstraksiyon, kimyasal sentez ya da endüstriyel sentez şeklinde elde edilebilir.

Çay Bitkisinde Sentezi

Çay fidesinde, kotiledonlar, sürgünler ve köklerde teanin bulunmaktadır. Olgun çay bitkisinde ise özellikle köklerde L-teanin sentezi olur.¹⁷ Çünkü teanin sentetaz (TS1 ve TS2) gen transkripsiyonları bitkinin diğer kısımlarıyla kıyaslandığında kotiledonlarda daha azdır.¹⁸

Çay bitkilerinde, L-teanin, L-teanin sentetaz enzimi vasıtasıyla L-glutamik asit ve etilaminden sentezlenir. Etilamin ise L-alaninden L-alanin dekarboksilaz enzimi vasıtasıyla oluşur (Şekil 2).¹⁸ Teanin sentezlendikten sonra ksilem yoluyla sürgünlere yerleşir; orada ya konsantre olur ya da teanin hidrolaz ile glutamik asit ve etilamine ayrılır.¹⁹ Ayrıca magnezyumun varlığı, teanin sentezinde önemli bir rol oynamaktadır.²⁰



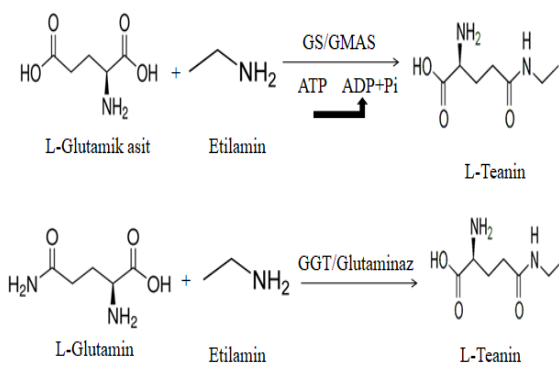
Şekil 2. Çay Bitkisinde Teanin Sentezi.²¹

Kimyasal Sentezi

L-teaninin ilk kimyasal sentezi 1942'de Lichenstein tarafından yapılan piroidon-5-karboksilik asidin sulu bir etilamin çözeltisi ile 37°C'de muamele edilmesi sonucu gerçekleşmiştir.²² Kimyasal sentez, çeşitli sentetik yöntemlerle çok yüksek verimde teanin üretmek için basit ve uygun olsa da sınırlamaları vardır. Bu sınırlama sentetik ürünün L ve D enantiomeri karışımı olması ve doğal olmayan bileşik olarak kabul edilebilir olmasından kaynaklanır.²³

Endüstriyel Sentezi

L-teaninin endüstriyel olarak biyolojik üretimi için çeşitli bakteriyel enzimler kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan enzimler ise γ -glutamiletilamid sentetaz (GMAS), L-glutamin sentetaz (GS), γ -glutamil transpeptidaz (GGT) ve L-glutaminazdır (Şekil 3).¹⁹



Şekil 3. Teaninin Endüstriyel Sentezi.¹⁹

P.taetrolens Y-30'dan L-teanin oluşturan GS'yi kodlayan genler dizilenirse glutamik asit ve etilaminden üretimi gerçekleştirilebilir. *Methylovorus mays*'dan GMAS ve *Bacillus*

subtilis'den GS'nin karakterize edilmesi yoluyla da teanin sentezi olabilir.^{24, 25} Ayrıca *P.nitroductens* bakterisi ve *B.amyloliquefaciens* türlerinden elde edilen glutaminaz enzimi sayesinde etilamin ve L-glutaminden sunteanın adı verilen sentetik teanin üretilmektedir.²⁶

L-Teaninin Emilimi ve Atılımı

İnsanlarda L-teaninin farmakokinetiği hakkında yapılan sınırlı çalışma mevcuttur. Teaninin oral yolla alındığında Na⁺ beraberinde veya aktif transportu ile, ve metiyonin taşıyıcı sistemleri ile ince bağırsaktan emildiği ileri sürülmektedir.²⁶

Ratlarda da oral alımdan sonra emilimin maksimuma ulaştığı süre 0,5-2 saat arasında olduğu tespit edilmiştir.²⁷

Terashima ve ark. (1998) teanin alındıktan 24 saat sonra ratların çeşitli doku serum örneklerinde zamana bağlı değişimlerini incelemişlerdir. Oral yolla alınımından 1 saat sonra serum, beyin, karaciğer dokularında teanin konsantrasyonunda artış olduğu, beyinde 5 saat sonra maksimuma ulaştığı ve sonra gittikçe azaldığı, 24 saat sonra ise tüm dokulardan tamamen kaybolduğunu gözlemlemişlerdir.²⁸

Scheid ve ark. (2012), insanda bağırsak yolu ile alındığında teaninin 10-24 dakika içinde sistemik dolaşıma geçtiğini ve beyin dahil birçok dokuya nakledildiğini ileri sürmektedirler. Ayrıca yaptıkları başka bir çalışmada da sağlıklı katılımcılara 100 mg teanin kapsül veya 250 mL yeşil çay verildiğinde plazma, eritrosit ve idrarda benzer sonuçlar gözlemlendiğini, maksimum plazma konsantrasyonunun 0,8 saat sonra ortaya çıktığı gözlenmiştir.²⁹

L-teaninin atılımına bakıldığında, kan plazmasındaki ilgili konsantrasyonları arttırdığı için etilamin ve glutamik aside metabolize edildiği, bu mekanizmada ise böbrekte bulunan fosfat bağımsız glutaminaz enziminin rol oynadığı ifade edilmiştir.^{30, 31}

L-Teaninin Sağlık Üzerine Etkileri

1964 yılında Japonya Sağlık Bakanlığı, L-teaninin evrensel tüketim için gıda katkı maddesi olarak kullanılmasını onaylamıştır. Amerika Birleşik Devletlerinde besin maddesi olarak satılmaktadır ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi L-teanini genel olarak güvenli ve toksik olmayan bileşik olarak adlandırmıştır.¹¹

Teaninin glutamin ve glutamat ile yapısal benzerliği olsa bile metabolik etkilerinin farklı olduğu görülmüştür. Yeşil çay ya da teanin içeren kapsüllerin alınmasından sonra kanda glutamat seviyelerinde artış görülmüştür.²⁶ Hipertansif ratlarda glutamin verilen grupta değişim olmadığı, teanin verilen grupta hipotansif etki görüldüğü ve bu yüzden teaninin glutaminden farklı etkileri olabileceği ifade edilmektedir.³²

L-teaninin antiinflamatuvar, antioksidan, antitümör, antiobezite, hipokolestolemik, hipotansif, nöroprotektif, antidepresif, rahatlatıcı, öğrenme kabiliyetini geliştirici, kafeinin olumsuz etkilerini azaltıcı, vasküler hastalıklara karşı koruyucu gibi pek çok biyoaktif etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Şekil 4).¹⁹



Şekil 4. L-Teaninin Sağlık Üzerine Etkileri. ¹³

L-teanin kan beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen maddelerden biridir ve bu yüzden de beyin fonksiyonlarında çeşitli düzenleyici rolleri olduğu söylenmektedir.²³ Sağlıklı

kişilerde beyinde α beyin dalgalarının etkinliğini arttırdığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada yaklaşık 50 mg teanin dozunun, α frekans bandının aktivitesini önemli ölçüde arttırdığı ve zihni rahatlattığı belirtilmektedir.³³ Glutamik asitle yapısal benzerliğinden dolayı beyinde L-glutamik asidin bağlandığı glutamat reseptörlerini engelleyerek kortikal nöron uyarılarını inhibe ettiği buna bağlı olarak da stres azaltıcı rol üstlendiği düşünülmektedir.¹⁹

Hayvan nörokimyası araştırmaları, L-teaninin beyinde serotonin, dopamin, GABA düzeylerini arttırdığını ve 2-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propionik asit, kainat ve N-metil D-aspartat reseptörleri için mikromolar düzeyde afinitelere sahip olduğunu ileri sürmektedir.³⁴ Teaninin beyin dokusunda poliklorlu bifeniller ile indüklenen nöropatolojik değişikliklere karşı koruyucu etkisinin olduğu, günlük 200 mg/kg teanin alımının ratlarda antioksidan aktiviteleri artırarak nöro davranışsal aktiviteleri ve hafıza fonksiyonunu geliştirdiği, nöronal kaybı engellediği belirtilmektedir.³⁵ Bunun dışında teaninin hipokampusda beyin türevli nörotrofik faktörü (BDNF) uyardığı, N-metil-D-aspartat reseptörüne yarışmalı bağlandığı, böylece antidepresan etki gösterebileceği belirtilmektedir.³⁶

L-teaninin kafeinle birlikte alınması halinde, hızlı görsel bilgi işleme, kelime tanıma, dikkat eksikliğini azaltma, bilişsel performansın gelişimi gibi etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir.³⁷ Teaninin uyku üzerine de etkili olduğu söylenmektedir. Klinik bir deneyde 6 haftalık 400 mg teanin alımının güvenli olduğu ve daha yüksek uyku yüzdesi sağladığı ortaya çıkmıştır.³⁸

L-teanin tüketiminin vasküler fonksiyonu iyileştirdiği ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı belirlenmiştir. Koruyucu etkinliği sayesinde teanin serum kolesterolü, arter vazodilatasyonu ve nitrik oksit üretimini azaltabildiği ileri sürülmüştür. L-teaninin serum kolesterol düzeylerini azaltarak koroner kalp hastalığı riskini azaltabileceği vurgulanmıştır.³⁹ Kan basıncı ile ilgili yapılan iki çalışmada 200 mg teanin ve 250 mg kafein verildiğinde; teaninin stresi ve kan basıncını

azalttığı, kafeinin etkilerini durdurduğu görülmüştür.⁴⁰

L-teaninin antioksidan etkisi olduğuyla ilgili yapılan çalışmalarda mevcuttur. Yeşil çay bileşenlerinden polifenol, kafein ve L-teaninin düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu üzerine etkileri araştırılmış ve L-teaninin polifenollerden daha az ama kafeinden daha fazla antioksidan etki gösterdiği ifade edilmiştir.⁴¹

Karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan farelere hasardan 7 gün öncesinden başlayarak günde bir kez oral yolla teanin verildiğinde, karaciğer hasarının göstergesi olan alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve bilirubin düzeylerinde ve hepatik lipid peroksidasyonunda azalma, antioksidan GSH seviyelerinde ve antioksidan enzim aktivitelerinde artış olduğu ifade edilmiştir.⁴²

L-teaninin farede lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit, trigliserid, ALT, AST'nin etanol ile indüklenen artışını hafiflettiği, hepatosit hücre apoptozunu engellediği belirtilmektedir.⁴³ Ayrıca, karaciğer hücrelerinde doku büyüme faktörü-beta (TGF-β), bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) kapasitesini azaltarak ve matriks metaloproteinaz 13 (MMP-13) enzimini aktive ederek antifibrotik özellikte olduğu vurgulanmaktadır.⁴⁴ Teanin antiinflamatuvar ve antinekrotik özelliklerini, oksidatif stres kaynaklı hücre ölümüne yol açan NFκB yolağını inaktive ederek, interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe ve antiinflamatuvar özellikteki IL-10 gibi sitokinlerin düzeyini arttırarak gerçekleştirdiği ifade edilmektedir.⁴⁴ Ayrıca mevalonat biyosentetik yollarında görev alan Ras-ilişkili protein ve hidrosimetil glutaril koenzim A redüktaz ekspresyonlarını arttırarak sitokinlerin salınımını düzenlediği belirtilmektedir. Mevalonat yolağı hücre büyüme, farklılaşma ve proliferasyonunda önemlidir. Teaninin bu yolla ilişkili olarak interferon-γ, interlökinler ve tümör nekrozu faktörü ekspresyonlarını inhibe ederek antiinflamatuvar etkinlik gösterebileceği de ileri sürülmüştür.⁴⁵

Teaninin de diğer bazı çay bileşenleri gibi antikanserojenik etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Bu etkileri değerlendirmek için tetrazolyum mikro kültürü ile yapılan bir çalışmada normal hücre ve insan kanser hücrelerini indüklenme yetenekleri araştırılmış ve meme, kolon, karaciğer ve prostat olmak üzere 4 kanser hücre hattında hücre ölümünün indüklendiği belirtilmiştir.⁴⁶

Teaninin kanser hücrelerinden antikanser ilaçların sızmasını inhibe ederek antitümör aktivite gösterdiği düşünülmektedir.¹¹ Tümör hücrelerinde glutamat taşınımını engelleyerek hücre içi GSH düzeylerini azalttığı, normal hücrelerde ise glutamat reseptörlerine bağlanma yolu ile antikanser ilaçların akışkanlığında artış meydana getirdiği bildirilmiştir.⁴⁷ Ayrıca teaninin farelerde M5076 yumurtalık kanser hücrelerinde adriamisin konsantrasyonunu arttırdığı, tümör gelişimini engellediği, M5076 hücrelerinin karaciğer metastazını engellediği ortaya koyulmuştur.⁴⁸

Teaninin yıkım ürünlerinden olan etilaminin immün sistem elemanlarından gama-delta T hücrelerini aktive etmesi sebebiyle, immün sistemin güçlenmesinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.⁴⁹ L-teanin (80 mg/kg) ve L-sistin (200 mg/kg) birlikte verilmesi durumunda antijene spesifik immünoglobulin G üretiminin, T-yardımcı hücresi aracılı cevapların ve GSH seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir.⁵⁰ Aşılardan önce L-sistin ve L-teaninin birlikte uygulanmasının, düşük hemoglobin konsantrasyonuna sahip yaşlı insanlarda influenza aşısına karşı antijen spesifik anti dinitrofenil, IgM ve IgG antikorunun güçlendirilmesi yoluyla bağışıklık cevabını arttırdığını göstermiştir.⁵¹ Li ve ark. (2016) ratlara teanin uyguladıktan sonra, Th2/Th1 sitokin dengesinin değiştiğini, beyindeki serum kortikosteron seviyesini azaldığını, beyindeki dopamin ve 5-hidroksitriptamin düzeyini düşüğünü ve bunlara bağlı olarak sıçanların bağışıklık fonksiyonunda gelişme olduğunu ifade etmişlerdir.⁵²

L-teaninin, hormon seviyeleri üzerinde değişim yaparak gıda alımını etkilediği, beyinde dopamin ve serotonin gibi maddelerin

seviyelerini değiştirerek bunu gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir.⁵³

Yeşil çay içeriklerinin antiobezite etkileri üzerinde yapılan bir çalışmada L-teanin ve kafein birlikteliği dozajlarının fare modelinde yağ birikimi ve kilo artışı üzerinde baskılayıcı etkilere sahip olduğunu göstermiştir.⁵⁴ Teanin-çinko kombinasyonu bir kompleks oluşturur ve bu nedenle hipoglisemik etkiyi korumak için çinko takviyesi olarak görev yapabileceği düşünülmektedir.³⁹

Yapılan son çalışmalarda teaninin ratlarda, doksorubisin kaynaklı akut nefrotoksisiteyi antioksidan özellikleri ile önlediği, böbrek fonksiyonları üzerinde etkili olabileceği belirtilmiştir.^{55, 56}

L-teaninin toksik etkilerinin olup olmadığıyla ilgili Borzelleca ve ark. (2006) tarafından deney hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada ratlarda farklı teanin dozları (0, 1500, 3000 ve 4000 mg/kg) diyetle eklenmiştir. Bunun sonucunda davranış, morbidite, mortalite, vücut ağırlığı, gıda tüketimi, klinik biyokimya, hematoloji, idrar tahlili, patoloji, organ ağırlıkları ve histopatolojik incelemelerde, istatistiksel olarak anlamlı olumsuz etkilere sahip olmadığı tespit edilmiştir.⁵⁷

SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde oldukça fazla miktarda tüketilen yeşil ve siyah çaya özel bir amino asit olan teanin, ticari olarak bazı ülkelerde rahatlatıcı veya antidepresan ilaç veya takviye ürünü olarak kullanılsa da ülkemizde sadece çay içimi ile tüketilmektedir.

Teaninle ilgili çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir. Teaninin sağlığa faydalı etkilerine yönelik çalışmalar çokça mevcut olmasına rağmen uzun vadede insan sağlığına etkilerine yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Sakato, Y. (1949). The chemical constituents of tea: III. A new amide theanine. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 23, 262-7.
2. Vuong, Q.V., Bowyer, M.C., Roach, P.D. (2011). L-Theanine: properties, synthesis and isolation from tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (11), 1931-9.
3. Casimir, J., Jadot, J., Renard, M. (1960). Separation and characterization of N-ethyl-L-glutamine in *Xerocomus badius* (*Boletus ladius*). *Biochemica Biophysica Acta*, 39, 462-8.
4. Kvasnicka, F., Krátká, J. 2006. Isotachophoretic determination of theanine. *Central European Journal of Chemistry*, 4 (2), 216-2.
5. Wang, L., Xua, R., Hua, B., Lia, W., Suna, Y., Tub, Y., Zeng, X. (2010). Analysis of free amino acids in Chinese teas and flower of tea plant by high performance liquid chromatography combined with solid-phase extraction. *Food Chemistry*, 123 (4), 1259-66.
6. Barros, L., Ferreira, IC. (2017). Phytochemicals and their effects on human health. *Curr Pharm Des* 23 (19) 873-4286.
7. Keenan, E., Jones, P. S., Priestley, C. M., Finnie, M. D. A., (2011). How much theanine in a cup of tea? Effects of tea type and method of preparation. *Food Chemistry*, 125 (2), 588-94.
8. Chen, Z. M., Wang, H., You, X., Xu, N., (2002). The chemistry of tea non-volatiles. Tea, bioactivity and therapeutic potential. Zhen Y. (ed.), Taylor & Francis Press, London, UK, 57-88.
9. Ekborg-Ott, K. H., Taylor, A., Armstrong, D. W. (1997). Varietal differences in the total and enantiomeric composition of theanine in tea. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 45 (2), 353-63.
10. Chu, D.C. (1997). Green tea: Its cultivation, processing of the leaves for drinking materials, and kinds of green tea. In: *Chemistry and Applications of Green Tea*, 1-11.
11. Chatterjee, S., Chatterjee, A., Bandyopadhyay, S. K., (2016). L-Theanine: A Prospective Natural Medicine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 41 (21), 95-103.
12. Yamada, T., Terashima, T., Kwano, S., Fruno, R., Okubo, T, et al. (2009). Theanine, r-glutamylethylamide a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats. *Amino Acids*, 36 (1), 21-7.
13. Türközü, D., Şahinler, N. (2017). L-theanine, unique amino acid of tea, and its metabolism, health effects, and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57 (8), 1681-7.
14. Başkan, M. H., Aydın, M. (2013). Electron paramagnetic resonance studies of gamma-irradiated DL-alanine ethyl ester hydrochloride, L-theanine and L-glutamic acid dimethyl ester hydrochloride. *Spectrochimica Acta A Molecular Biomolecular Spectroscopy*, 112, 280-2.
15. Ding, Y., Yu, H., & Mou, S. (2002). Direct determination of free amino acids and sugars in green tea by anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Journal of Chromatography*, 982 (2), 237-44.
16. Narukawa, M., Toda, Y., Nakagita, T., Hayashi, Y., Misaka, T. (2014). L- theanine elicits umami taste via the T1R1 + T1R3 umami taste receptor. *Amino Acids*, 46 (6), 1583-7.
17. Takeo, T. (1978). L-Alanine decarboxylase in *Camellia sinensis*. *Phytochemistry*, 17 (2), 313-4.

18. Deng, W. W., Ogita, S., Ashihara, H. (2008). Biosynthesis of theanine (g-ethylamino-L-glutamic acid) in seedlings of *Camellia sinensis*. *Phytochemistry Letters*, 1 (2), 115–9.
19. Mu, W., Zhang, T., Bo, J. (2015). An overview of biological production of L-theanine. *Biotechnology Advances*, 33 (3-4), 335–42.
20. Basavaraju, L., John, M., Venkatesh, P., Pawar, V., Sinkar, V. P., Ganesh, P. T., Guttapadu, S. (2012). Theanine Biosynthesis during tea seed germination. *International Journal of Tea Sciences*, 8 (3), 30–4.
21. Unno, T., Suzuki, Y., Kakuda, T., Hayakawa, T., Tsuge, H. (1999). Metabolism of theanine, γ -glutamylethylamide, in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (4), 1593-6.
22. Lichtenstein, N. (1942). Preparation of alkylamides of glutamic acid. *Journal of the American Chemical Society*, 64 (5), 1021–2.
23. Williams, J., Kellett, J., Roach, P. D., McKune, A., Mellor, D., Thomas, J., Naumovski, N. (2016). L-Theanine as a Functional Food Additive: Its Role in Disease Prevention and Health Promotion. *Beverages*, 2 (2), 13.
24. Yamamoto, S., Wakayama, M., Tachiki, T. (2008). Cloning and expression of methylglutamate synthase gene encoding gamma-glutamylmethylamide synthetase: An enzyme usable in theanine formation by coupling with the alcoholic fermentation system of baker's yeast. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 72 (1), 101–9.
25. Zhou, X., Zhang, Z., Jia, X., Wu, Y., Luo, L., Yin, Z. (2008). Mn^{2+} enhances theanine-forming activity of recombinant glutamine synthetase from *Bacillus subtilis* in *Escherichia coli*. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 24 (8), 1267–72.
26. Juneja, R., Chu, D.C., Okubo, T., Nagato, Y., Yokogoshi, H. (1999). L-theanine-a unique amino acid of green tea and its effect in humans. *Trends in Food Science and Technology*, 10 (6), 199–204.
27. Eschenauer, G., Sweet, B.V. (2006). Pharmacology and therapeutic uses of theanine. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 63 (1):26, 28-30.
28. Terashima, T., Takido, J., Yokogoshi, H. (1999). Time-dependent changes of amino acids in the serum, liver, brain and urine of rats administered with theanine. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 63 (4), 615-8.
29. Scheid, L., Ellinger, S., Altheld, B., Herholz, H., Ellinger, J., Henn, T., Helfrich, H. P., Stehle, P. (2012). Kinetics of L-theanine uptake and metabolism in healthy participants are comparable after ingestion of L-theanine via capsules and green tea. *Journal of Nutrition*, 142 (12), 2091-96.
30. Sadzuka, Y., Sugiyama, T., Nagamine, M., Umegaki, K., Sonobe, T. (2006). Efficacy of theanine is connected with theanine metabolism by any enzyme, not only drug metabolizing enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 44 (2), 286-92.
31. Tsuge, H., Sano, S., Hayakawa, T., Kakuda, T., Unno, T. (2003). Theanine, gamma-glutamylethylamide, is metabolized by renal phosphate-independent glutaminase. *Biochimica Biophysica Acta*, 1620(1-3), 47–53.
32. Yokogoshi, H., Kato, Y., Sagesaka, Y.M., Takihara-Matsuura, T., Kakuda, T., Takeuchi, N. (1995). Reduction effect of theanine on blood pressure and brain 5-hydroxyindoles in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 59 (4), 615-8.
33. Nobre, A. C., Rao, A., Owen, G. N. (2008). L-theanine, a natural constituent in tea, and its effect on mental state. *Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17 (S1), 167–8.
34. Nathan, P. J., Lu, K., Gray, M., Oliver, C. (2006). The neuropharmacology of L-theanine (N-ethyl-L-glutamine): a possible neuroprotective and cognitive enhancing agent. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 6 (2), 21-30.
35. Sumathi, T., Asha, D., Nagarajan, G., Sreenivas, A., Nivedha, R. (2016). L-theanine alleviates the neuropathological changes induced by PCB (Aroclor 1254) via inhibiting upregulation of inflammatory cytokines and oxidative stress in rat brain. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 42, 99–117.
36. Miodownik, C., Maayan, R., Ratner, Y., Lerner, V., Pintov, L., Mar, M., Weizman, A., Ritsner, M. S. (2011). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor and cortisol to sulfate of dehydroepiandrosterone molar ratio associated with clinical response to L-theanine as augmentation of antipsychotic therapy in schizophrenia and schizoaffective disorder patients. *Clin Neuropharmacol* 34 (4), 155-160.
37. Owen, G. N., Parnell, H., De Bruin, E. A., Rycroft, J. A. (2008). The combined effects of L-theanine and caffeine on cognitive performance and mood. *Nutritional Neuroscience*, 11 (4), 193-8.
38. Lyon, M. R., Kapoor, M. P., Juneja, L. R. (2011). The Effects of L-Theanine (Suntheanine®) on objective sleep quality in boys with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Alternative Medicine Review*, 16 (4), 348-54.
39. Ahdihary, R., Mandal, V. (2017). L-Theanine: A potential multifaceted natural bioactive amide as health supplement. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7 (9), 842-8.
40. Yoto, A., Motoki, M., Murao, S., Yokogoshi, H. (2012). Effects of L-theanine or caffeine intake on changes in blood pressure under physical and psychological stresses. *Journal of Physiological Anthropology*, 31 (1), 28.
41. Yokozawa, T., Dong, E. (1997). Influence of green tea and its three major components upon low-density lipoprotein oxidation. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 49 (5), 329-35.
42. Jiang, W., Gao, M., Sun, S., Bi, A., Xin, Y., Han, X., Wang, L., Yin, Z., Luo, L. (2012). Protective effect of L-theanine on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Biochemical Biophysical Research Communication*, 422 (2), 344-50.
43. Li, G., Ye, Y., Kang, J., Yao, X., Zhang, Y., Jiang, W., Gao, M., Dai, Y., Xin, Y., Wang, Q., Yin, Z., Luo, L. (2012). L-Theanine prevents alcoholic liver injury through enhancing the antioxidant capability of hepatocytes. *Food Chemistry and Toxicology*, 50 (2), 363-72.
44. Pérez-Vargas, J., Zarco, N., Vergara, P., Shibayama, M., Segovia, J., Tsutsumi, V., Muriel, P. (2016). L-Theanine prevents carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via inhibition of nuclear factor κ B and down-regulation of transforming growth factor β and connective tissue growth factor. *Human and Experimental Toxicology*, 35 (2), 135-46.
45. Li, C., Yan, Q., Tang, S., Xiao, W., Tan, Z. (2018). Alteration of Mevalonate Pathway in Rat Splenic Lymphocytes: Possible Role in Cytokines Secretion Regulated by L-Theanine. *BioMed Research International*. 2018, 1497097.
46. Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51 (1), 116-34.
47. Friedman, M., Mackey, B. E., Kim, H. J., Lee, I. S., Lee, K. R., Lee, S. U, *et al.* (2007). Structure–activity relationships of tea compounds against human cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (2), 243–53.
48. Sugiyama, T., Sadzuka, Y. (2004). Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level. *Cancer Letters*, 212 (2), 177-84.

49. Bukowski, J. F., Percival, S. S. (2008). L-theanine intervention enhances human gamma delta T lymphocyte function. *Nutrition Reviews*, 66 (2), 96-102.
50. Kurihara, S., Shibahara, S., Arisaka, H., Akiyama, Y. (2007). Enhancement of antigen-specific immunoglobulin G production in mice by co-administration of L-cystine and L-theanine. *Journal Veterinary Medicine Science*, 69 (12), 1263-70.
51. Miyagawa, K., Hayashi, Y., Kurihara, S., Maeda, A. (2008). Co-administration of L-cystine and L-theanine enhances efficacy of influenza vaccination in elderly persons: Nutritional status-dependent immunogenicity. *Geriatrics and Gerontology International*, 8 (4), 243-50.
52. Li, C., Tong, H., Yan, Q., Tang, S., Han, X. (2016). L-Theanine improves immunity by altering TH2/TH1 cytokine balance, brain neurotransmitters, and expression of phospholipase c in rat hearts. *Medical Science Monitor*, 22, 662-9.
53. Yokogoshi, H., Kobayashi, M., Mochizuki, M., Terashima, T. (1998). Effect of Theanine, gamma glutamylethylamide, on Brain Monoamines and Striatal Dopamine Release in Conscious Rats. *Neurochemical Research*, 23 (5), 671-77.
54. Zheng, G., Sayama, K., Okubo, T., Juneja, L.R., Oguni, I. (2004). Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine, in mice. *In Vivo*, 18 (1), 55-62.
55. Nagai, K., Fukuno, S., Otani, K., Nagamine, Y., Omotani, S., Hatsuda, Y., Myotoku, M., Konishi, H. (2018). Prevention of doxorubicin-induced renal toxicity by theanine in rats. *Pharmacology*, 101 (3-4), 219-24.
56. Altınkaynak, Y., Kural, B., Akcan, B., Bodur, A., Özer, S., Yuluğ, E., Mungan, S., Kaya, C., Örem, A. (2018). Protective effects of L-theanine against doxorubisin-induced nephrotoxicity in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 108, 1524-34.
57. Borzelleca, J. F., Peters, D., Hall, W. (2006). A 13-week dietary toxicity and toxicokinetic study with l-theanine in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44 (7), 1158-66.