Sladićev korijen u suvremenoj fitofarmaciji

Šimek, Magdalena

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:783619

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Magdalena Šimek

Sladićev korijen u suvremenoj fitofarmaciji

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Sande Vladimir-Knežević.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Sandi Vladimir-Knežević na stručnom vodstvu i vrijednim savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

SADRŽAJ

1. UVOD.....1
   1.1. Botanički podaci o vrsti *Glycyrrhiza glabra* L.....1
   1.2. Tradicionalna primjena sladića kroz povijest.....3
   1.3. Suvremena primjena sladića.....4
   1.4. Fitokemijski sastav korijena sladića.....5
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....8
3. MATERIJALI I METODE.....9
4. REZULTATI I RASPRAVA.....10
   4.1. Farmakološki učinci sladićevog korijena.....10
      4.1.1. Utjecaj na kortikosteroidnu aktivnost.....10
      4.1.2. Antiulkusno djelovanje.....11
      4.1.3. Ostali protuupalni učinci.....11
   4.2. Rezultati kliničkih studija.....13
      4.2.1. Aftozni stomatitis.....13
      4.2.2. Gastrični i duodenalni ulkus.....13
      4.2.3. Postoperativna grlobolja.....14
      4.2.4. Ostali učinci sladića.....15
   4.3. Doziranje.....17
   4.4. Potencijalna toksičnost sladića.....18
      4.4.1. Akutna toksičnost.....18
      4.4.2. Kronična toksičnost.....19
      4.4.3. Reproduktivna toksičnost.....19
   4.5. Neželjeni učinci pripravaka sa sladićem.....21
   4.6. Interakcije sladićevog korijena s lijekovima i dodacima prehrani.....23
   4.7. Identifikacija i kontrola kakvoće sladićevog korijena i ekstrakata.....24
      4.7.1. Monografija droge Liquiritae radix u Europskoj farmakopeji.....24
      4.7.2. Monografija droge Liquiritae extractum siccum ad saporandum u Europskoj farmakopeji.....27
      4.7.3. Monografija droge Liquiritae extractum fluidum ethanolicum normatum u Europskoj farmakopeji.....30

5. ZAKLJUČAK……...……..…34
6. LITERATURA……...…….....35
7. SAŽETAK/SUMMARY……...……..41
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

1.1. Botanički podaci o vrsti *Glycyrrhiza glabra* L.

Vrsta *Glycyrrhiza glabra* L. s varijetetima:

G. glabra L. var. *typica* – španjolski sladić

G. glabra L. var. *glandulifera* Waldst. et Kit. – ruski sladić

G. glabra L. var. *violacea* Boiss. – perzijski sladić (Kuštrak, 2005).

Podrijetlo imena biljke

Riječ *liquorice* (sladić) proizlazi iz starogrčke riječi *glykyrrhiza*, izvedene od *glykeia rhiza* što znači "slatki korijen". Na latinskom jeziku, riječ *liquiritia* potječe od glagola *liquere* ("teći"), a opisuje tekući oblik (ekstrakt) sladića. Latinski naziv sladića je izvor mnogih naziva za sladić u modernim europskim jezicima, primjerice njemačkom (*Lakritze*) (Fiore i sur., 2005).

Stanište i rasprostranjenost

Rod *Glycyrrhizza* koji pripada porodici Leguminosae (Fabaceae), broji oko 30 vrsta. Osim vrste *G. glabra*, ističu se još i vrste *G. uralensis* Fisch., *G. inflata* Batalin i *G. aspera* Pall. Vrsta je rasprostranjena u suptropskim klimama s bogatim tlom. Potječe iz područja istočnog Sredozemlja, odakle se proširila na zapadno Sredozemlje i do jugoistočne Azije. U Kini i Indiji smatra se ljekovitom biljkom te se u tu svrhu i uzgaja (WHO, 1999). Uzgaja se još i u Rusiji, Velikoj Britaniji, SAD-u, Italiji, Francuskoj, Njemačkoj i Španjolskoj (Pandey i sur., 2017). Raste u šikarama i među grmljem, uz putove i na suhim mjestima. Uspijeva na duboku, pjeskovitu i propusnom tlu. Traži vlažnu i toplu klimu, a osjetljiva je na jaču zimu (Kuštrak, 2005).

Izgled biljke

Sladić je višegodišnji zeljasti grm djelomično odrvenjelih grana visok 100-150 cm (slika 1). U podzemnom dijelu karakterizira ga jako korijenje s vretenastim postraničnim ograncima i brojnim korijenskim vriježama dugima i do 8 metara. Korijen je izvana smeđ, a iznutra žut. Listovi su neparno perasto sastavljeni od 9-17 lisaka koje su uglavnom jajaste, kratko ušiljene i žljezdasto ljepljive na naličju. U pazušcima listova nalaze se uspravni grozdasti cvatovi u

kojima je združeno 20-30 modroljubičastih leptirastih cvjetova. Plod je gola ili žljezdasta bodljikava mahuna (slika 2) (Kuštrak, 2005).



Slika 1. Sladić – *Glycyrrhiza glabra* L., Fabaceae (Leguminosae) (https://www.biolib.cz/)



Slika 2. Prikaz morfoloških obilježja vrste *Glycyrrhiza glabra* L., Fabaceae (https://en.wikipedia.org/)

1.2. Tradicionalna primjena sladića kroz povijest

Najstariji dokazi o uporabi sladića nađeni su u grobnicama egipatskih faraona starih i do 3000 godina. U antičkoj Grčkoj upotrebljavali su ga za liječenje čira na želucu, a u Rimu je služio kao ekspektorans i karminativ. Za filozofa Teofrast sladić je bio lijek za neplodnost, zacijeljivanje rana i ulceracija na sluznici usne šupljine te za bolesti grla. Plinije Stariji je vjerovao da sladić pročišćuje glasnice i odgađa glad i žeđ. Ova biljna vrsta ima dugu povijest primjene i u istočnim kulturama. Hindusi su je koristili s mlijekom i šećerom za povećanje seksualne energije. Stari Kinezi su primjenjivali sladićev korijen za snagu i izdržljivost te u svrhu pomlađivanja. Koristili su ga također kao ekspektorans, laksans i u prehrambene svrhe. U Srednjem vijeku o njemu su pisali arapski učenjaci. U svom djelu *Kanon medicine*, Avicena spominje sladić i njegovu ulogu u liječenju bolesti. Medicinska primjena sladića spominje se u 17. stoljeću u djelu *Complete Herbal* engleskog liječnika Nicholasa Culperera (Davis i Morris, 1991; Fiore i sur., 2005). Sladić se nastavlja koristiti i kao korigens jer umanjuje gorak okus drugih biljnih droga, zatim kao punilo za tablete, u mastima za liječenje kožnih bolesti, a pokazuje potencijal i u liječenju Addisonove bolesti jer potencira djelovanje glukokortikoidnih hormona. Sredinom 20. stoljeća iz sladića su izolirane sastavnice estrogenskih svojstava, pa se pretpostavilo da bi ova biljna vrsta mogla pomoći u liječenju hormonskih nepravilnosti u menstrualnom ciklusu. No, kasnije je dokazano da glicirizin, glikozid gliciretične kiseline, pokazuje antiestrogensku aktivnost (Costello i Lynn, 1950). U mnogim europskim zemljama sladićevi ekstrakti su se primjenjivali u liječenju želučanog i duodenalnog ulkusa. Tijekom šezdesetih godina prošlog stoljeća polusintetski lijek karbenoksolon (hemisukcinat gliciretinske kiseline) se učestalo primjenjivao u ublažavanju ulkusa. Istovremeno, uz pozitivne učinke sladića na zdravlje, otkrivale su se i njegove nuspojave. Sladić izaziva retenciju vode i natrija, a potiče izlučivanje kalija (Molhuysen i sur., 1950).

Od 1976. godine, tekući ekstrakt sladićeva korijena se nalazi na njemačkom tržištu kao biljni lijek koji potpomaže želučanu funkciju. U biljnim čajevima služi kao ekspektorans i dolazi u kombinaciji s jaglačevim korijenom, timijanovom zeleni, bršljanovim listom, korijenom bijelog sljeza i drugim tradicionalnim biljnim drogama. U Španjolskoj je od 1973. odobrena uporaba biljnog čaja za obje tradicionalne indikacije. Primjer Njemačke i Španjolske slijedile su ostale europske zemlje te se danas na njihovim tržištima nalaze brojni pripravci sladićeva korijena, samostalno ili u kombinaciji s drugim biljnim drogama (www.ema.europa.eu).

1.3. Suvremena primjena sladića

Industrijska primjena sladića i glicirizina bazira se primarno na korigiranju okusa u duhanskoj i prehrambenoj industriji. U duhanskoj industriji često se primjenjuje u obliku paste, dok se kao prašak koristi u konditorskoj industriji (slika 3) i farmaceutici (Isbrucker i Burdock, 2006). Iako je glicirizin višestruko slađi od sukroze, ne primjenjuje se često kao zaslađivač. Daje neželjenu tamnu (smeđu) boju hrani te gubi slatkoću u kiselim otopinama, pa je slabo prisutan u industriji hrane i pića te se najčešće zamjenjuje aniševim uljem (Miller i Murray, 1998). Ipak, može se naći u pivu s obzirom da ima svojstvo surfaktanta i u određenoj mjeri smanjuje gorak okus pića (www.ema.europa.eu).



Slika 3. *Pontefract cakes* – primjer primjene sladića u konditorskoj industriji (https://en.wikipedia.org/).

Današnja primjenu sladića temelji se na tisućljetnoj tradiciji u liječenju upalnih bolesti želuca i dvanaesnika te tegobama gornjih dišnih putova (Asl, 2008). Postoje klinički dokazi da sladić pomaže i kod aftoznog stomatitisa, a buduće studije će dati odgovor na pitanja može li sladić i kojim mehanizmom djelovanja pomoći u terapiji karcinoma i hepatitisa C te ublažiti simptome menopauze.

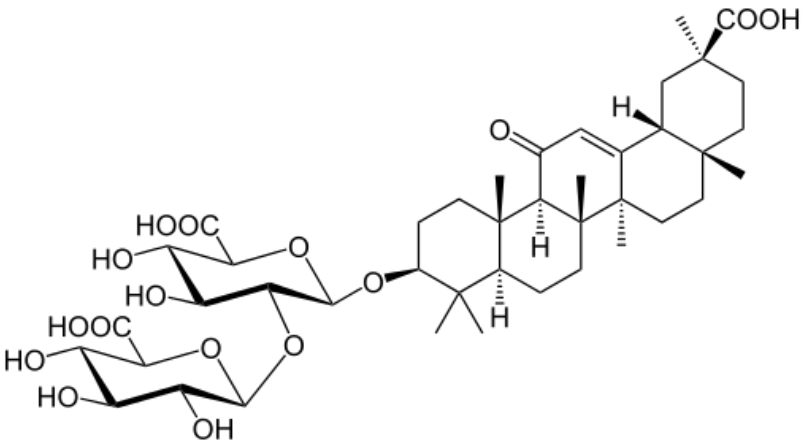
1.4. Fitokemijski sastav korijena sladića

Sladićev korijen sadrži raznolike biokativne sastavnice, među kojima se ističu triterpenski saponini, flavonoidi, kumarini i polisaharidi, a sastav je promjenjiv s obzirom na varijetet i geografsku lokaciju (WHO, 1999).

1.4.1. Triterpenski saponini

Saponini se, s obzirom na aglikon, dijele na triterpenske i steroidne. Većina aglikona triterpenskih saponina su pentaciklički aglikoni nastali iz neke od tri primarne strukture: α-amirina, β-amirina ili lupeola. Saponini mogu biti monodesmozidi (šećerni ostaci vezani na jednu hidroksilnu skupinu, uglavnom C-3) ili bisdesmozidi (šećerni ostaci vezani na više atoma aglikona, uglavnom C-3 i C-28). Većina triterpenskih saponina sadrži barem jednu karboksilnu skupinu (Samuelsson i Bohlin, 2017).

Sladićev korijen sadrži 4-20% triterpenskih saponina, među kojima je najvažniji glicirizin (slika 4). Glicirizin se sastoji od kalijevih i kalcijevih soli glicirizinske kiseline, a 40 do 50 puta je slađi od običnog šećera. U vodi se jako pjeni, no ima relativno slabo hemolitičko djelovanje. Prisutni su i saponini s drugim aglIkonima, kao što su glabranin A i B (aglikon glabrinska kiselina) i 24-hidroksiglicirizin, no u nižim koncentracijama. 24-hidroksiglicirizin je oko 100 puta slađi od sukroze. Glicirizin je glavna aktivna sastavnica ekstrakata sladićevog korijena. Radi se o monodesmozidu čiji su sastavni dijelovi aglikon gliciretinska kiselina, α-D-glukuronska kiselina vezana na C-3 atom aglikona te β-D-glukuronska kiselina koja je vezana za C-2 atom prvog šećernog ostatka. Dakle, hidrolizom glicirizina se oslobađaju dvije molekule D-glukuronske kiseline i aglikon gliciretinska kiselina koja nema sladak okus. (Wichtl i Bisset, 2014; Bruneton, 1999). Gliciretinska kiselina je glavna bioaktivna tvar podzemnih dijelova sladića koja posjeduje širok spektar farmakoloških učinaka. Glicirizin se sintetizira iz triterpena β-amirina, produkta ciklizacije 2,3-oksidoskvalena. Sljedeći koraci u biosintezi uključuju seriju oksidativnih reakcija na položajima C-11 i C-30 nakon čega slijedi prijenos šećera na hidroksilnu skupinu smještenu na položaju C-3. Glicirizin se u korijenu sladića javlja u postotku između 6-13%, ovisno o vrsti, geografskim i klimatskim uvjetima. U ekstraktu sladićevog korijena, sadržaj glicirizina varira između 20 i 25% (Samuelsson i Bohlin, 2017).

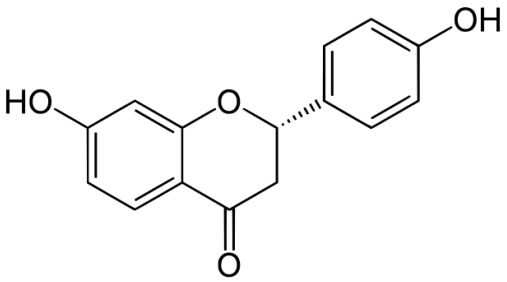


Slika 4. Triterpenski saponin glicirizin
(https://en.wikipedia.org/)

1.4.2. Flavonoidi

Flavonoidi su spojevi koji imaju strukturu tipa C_6-C_3-C_6 (dvije benzenske jezgre povezane propanskim lancem). U većine flavonoida središnji fragment povezan je s kisikom u heterociklički prsten. Uglavnom iz nalazimo u glikozidnom obliku, a obilježava ih vrsta, broj i položaj šećera vezanih na aglikon. O-glikozidi su najčešći tip glikozida, a šećer je pretežno vezan u položaju 3 i 7.

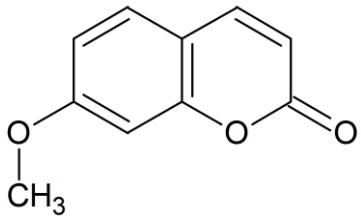
Iz korijena vrsta roda *Glycyrrhiza* identificirano je više od 40 flavonoida s udjelima 0,65-2%. Pripadaju različitim skupinama s obzirom na stupanj oksidacije heterocikličnog prstena te broj i položaj hidroksilnih skupina na benzenskim jezgrama. Među flavonoidima izoliranih iz sladićevog korijena razlikujemo flavanone i flavanonole, kalkone, izoflavane, izoflavene, flavone i flavonole, izoflavone i izoflavanone. Najbrojniji među njima su flavanoni i kalkoni. Žuta boja korijena sladića potječe upravo od flavona likviricigenina (slika 5) i njegovog 4'-O-glukozida likviricina, zatim neolikviricina te kalkona izolikviricigenina i njegovog 4-O-glukozida izolikviricina, neoizolikviricina, likurozida (4'-O-apiozil-(1,2)-glukozid izolikviritigenina), glabrolida i likoflavonola. Među izoflavone iz korijena sladića ubrajaju se glabrol i formononetin. Prisutni su i prenilirani izoflavani glabridin, likoricidin te hispaglabridin A i B, kao i flavon prenillikoflavon A (Wichtl i Bisset, 2014).



Slika 5. Flavon likviricigenin
(https://en.wikipedia.org/)

1.4.3. Kumarini

U sladićevu korijenu prisutni su kumarini herniarin (slika 6) i umbeliferon te prenilirani derivati kao što je likopiranokumarin i glikokumarin (Wichtl i Bisset, 2014).



Slika 6. Kumarin herniarin
(https://en.wikipedia.org/)

1.4.4. Ostale sastavnice

Od ostalih sastavnica valja izdvojiti polisaharide (arabinogalaktane), glukozu, sukrozu, manozu i škrob. U korijenu sladića prisutni su i steroli (β-sitosterol, stigmasterol), masne kiseline (C2-C16) te zasićeni γ-laktoni (Barnes i sur., 2007; Kuštrak, 2005; Wichtl i Bisset, 2014).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Tijekom 20. stoljeća nadalje, ljudska je vrsta postala svjedokom dotad neviđenog napretka u medicini: masovna primjena novootkrivenih lijekova i cjepiva značajno je produljila životni vijek i unaprijedila kvalitetu života. Kako razvoj biomedicinskih znanosti teče ukorak s tehnološim znanostima, očekivano je da će se ta uzlazna putanja nastaviti i u narednim desetljećima. Tehnološki napredak i sve obrazovanija populacija predstavljaju izazov za stručnjake u području biomedicine: pacijentima je dostupno pregršt informacija na temelju kojih formiraju vlastito mišljenje i viziju kako i na koji način tretirati svoja zdravstvena stanja. Ovdje nastupaju zdravstveni djelatnici, čiji je stav poduprt iskustvom i znanjem temeljenim na dugogodišnjoj i cjeloživotnoj edukaciji. Pored liječnika, opterećenih propisivanjem lijekova i brojnošću pacijenata, ističu se ljekarnici koji su oduvijek imali ulogu savjetnika i partnera u zdravlju. Ljekarnik ima moć da usmjeri pacijenta na pronalazak optimalne terapije za svoje zdravstvene probleme u okviru procesa samoliječenja. Samoliječenje je posebno vezano uz primjenu ljekovitog bilja koje se tradicionalno koristi u liječenju određenih tegoba, a koje se danas svrstava u kategoriju dodataka prehrani. Proizvodnja dodataka prehrani nije strogo regulirana kao proizvodnja lijekova, stoga je nužan oprez ljekarnika u preporuci preparata. Također, za mnoge tradicionalne biljne lijekove još uvijek nema zadovoljavajućih kliničkih dokaza kojima bi se potvrdila njihova (ne)učinkovitost. Jedna od uloga ljekarnika je da svoja postojeća saznanja nadograđuje najnovijim, na dokazima temeljenim saznanjima te da ih uspješno primjenjuje u kliničkoj praksi.

Svrha ovog diplomskog rada je istražiti kliničke dokaze o opravdanosti primjene sladića kao ekspektoransa i prouupalnog sredstva te prikazati novija klinička ispitivanja koja se bave potencijalom sladića u liječenju hepatitisa C, karcinoma i menopauzalnih tegoba.

3. MATERIJALI I METODE

Za potrebe pisanja ovoga diplomskog rada korišteni su literaturni izvori iz područja farmakognozije i fitofarmacije koji sadrže informacije o biljnoj vrsti *Glycyrrhiza glabra*, L. Stručni udžbenici pružili su informacije o svojstvima, kemijskom sastavu te djelovanju i povijesnoj upotrebi spomenute biljne vrste. Analitika biljnih droga dobivenih iz vrste *Glycyrrhiza glabra*, L. obrađena je prijevodom monografija Europske i Kineske farmakopeje. Kao izvor kliničkih podataka poslužila su odabrana klinička ispitivanja pohranjena u bibliografskim bazama podataka PubMed Central i ScienceDirect. Od ostalih izvora valja istaknuti internetsku stranicu Europske agencije za lijekove.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Farmakološki učinci sladićevog korijena

Dosad je objavljen veliki broj studija koje opisuju farmakološke učinke sladića i njegovih derivata. Iako točan mehanizam nije sa sigurnošću utvrđen, smatra se da je triterpenski saponin – glicirizinska kiselina, odnosno njen aglikon gliciretinska kiselina, ključna komponenta koja je odgovorna za terapijsko djelovanje sladića i njegovih derivata (Asl i Hosseinzadeh, 2008).

4.1.1. Utjecaj na kortikosteroidnu aktivnost

S obzirom na sličnost strukture kortikosteroida i gliciretinske kiseline, u početku su znanstvenici pretpostavljali da se gliciretinska kiselina izravno veže na glukokortikoidne i mineralokortikoidne receptore u različitim tkivima. No, istraživanja su pokazala da glicirizin i gliciretinska kiselina imaju 3000-10000 puta manji afinitet vezanja na te receptore od endogenih hormona (Armanini i sur., 1989). Gliciretinska kiselina, koja je u sladiću prisutna u obliku glikozida, potencijalni je kompetitivni inhibitor 11β-hidroksisteroid dehidrogenaze. 11β-HSD konvertira kortizol u kortizon i kortikosteron u 11-dehidrokortikosteron. Smanjena aktivnost tog enzima rezultira povećanom perifernom i intrarenalnom koncentracijom aktivnih kortikosteroidnih hormona koji se potom mogu vezati na mineralokortikoidne receptore i uzrokovati retenciju natrija, a posljedično i hipertenziju (Miller i Murray, 1998). Jedna studija je pokazala da uzimanje sladića uzrokuje promjene u metabolizma steroidnih hormona nadbubrežne žlijezde koje su slične onima u djece koja boluju od autoimune recesivne bolesti AME (*Apparent mineralocorticoid excess sindrom*), koju karakterizira reducirani periferni metabolizam kortizola. Manifestacije AME su retencija natrija i vode, gubitak kalija i hipertenzija, odnosno simptomi koji upućuju na hiperaldosteronizam. Zaključak autora studije je da metaboliti glicirizina potiču razvoj pseudohiperaldosteronizma na način da inhibiraju metabolizam kortizola koji, vežući se za mineralokortikoidne receptore, oponaša djelovanje aldosterona (Palermo i sur., 1996).

4.1.2. Antiulkusno djelovanje

Blagotvorno djelovanje na probavni sustav je bio najčešći razlog uzimanja sladića tijekom duge povijesti njegove primjene. Antiulkusni učinak je produkt inhibicije 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenaze koju uzrokuje gliciretinska kiselina. Navedeni enzim konvertira prostaglandin E_2 i prostaglandin $F_{2\alpha}$ u inaktivne 15-ketoprostaglandine. Nadalje, gliciretinska kiselina inhibira i enzim δ13-prostaglandin reduktazu koji metabolizira inaktivni δ13-prostaglandin do 13,14-dihidro,15-ketoprostaglandina. Nastali spoj podliježe daljnjim metaboličkim reakcijama i izlučuje urinom. Inhibicijom tih enzima dolazi do povećanja lokalne koncentracije prostaglandina u želucu, čime je potaknuta sekrecija mukoze te proliferacija epitelnih stanica, što dovodi do zacjeljivanja ulkusa (Baker, 1994; Miller i Murray, 1998).

Smatra se da saponini nisu jedine bioaktivne sastvanice sladića koje djeluju protektivno na sluznicu želuca i dvanaesnika, već da tome doprinose i flavonoidi. Japanski znanstvenici su istražili djeluju li i na koji način glabridin i glabren na rast *Helicobacter pylori* u *in vitro* uvjetima. Otkrili su da inhibiraju rast *H. pylori* te je zaključeno da mogu protektivno djelovati u slučajevima kada je ulkus uzrokovan tom bakterijom (Fukai i sur., 2002).

Karbenoksolon je hemisukcinat gliciretinske kiseline, polusintetski spoj koji je u kliničkim studijama pokazao učinkovitost u liječenju želučanog ulkusa u dozi od 100 mg, tri puta dnevno (Horwich i Galloway, 1965; Turpie i Thomson, 1965). Mehanizam djelovanja nije razjašnjen, međutim, otkriveno je da inhibira enzime u želučanoj mukozi koji metaboliziraju prostaglandine poput gliciretinske kiseline. Posljedica toga je povećana sekrecija mukoze, produljen život epitelnih stanica želuca te inhibicija difuzije vodikovih iona (Awang, 2009; Dembinska-Kiec i sur., 1991).

4.1.3. Ostali protuupalni učinci

Ispitan je utjecaj 18β-gliciretinske kiseline na produkciju citokina IL-8 u humanim epitelnim stanicama kolona HT29. Poznato je da taj interleukin ima ključnu ulogu u inicijaciji i održavanju upalnog odgovora u upalnim bolestima crijeva. Studija je pokazala da 18β-gliciretinska kiselina inhibira produkciju IL-8 potaknutu TNF-α ovisno o koncentraciji (Kang i sur., 2005).

Druga je studija usporedila protuupalna svojstva etanolnih i vodenih ekstrakta sladićevog korijena na mišjim makrofagima RAW264.7. Etanolni ekstrakt „Roasted“ je pokazao snažnu protuupalnu aktivnost tako što je reducirao produkciju dušikovog oksida i prostaglandina E_2 u makrofagima koji su prethodno stimulirani lipopolisaharidom (LPS). Ekstrakt je također inhibirao produkciju proupalnih citokina u istim stanicama. Sličan je zaključak i *in vivo* studije na mišjem modelu. Etanolni ekstrakt sladićevog korijena povećao je stopu preživljenja, snizio plazmatske razine TNF-α i IL-6 te povećao produkciju IL-10 u miševa izloženih LPS antigenu. Studija je ukazala na njegov potencijal u liječenju različitih inflamatornih bolesti (Kim i sur., 2006).

Na temelju primjene sladića u tradicionalnoj kineskoj medicini, tamošnji znanstvenici proveli su druge studije koje su ukazale na potencijal sladića u liječenju upalnih bolesti. Davanjem dekokta sladićevog korijena miševima s kolitisom smanjene su razine mijeloperoksidaze u kolonu te koncentracija TNF- α i interleukina 6 u tkivima (Yang i sur., 2017).

4.2. Rezultati kliničkih studija

4.2.1. Aftozni stomatitis

Jednostruko slijepom, placebo kontroliranom studijom provedenom na 15 ispitanika ispitana je učinkovitost bioadhezivnih hidrogelnih naljepaka u kontroli boli i smanjenju vremena zacjeljivanja rekurentnog aftoznog stomatitisa. Studija je provedena tijekom tri epizode akutnog stomatitisa: tijekom prve epizode, ispitanici su bilježili subjektivni osjećaj boli prema vizualnoj analognoj skali (VAS). Za vrijeme druge i treće epizode je objektivno i subjektivno procijenjen učinak bioadhezivnog naljepka sa ekstraktom sladića i bez njega pomoću sljedećih varijabli: (1) subjektivni osjećaj boli prema VAS tijekom 5 uzastopnih dana, (2) profil aftoznog stomatitisa 3. i 5. dana, (3) vrijeme potrebno za uklanjanje boli i zacjeljivanje ulkusa te (4) promjer lezija i zone nekroze. Zabilježeno je značajno smanjenje osjećaja boli prema VAS tijekom 2., 3., 4. i 5. dana u ispitanika koji su primjenjivali naljepke s ekstraktom sladića u odnosu na netretirane ispitanike. Nadalje, uočeno je zamjetno smanjenje promjera upalnog područja u usporedbi s naljepcima koje nisu sadržavali sladićev ekstrakt. Autori su zaključili da bioadhezivni naljepci s ekstraktom sladića mogu imati učinak na smanjenje boli, upale i nekroze kod rekurentnog aftoznog stomatitisa (Moghadamnia i sur., 2009).

U randomiziranoj, dvostruko slijepoj studiji 69 ispitanika na početku akutne faze aftoznog ulkusa je nasumično raspoređeno u tri skupine: prva skupina je koristila naljepke sa sladićevim ekstraktom, druga bez ekstrakta (placebo skupina), a treća skupina nije niti koristila naljepke (kontrolna skupina). Veličina lezija i osjet boli ispitivani su u intervalima. Do 8. dana studije, veličina ulkusa u ispitanika prve skupine je značajno smanjena, dok su se lezije ispitanika treće skupine povećale. Četvrtog dana studije 81% ispitanika prve skupine je prijavilo odsustvo boli, dok je isto učinilo 63% ispitanika druge, odnosno 40% ispitanika treće skupine (Martin i sur., 2008).

4.2.2. Gastrični i duodenalni ulkus

Dvostruko slijepa studija ispitala je utjecaj degliciriziranog sladića (Caved-S tablete) na 47 pacijenata s aktivnim duodenalnim ulkusom. Ispitanici su uzimali po dvije tablete tri puta dnevno tijekom 30 dana. Svaka tableta je sadržavala 380 mg sladićevog korijena u prahu.

Autori studije su zaključili da se deglicirizirani sladić nije pokazao učinkovitijim od placeba (Feldman i Gilat, 1971).

Provedena je dvostruko slijepa, križna studija gdje su pacijenti s aktivnim, kroničnim želučanim ulkusom tijekom dva uzastopna razdoblja uzimali kapsule sa sladićevim ekstraktom prva četiri tjedna, odnosno placebo kapsule iduća četiri tjedna ili obratno. Doza ekstrakta je iznosila 760 mg te je ista pacijentima davana tri puta dnevno. Nije nađena povezanost između uzimanja kapsula s ekstraktom sladića i bržeg ili potpunog zacjeljivanja ulkusa (Engqvist i sur., 1973).

U kontroliranoj studiji, 34 pacijenata s endoskopski aktivnim duodenalnim ulkusom uzimalo je kapsule ili žvakaće gume degliciriziranog sladića (DGL) ili placebo u istom obliku tijekom osam tjedana. Svaka kapsula, odnosno žvakaća guma sadržavala je 900 mg DGL ili placebo, a uzimale su se pet puta dnevno po dvije. Po završetku studije endoskopski je provjereno stanje duodenalnog ulkusa pacijenata te je ustanovljeno da DGL nema veću učinkovitost od placeba, čak ni u formi žvakače gume za koju su autori pretpostavili da bi, zbog uzrokovanja pojačane salivacije, mogla protektivno djelovati na duodenum (Larkworthy i sur., 1977).

Provedena je studija u kojoj je 96 pacijenata s aktivnim ulkusom želuca nasumično podijeljeno u dvije skupine. Jedna je skupina uzimala deglicirizirani sladić (DGL), a druga skupina placebo. Nakon četiri tjedna, nisu pronađene razlike u kliničkoj slici između skupina niti u postotku smanjenja veličine ulkusa (Bardhan i sur., 1978).

Ispitana je profilaksa degliciriziranim sladićem (DGL) u pacijenata s izliječenim ulkusom želuca. U dvostruko slijepo kontroliranoj studiji 41 pacijent je podijeljen u dvije skupine. Ispitanici iz obje skupine su uzimale 5 kapsula dnevno, od kojih je svaka kapsula sadržavala 450 mg DGL, odnosno placebo. Pojava simptoma je provjeravana na mjesečnoj bazi tijekom najmanje dvije godine ili do povratka ulkusa. Po završetku studije, uočena je nešto niža stopa relapsa u pacijenata koji su uzimali DGL, ali bez statističke znalčajnosti (Hollanders i sur., 1978).

4.2.3. Postoperativna grlobolja

Randomizirana, jednostruko slijepa, placebo kontrolirana studija evaluirala je učinkovitost sredstva za grgljanje sa sladićem u prevenciji i smanjenju postoperativne grlobolje na 40

ispitanika. Prva skupina je dobila 30 mL dekokta priređenog od 500 mg sladićevog korijena, a druga 30 mL placeba pet minuta prije anestezije. Incidencija i ozbiljnost postoperativne grlobolje su provjeravani nakon operacije u pravilnim vremenskim razmacima. Zamijećena je niža incidencija i manja ozbiljnost postoperativne grlobolje u skupini koja je dobila sladićev dekokt sladića u odnosu na skupinu koja je dobila placebo (Agarwal i sur., 2009).

Randomizirana, dvostruko slijepa studija na 236 pacijenata usporedila je učinak sredstva za grgljanje sa sladićem u odnosu na zaslađenu vodu (placebo) na prevenciju postoperativne grlobolje (POST) i kašlja. Pacijenti su raspoređeni u dvije skupine, od kojih je prva grgljala sladićev tekući ekstrakt (500 mg) 5 minuta prije anestezije, a druga Sirupus simplex, oboje razrijeđeno u 30 mL vode. Incidencija i ozbiljnost postoperativne grlobolje te pojava kašlja su provjeravani nakon operacije u pravilnim vremenskim razmacima. Studija je pokazala da grgljanje razrijeđenog ekstrakta sladića prepolavlja incidenciju grlobolje u odnosu na grgljanje zašećerene vode (Ruetzler i sur., 2013).

U jednoj randomiziranoj studiji sudjelovalo je 100 pacijenata koji su ujedno i pušači. Ispitivana skupina je prije operacije uzimala pastile sa sladićem, a kontrolna placebo. Nakon operacije, u pravilnim je razmacima provjeravana pojavnost postoperativne grlobolje, odnosno kašlja. Autori su ustanovili da je u pacijenata koji su uzimali pastile sa sladićem značajno manja pojavnost grlobolje: 24%, dok se u skupini koja je uzimala placebo grlobolja javila u 52% pacijenata (Gupta i sur., 2013).

4.2.4. Ostali učinci sladića

Većina kliničkih ispitivanja sladića imala je za cilj utvrditi opravdanost upotrebe ove biljne vrste u terapijske svrhe na temelju njene povijesne primjene u tradicionalnoj medicini ili strukture pojedinih sastavnica.

Sladić i njegovi ekstrakti povijesno se primjenjuju u Kini i Japanu u liječenju kroničnog virusnog hepatitisa. U Japanu je provedena randomizirana studija na 112 pacijenata u kojoj su dvije skupine pacijenata primale intravensku otopinu glicirizina pod nazivom *Stronger Neo-Minophagen C* (SNMC) tri puta tjedno tijekom 12 tjedana. Prva skupina je primala 100 mL otopine a druga 40 mL, pri čemu je 20 mL otopine sadržavalo 40 mg glicirizina. Studija je pokazala da je djelotvornost SNMC veća u skupini kojoj je davana veća doza. Došlo je do sniženja povišene razine alanin aminotransferaze (ALT) i poboljšanja funkcije jetre, čime je

unaprijeđena kvaliteta života pacijenata s kroničnim virusnim hepatitisom (Miyake i sur., 2002).

Istraživan je potencijal pojedinih sastavnica sladića (glabridin, likviritin, izolikviritin, glicirizin, glicirizinska kiselina) u prevenciji raka. Većina dosadašnjih studija na ljudskim staničnim linijama pokazalo je utjecaj navednih sastavnica na proliferaciju tumora i apoptozu koji je ovisan o dozi, no nedostaju podaci kliničkih studija. U velikoj retrospektivnoj studiji provedenoj u Japanu na 1249 osoba oboljelih od hepatocelularnog karcinoma, utvrđeno je da je u pacijenata koji su intravenski primali 4 mg glicirizinske kiseline smanjena brzina progresije raka jetre, neovisno o trajanju liječenja (Ikeda i sur., 2006).

Zbog nepostojanja konsenzusa u vezi primjene hormonske nadomjesne terapije u ublažavanju simptoma menopauze, mnoge žene se okreću alternativnoj terapiji, odnosno prirodnim izvorima fitoestrogena. Randomizirana, dvostruko slijepa studija na 60 žena u menopauzi usporedila je učinak sladića s učinkom hormonske nadomjesne terapije (HRT) na pojavnost, jačinu i trajanje valova vrućine. Ispitanice koje su uzimale 1140 mg sladića dnevno tijekom 90 dana prijavile su značajno smanjenje pojavnosti i trajanja valova vrućine, a rezultati su bili usporedivi s rezultatima skupine koja je uzimala HRT. S druge strane, pokazalo se da sladić nije učinkovit u redukciji jačine valova vrućine poput hormonske nadomjesne terapije (Menati i sur., 2014).

Ispitane su učinkovitost i sigurnost primjene topičkih preparata sa 2% sladićevog praška i 10% L-askorbinske kiseline u tretiranju kožnih pigmentacija. Studija je uključivala 20 pacijenata s poremećajima pigmentacije (18 žena i 2 muškarca) koji su nanosili preparat dva puta dnevno tijekom tri mjeseca. Promatrana je veličina i intenzitet hiperpigmentiranih područja. Samo je jedan od pacijenata iskusio iritaciju (crvenilo) kože nakon dva mjeseca primjene tretmana, a preparat se pokazao učinkovitim u smanjenju veličine i intenziteta pigmentacijskih mrlja. No, potrebno je provesti studije s većim brojem ispitanika da bi se potvrdila djelotvornost i sigurnost preparata (Annan, 2015).

Provedena je studija s ciljem da se procijni učinak dodatka sladića eradikacijskoj terapiji *H. pylori* u pacijenata koji pate od dispepsije, u usporedbi sa standardnom trojnom terapijom koja uključuje klaritromicin. Studija je trajala tri mjeseca, a uključivla je 120 pacijenata. Eradikacija je procijenjena šest tjedana nakon provođenja terapije. Bila uspješna za 83,3% pacijenata kojima je u terapiju dodan sladić, dok je standardna trojna terapija bila uspješna u 62,5% pacijenata, uz statistički značajnu razliku (Hajaighamohammadi i sur., 2016).

4.3. Doziranje

Sladić ima slabu oralnu bioraspoloživost. Potrebno je 10 sati kako bi glicirizinska kiselina u formi amonijačne soli dosegla maksimalnu koncentraciju u plazmi, odnosno 12 sati ukoliko se radi o sladićevom ekstraktu (Cantelli-Forti i sur., 1994). Pokazalo se da lipofilne komponente sladićeva ekstrakta smanjuju brzinu gastričnog pražnjenja, kao i apsorpciju glicirizinske kiseline. Niti glicirizin niti glicirizinska kiselina se ne nakupljaju u tkivima. Dokazano je ekstenzivno, saturabilno vezanje na albumin u ljudi (Ishida i sur., 1992).

Sladić se upotrebljava kao tradicionalni biljni lijek za ublažavanje probavnih tegoba (osjećaj žarenja, dispepsija). Primjenjuje se u odraslih i osoba starije životne dobi peroralnim putem, a doze variraju ovisno o vrsti pripravka. Za jednu šalicu biljnog čaja uzima se 1,5-2 g usitnjene biljne tvari (praška), a prašak se prelije sa 150 mL vruće vode (infuz) ili prokuha sa 150 mL vode (dekokt). Preporuča se uzimati 2-4 šalice biljnog čaja dnevno nakon obroka. Tekući ekstrakt (DER 1:0,4-0,5) se primjenjuje 2-3 puta dnevno u pojedinačnoj dozi od 32 mg, a najviše 5 puta dnevno. Ne preporučuje se uzimati dulje od četiri tjedna, a u slučaju da simptomi perzistiraju i nakon dva tjedna primjene biljnog lijeka, savjetuje se konzultacija s kvalificiranim zdravstvenim djelatnikom.

Također, sladić se upotrebljava i kao tradicionalni biljni lijek koji djeluje kao ekspektorans kod kašlja povezanog s prehladom. Dnevna doza iznosi 1,5 g praška po šalici biljnog čaja, a čaj se uzima dva puta dnevno kao infuz ili dekokt. Tekući ekstrakt (DER 3:1) se primjenjuje u 3-4 puta dnevno u pojedinačnoj dozi 1,2-1,5 g. Perzistiraju li simptomi i nakon tjedan dana primjene biljnog lijeka, savjetuje se konzultacija s kvalificiranim zdravstvenim djelatnikom. (HMPC, 2012).

Razina bez uočljivih učinka (*No Observable Effects Level*, NOEL) za glicirizin iznosi 2 mg/kg/dan, dok je preporučeni dnevni unos (ADI) za glicirizin 0,2 mg/kg/dan (Newall i sur., 1996).

4.4. Potencijalna toksičnost sladića

4.4.1. Akutna toksičnost

Provedeno je ispitivanje akutne toksičnosti ekstrakta sladića na štakorima. Štakorima su oralno davane doze od 0,31, 0,63, 1,25 ili 2,5 g ekstrakta/kg/dan tijekom 90 dana, a procijenjeni postotak sadržaja glicirizina u ekstraktu je iznosio 53%. U životinja koje su primale 2,5 g/kg/dan zamijećen je slabiji porast mase. Hematološki nalazi otkrili su značajno smanjenje broja crvenih krvnih stanica i smanjenje hematokrita u štakora muškog spola koji su primali najveću dozu. Nadalje, muškim štakorima koji su primali najvišu dozu ekstrakta značajno su se povisile vrijednosti ukupnih proteina, albumina, ALT i AST, dok su iste vrijednosti značajno pale u ženskih štakora u skupini koja je dobivala najvišu dozu. I u jednih i drugih zabilježeno je smanjenje razine kolesterola. Autori su zaključili da je NOEL (*No Observable Effect Level*) u štakora 0,31-0.63 g ekstrakta/kg/dan. Utjecaj ekstrakta na funkciju bubrega štakora ispitan je davanjem 5% otopine glicirizina (1600 mg/kg) tijekom pet dana. Primjena glicirizina značajno je inhibirala produkciju urina, a time i izlučivanje natrija i kalija putem bubrega. Radi se o reverzibilnom učinku, budući da su se sve mjerene vrijednosti vratile na početnu razinu unutar četiti dana od prestanka uzimanja otopine glicirizina.

Letalna doza ekstrakta sladića za štakora je između 14,2 i 18,0 g/kg. Intraperitonealna primjena 2g/kg 18α-gliciretinske kiseline pokazala se letalnom za odraslu ženku štakora. Navedena doza dovela je do progresivnog oštećenja srčane funkcije. Histološkom obradom utvrđena je pojava plućnog edema i edema mozga te renalne hemostaze (Isbrucker i Burdock, 2006).

Zabilježen je slučaj zdravog 15-godišnjaka koji je razvio hipertenzivnu encefalopatiju nakon uzimanja 0,5 kg slatkiša sa sladićem. Oko tri sata nakon uzimanja, u dječaka se pojavila jaka glavobolja, slabost, vrtoglavica i povraćanje. Izmjeren mu je krvni tlak od 200/130 mmHg, a nakon pet mjeseci došlo je do potpunog oporavka (van der Zwan, 1993).

Prilikom davanja vodenog i etanolnog ekstrakta sladića ženskim miševima smrtnost se javila tek u dozama iznad 1000 mg/kg. Zapažene su promjene u ponašanju ispitivanih životinja tako što su smanjene lokomotorna aktivnost i reaktivnost na dodir (Nazari i sur., 2017).

4.4.2. Kronična toksičnost

Provedena je studija koja je ispitala kroničnu toksičnost uzimanja glicirizina u miševa. Miševima je davan glicirizin u vodi za piće tijekom 96 tjedana u približnim dnevnim dozama od 0, 71, 166 ili 229 mg/kg za muške miševe i 0, 117, 217 ili 407 mg/kg za miševe ženskog spola. Kako uzimanje glicirizina nije utjecalo za promjenu mase miševa, smrtnost ili pojavnost tumora, zaključak autora je da nema dokaza da bi dugotrajna, svakodnevna primjena glicirizina bila kronično toksična (Kobuke i sur., 1985).

Zabilježen je slučaj pacijenta sa po život opasnom hipokalijemijskom paralizom koja je uzrokovana svakodnevnom konzumacijom slatkiša sa sladićem. Pacijent je uzimao 25 g slatkiša na dnevnoj bazi tijekom godinu dana. Dva tjedna prije hospitalizacije pio je i velike količine čaja zaslađenog sladićem (100 mg glicirizinske kiseline), što je pogoršalo hipokalijemiju i rezultiralo progresivnom, po život opasnom paralizom. Pacijent se u potpunosti oporavio nakon nadoknade tekućine i elektrolita (Elinav i Chajek-Shaul, 2003).

Zdrava 44-godišnja ženska osoba iskusila je ozbiljnu hipokalijemiju koja je rezultirala ventrikularnom fibrilacijom. Kako se većina simptoma povukla nakon prestanka uzimanja sladića, pretpostavlja se da je upravo uzimanje sladića uzrok hipokalijemije. Žena je uzimala 250-500 mg sladića dnevno tijekom nekoliko godina (Gerritsen i sur., 2009).

4.4.3. Reproduktivna toksičnost

Ispitan je teratogeni potencijal glicirizina u gravidnih štakorica. Počevši sa 7. danom gestacije, štakoricama je u prehranu uvedeno 10, 100 ili 250 mg/kg glicirizina u vodi za piće, kojeg su uzimali do 20. dana gestacije. Pronađeno je da su abnormalnosti mekog tkiva, većinom bubrega, povećane u skupinama koje su uzimale 100 i 250 mg/kg glicirizina. Nije bilo značajnih razlika među skupinama po pitanju brojnosti fetusa ni mortaliteta. Na temelju dobivenih podataka, autori su zaključili da glicirizin pokazuje minornu embriotoksičnost za fetus štakora te da nije toksičan za gravidnu štakoricu (Mantovani i sur., 1988).

Studija je ispitala štetan utjecaj prenatalne izloženosti glicirizinu između 35. i 42. tjedna gestacije na buduće kognitivne performanse fetusa. Psihološko testiranje je provedeno na 321 djece prosječne dobi 8,1 godina. U skupini koja je bila izložena najvišoj dozi (najmanje 500 mg tjedno) uočen je značajan pad verbalnih i orijentacijskih sposobnosti te sposobnosti

pamćenja u odnosu na skupine koje su bile izložene dozama do 250 mg tjedno. U istoj skupini djece bila je veća pojavnost agresivnosti i poremećaja pažnje. Autori su zaključili da je tijekom trudnoće potreban oprez kod uzimanja preparata sa sladićem (Raikkonen i sur., 2009).

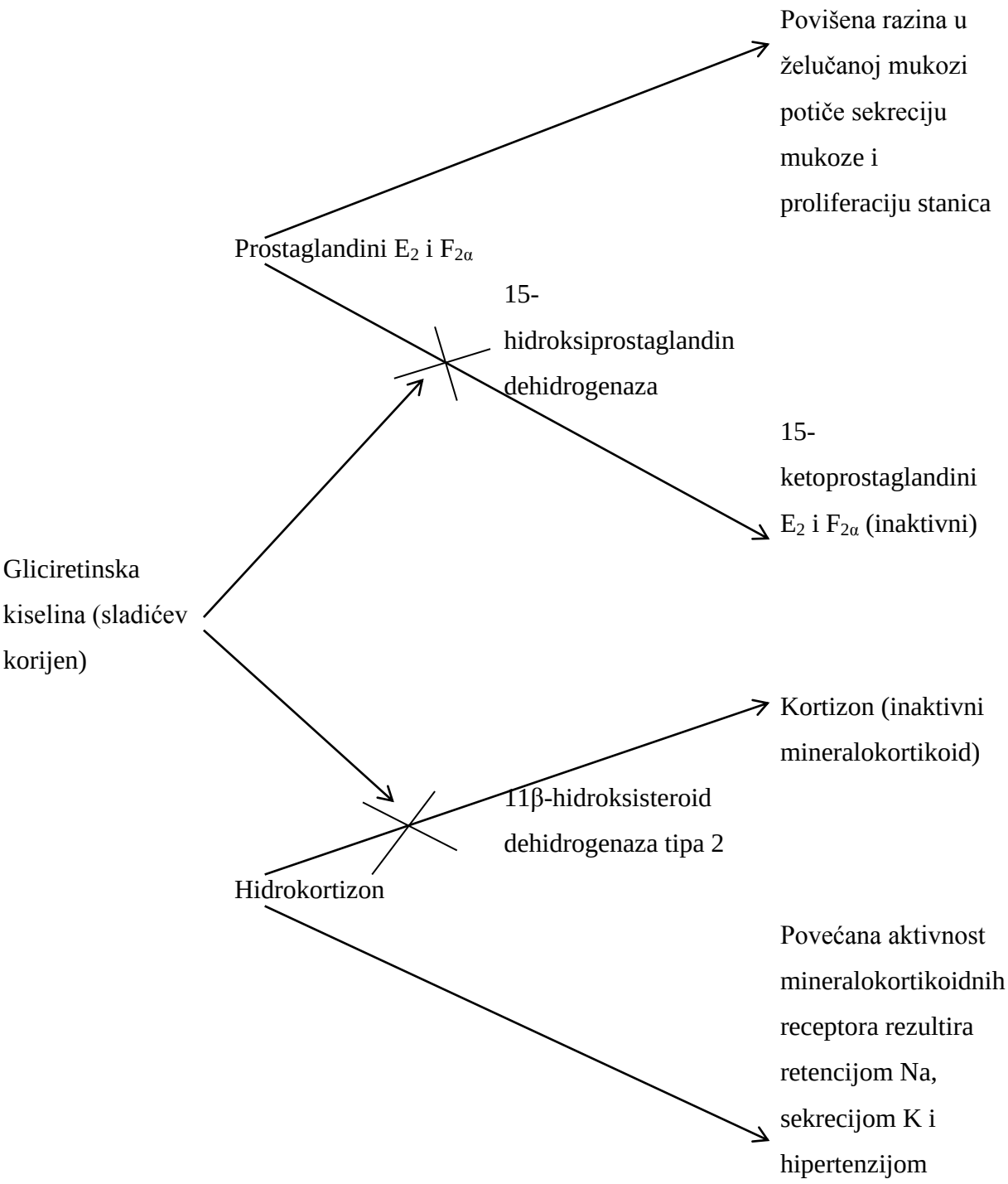
Nisu provedene studije koje bi dokazale ili opovrgnule genotoksičnost i karcinogenost sladića (HMPC, 2012).

4.5. Neželjeni učinci pripravaka sa sladićem

Uzimaju li se pripravci koji sadrže sladić u preporučenim dnevnim dozama kroz vremensko razdoblje do 4 tjedna, malo je vjerojatno da će dovesti do nuspojava. Neželjeni učinci mogu se pojaviti pri svakodnevnom uzimanju visokih doza kroz dulje vrijeme, a povezani su sa svojstvom glicirizina, odnosno 18β-gliciretinske kiseline, budući da potiče rad adrenalne žlijezde. To se manifestira kao pseudohiperaldosteronizam: hipertenzija i hipokalijemija praćene metaboličkom alkalozom, retencijom natrija i sniženom razinom renina u plazmi (Gomez-Sanchez i sur., 1995). 18β-gliciretinska kiselina, osim što je odgovorna za povoljne učinke fitopreparata sa sladićem na sluznicu želuca tako što inhibira enzim koji inaktivira prostaglandine kao protektivne faktore sluznice želuca, sličnim mehanizmom inaktivira srodan enzim koji inaktivira aktivni oblik mineralokortikoida i na taj način uzrokuje gore navedene nuspojave. Mehanizam dvojakog djelovanja 18β-gliciretinske kiseline prikazan je na slici 7 (Awang, 2009). Objavljena su i druga istraživanja koja potvrđuju pojačanu aktivnost mineralokortikoidnih hormona kod pretjerane konzumacije sladića (Bernardi i sur., 1994; Walker i Edwards, 1995).

Uporaba sladića je kontraindicirana kod kroničnih bolesti jetre, hipertenzije, hipokalemije, teške renalne insuficijencije, odnosno ne preporučuje se uzimati istovremeno s propisanim lijekovima za navedene bolesti. Kontraindicirana je istovremena primjena sladića s oralnim kontraceptivima, budući da oralni kontraceptivi povećavaju koncentraciju renina u plazmi, što pojačava predispoziciju za razvoj neželjenih učinaka sladića (Miller i Murray, 1998).

Sigurnost primjene tijekom trudnoće i laktacije nije dovoljno istražena. Zbog nedostatka dokaza o sigurnosti, ne preporučuje se primjena fitopreparata sa sladićem tijekom trudnoće i laktacije (Nazari i sur., 2017; HMPC, 2012).



Slika 7. Mehanizam dvojakog djelovanja 18β-gliciretinske kiseline (Awang, 2009).

4.6. Interakcije sladićevog korijena s lijekovima i dodacima prehrani

Ispitan je utjecaj dugotrajnog uzimanja većih doza sladićevog ekstrakta (3,138 mg/kg i 6,276 mg/kg), odnosno glicirizina (240 mg/kg i 480 mg/kg) na miševe. Miševima je davan sladićev ekstrakt, odnosno glicirizin tijekom 1, 4 ili 10 uzastopnih dana. I sladićev ekstrakt i glicirizin su značajno inducirali aktivnost jetrenog enzima CYP3A4 i u manjoj mjeri aktivnost CYP2B1 i CYP2A1 kod 4- i 10-dnevnog tretmana. Iz navedenog proizlazi da bi dugotrajno uzimanje većih doza sladića moglo dovesti do kliničkih posljedica za pacijente koji uzimaju lijekove koji se metaboliziraju navedenim enzimima (Paolini i sur., 1998).

Istovremena primjena lijekova i fitoterapeutika može dovesti do međusobne interferencije na farmakokinetičkoj ili farmakodinamičkoj razini. Provedena je analiza studija koje su proučavale takve interakcije. Ustanovljena je moguća interakcija oralnih i topičkih kortikosteroida sa sladićem u kojoj sladić potencira učinak kortikosteroida. Istraživanje je pokazalo da glicirizin smanjuje klirens i povećava koncentraciju prednizolona u plazmi (Fugh-Bergman, 2000).

Iako je 18β-gliciretinska kiselina sastavnica kojoj se pripisuje i terapijsko djelovanje i nuspojave (toksičnost), pokazalo se i da izoflavon glabridin može djelovati na način da inhibira enzimatsku aktivnost enzima CYP3A4, CYP2B6 i CYP2CP. Time utječe na farmakokinetiku svih lijekova koji se metaboliziraju putem tih enzima (Kent i sur., 2002).

Provedena je studija u kojoj su znanstvenici ispitali direktan utjecaj antrakinona senozida na apsorpciju gliciretinske kiseline u štakora. Štakorima kojima je uz glicirizin davan i preparat s antrakinonima izmjerena je niža maksimalna koncentracija gliciretične kiseline u plazmi, kao i manji postotak apsorbirane doze, što se ne može pripisati purgativnom djelovanju antrakinona budući da su u istraživanju primijenjene doze niže od onih koje imaju purgativno djelovanje (Mizuhara i sur., 2005). Neki drugi izvori sugeriraju da glicirizin, kao jak surfaktant, potencira djelovanje antrakinona u laksativnim preparatima na način da povećava svojstvo „vlaženja“ crijevnog sadržaja, zbog čega su potrebne niže doze antrakinona (Wichtl i Bisset, 2004).

4.7. Identifikacija i kontrola kakvoće sladićevog korijena i ekstrakata

U 8. izdanju Europske farmakopeje nalaze se tri monografije biljnih droga koje su vezane za korijen sladića: Liquiritiae radix, Liquiritae extractum siccum ad saporandum i Liquiritae extractum fluidum ethanolicum normatum (EDQM, 2014). U nastavku su cjeloviti prijevodi navedenih monografija.

4.7.1. Monografija droge Liquiritae radix u Europskoj farmakopeji

SLADIĆEV KORIJEN

Liquiritae radix

DEFINICIJA

Osušeni, oguljeni ili neoguljeni, cijeli ili rezani korijen i vriježe vrste *Glycyrrhiza glabra*, L. i/ili vrste *Glycyrrhiza inflata*, Bat. i/ili vrste *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.

Sadržaj: najmanje 4,0% 18β-glicirizinske kiseline ($C_{42}H_{62}0_{16}$; M_r 823) (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

A. Korijen je slabo razgranjen. Kora mu je smeđe ili smeđe-sive boje s vodoravnim brazdama i nosi tragove bočnog korijenja. Cilindrične vriježe su promjera 1-2 cm; njihova vanjska obilježja su slična korijenu, ali ponegdje s malim pupoljcima. Korijen i vriježe su na prijelomu vlaknasti i zrnati. Pluto je tanko; sekundarni floem je gust i svijetložut, s radijalnim brazdama. Žuti, cilindrični ksilem je kompaktan i zrakaste strukture. Vriježa ima središnju šupljinu koju korijen nema. Ukoliko je korijen oguljen, nema vanjskog dijela kore.
B. Mikroskopsko ispitivanje (*2.8.23*). Prašak je svijetložut ili blago sivkast. Ispita se pod mikroskopom koristeći otopinu *kloralhidrata R*. Prašak sadrži sljedeće karakteristične fragmente: dijelove žutih vlakana debelih stijenki, 700-1200 μm dugačkih i 10-20 μm širokih s točkastim lumenom, često praćenih slojem stanica koje sadrži prizmatične kristale kalcijevog oksalata koji su široki 10-35 μm i dugačkj 2-5 μm. Stijenke žila su žute, široke 5-10 μm, odrvenjele te sadrže brojna omeđena udubljenja s pukotinama; vidljive su skupine plutenih stanica s tankim stijenkama i pojedinačni prizmatični kristali kalcijevog

oksalata te dijelovi parenhima. U oguljenoj drogi nisu prisutni dijelovi pluta. Prašak se ispita se pod mikroskopom koristeći smjesu jednakih volumena *glicerola R* i *vode R*. Prašak sadrži sljedeće karakteristične fragmente: jednostavne, okrugle ili jajaste granule škroba, promjera 2-20 μm.

C. Tankoslojna kromatografija (*2.2.27*)

Ispitivana otopina. U tikvicu s okruglim dnom od 50 mL s 0,50 g praška droge (180) (*2.9.12*) doda se 16,0 mL *vode R* i 4,0 mL *klorovodične kiseline R1* i zagrijava 30 minuta u vodenoj kupelji, uz povrtno hladilo, ohladi i filtrira. Filtrat i tikvica s okruglim dnom podvrgnu se sušenju 60 minuta na 105°C. Filtrat se prenese u tikvicu s okruglim dnom, doda se 20,0 mL *etera R* i zagrijava 5 minuta na vodenoj kupelji na 40°C, uz povratno hladilo. Ohladi se i filtrira. Filtrat se upari do suha, a ostatak se otopi u 5.0 mL *etera R*.

Poredbena otopina. 5,0 mg *glicirizinske kiseline R* i 5,0 mg *timola R* se otopi u 5,0 mL *etera R*.

Ploča: TLC *silikagel F254 ploča R*.

Pokretna faza: *koncentrirani amonijak R*, *voda R*, etanol (96%) R, *etil acetat R* (1:9:25:65 V/V/V/V).

Nanošenje: 10 μL.

Razvijanje: na duljini od 15 cm.

Sušenje: na zraku tijekom 5 minuta.

Detekcija A: promatra se pod ultraljubičastim svjetlom pri 254 nm.

Rezultat A: kromatogrami dobiveni za ispitivanu i poredbenu otopinom u donjoj polovici pokazuju slabije osvjetljenu zonu koja odgovara glicirizinskoj kiselini.

Detekcija B: poprska se otopinom *anisaldehida R* i zagrijva 5-10 minute na 100-105 °C; promatra se pod dnevnim svjetlom.

Rezultat B: kromatogram dobiven za poredbenu otopinu u donjoj polovici pokazuje ljubičastu zonu glicirizinske kiseline i u gornjoj trećini crvenu zonu timola. Kromatogram dobiven za ispitivanu otopinu pokazuje u donjoj polovici ljubičastu zonu koja odgovara onoj iz poredbene otopine te u gornjoj trećini žutu zonu (izolikviricigenin). Mogu biti prisutne i druge zone.

ISPITIVANJA

Gubitak sušenjem: najviše 10,0%, izraženo na 1,000 g praška droge sušenog 2 sata na 105°C.

Ukupni pepeo: najviše 10,0% za neoguljenu drogu i najviše 6,0% za oguljenu drogu.

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini: najviše 2,0% za neoguljenu drogu i najviše 0,5% za oguljenu drogu.

Okratoksin A: najviše 20 μm po kilogramu biljne droge.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (*2.2.9*).

Ispitivana otopina. U tikvicu s okruglim dnom od 150 mL se stavi 1,000 g praška biljne droge. Doda se 100,0 mL otopine *amonijaka R* koncentracije 8 g/L i ekstrahira 30 minuta u ultrazvučnoj kupelji. Centrifugira se dio otopine i razrijedi 1 mL supernatanta do 5 mL otopinom *amonijaka R* koncentracije 8 g/L. Filtrira se kroz membranski filtar (veličine pora 0,45 μm); filtrat služi kao ispitivana otopina.

Otopina A. Otopi se 0,130 g *monoamonij glicirizinata CRS* u otopini *amonijaka R* koncentracije 8 g/L i razrijedi do 100,0 mL istom otopinom.

Poredbena otopina (a). Razrijedi se 5,0 mL otopine A do 100,0 mL otopinom *amonijaka R* koncentracije 8 g/L.

Poredbena otopina (b). Razrijedi se 10,0 mL otopine A do 100.0 mL otopinom *amonijaka R* koncentracije 8 g/L.

Poredbena otopina (c). Razrijedi se 15,0 mL otopine A do 100,0 mL otopinom *amonijaka R* koncentracije 8 g/L.

Kolona:

- *duljina*: l = 0.10 m, unutrašnji promjer = 4 mm;
- *stacionarna faza*: *oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R* (5 μm).

Pokretna faza: *ledena octena kiselina R, acetonitril R, voda R* (6:30:64 V/V/V).

Brzina protoka: 1,5 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar pri valnoj duljini 254 μm.

Nanošenje: 10 μL.

Izradi se kalibracijska krivulja kojoj je masa amonij glicirizinata u gramima na apscisi, a odgovarajući pikovi na ordinati.

Koristeći vremena zadržavanja i površinu pikova u kromatogramima poredbenih otopina, locira se i odredi površina pika koji odgovara 18β-glicirizinskoj kiselini u kromatogramu ispitivane otopine.

Izračuna se udio 18β-glicirizinske kiseline u postocima koristeći sljedeći izraz:

$$A \times 5/m \times B \times 823/840$$

A = maseni ekvivalent monoamonij glicirizinata u ispitivanoj otopini u gramima, dobiven iz kalibracijske krivulje;

B = deklarirani postotak sadržaja *monoamonij glicirizinata CRS*;

m = masa biljne droge koja se koristila za izradu ispitivane otopine, u gramima;

823 = molekulska masa 18β-glicirizinske kiseline

840 = molekulska masa monoamonij glicirizinata (bez vode nastale kristalizacijom).

OZNAČAVANJE

Označava se je li droga oguljena ili neoguljena.

4.7.2. Monografija droge Liquiritae extractum siccum ad saporandum u Europskoj farmakopeji

SUHI EKSTRAKT SLADIĆA ZA KORIGIRANJE OKUSA

Liquiritae extractum siccum ad saporandum

DEFINICIJA

Suhi ekstrakt proizveden iz *sladićevog korijena* (0277).

Sadržaj: od 5,0% do 7,0% 18β-glicirizinske kiseline ($C_{42}H_{62}O_{16}$; M_r 823) (osušeni ekstrakt).

PROIZVODNJA

Ekstrakt se proizvodi iz rezane biljne droge odgovarajućom procedurom koristeći vodu.

ZNAČAJKE

Izgled: žućkasto-smeđi ili smeđi prašak.

Jako sladak okus.

IDENTIFIKACIJA

Tankoslojna kromatografija.

Smjesa otapala: *etil acetat R, metanol R* (50:50 V/V).

Ispitivana otopina. 0.30 g ekstrakta doda se 30 mL *klorovodične kiseline R1* i zagrije u vodenoj kupelji tijekom 60 min. Nakon hlađenja, smjesa se ekstrahira s dva puta po 20 mL *etil acetata R*. Organski slojevi se pomiješaju i filtriraju kroz filter natopljen bezvodnim natrijevim sulfatom R. Filtrat se upari do suha u vakuumu i otopi u 2.0 mL mjese otapala.

Poredbena otopina. 5.0 mg *gliciretične kiseline R* i 5.0 mg *timola R* se otopi u 5.0 mL smjese otapala.

Ploča: TLC *silikagel F254 ploča R* (5-40 μm) [ili *TLC silikagel F254 ploča R* (2-10 μm)].

Mobilna faza: *koncentrirani amonijak R, voda R, etanol (96%) R, etil acetat R* (1:9:25:65 V/V/V/V).

Nanošenje: 20 μL [ili 10 μL].

Razvoj: na duljini od 15 cm [ili 7 cm].

Sušenje: na zraku tijekom 5 min.

Detekcija: ploča se poprska otopinom *anisaldehida R* i zagrijati na 100-105°C tijekom 5-10 min.; promotri se na dnevnom svjetlu.

Rezultat: kromatogram dobiven poredbenom otopinom pokazuje ljubičastu zonu u svojoj donjoj polovici zahvaljujući gliciretičnoj kiselini te crvenu zonu u gornjoj trećini zahvaljujući timolu. Kromatogram dobiven ispitivanom otopinom pokazuje ljubičastu zonu u svojoj donjoj polovici koja odgovara onoj dobivenoj poredbenom otopinom (gliciretična kiselina) te žutu zonu (izolikviritigenin) u gornjoj trećini. Na kromatogramu ispitivane otopine mogu biti prisutne i druge zone.

ISPITIVANJA

Gubitak sušenjem: najviše 7.0%.

Okratoksin A: najviše 80 μg po kilogramu ekstrakta.

Najveći dozvoljeni postotak onečišćenja odnosi se na čisti nerazrijeđeni ekstrakt. Ukoliko su dodana pomoćna sredstva kako bi se smanjila jačina ekstrakta, najveći dozvoljeni postotak onečišćenja trebao bi se proporcionalno prilagođavati koncentraciji ekstrakta.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija.

Smjesa otapala: *voda R, metanol R* (20:80 V/V).

Ispitivana otopina. 0.200 g ekstrakta stavi se u tikvicu od 150 mL. Doda se 100.0 mL smjese otapala i podvrgne ultrazvučnim valovima na 2 min. Otopina se filtrira kroz membranski filtar (veličine pora 0.45 μm).

Poredbena otopina. 50.0 mg *monoamonij glicirizinata CRS* se otopi u smjesi otapala i razrijedi do 50.0 mL istom smjesom. 1.0 mL ove otopine razrijedi se do 10.0 mL smjesom otapala.

Kolona:

- *duljina*: l = 0.10 m, unutrašnji promjer = 4 mm;
- *stacionarna faza*: *oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R* (5 μm).

Mobilna faza: *ledena octena kiselina R, acetonitril R, voda R* (6:30:64 V/V/V).

Brzina protoka: 1.5 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar pri valnoj duljini 254 μm.

Nanošenje: 10 μL.

Trajanje postupka: tri puta dulje od vremena zadržavanja 18β-glicirizinske kiseline.

Vrijeme zadržavanja: 18β-glicirizinska kiselina =oko 9 min.

Identifikacija pikova: koristi se kromatogram *monoamonij glicirizinata CRS* i kromatogram poredbene otopine kako bi se identificirali pikovi 18β-glicirizinske kiseline i 18α-glicirizinske kiseline.

Prikladnost sustava: poredbena otopina:

- kromatogram referentne otopine je sličan kromatogramu *monoamonij glicirizinata CRS*
- *razlučivanje kolone*: najmanje 2.0 između pikova koji odgovaraju 18β-glicirizinskoj kiselini i 18α-glicirizinskoj kiselini.

Postotak sadržaja 18β-glicirizinske kiseline dobiva se iz sljedećeg izraza:

$$A_1 \times m_2 \times p \times 0.979 / A_2 \times m_1 \times 5$$

A_1 = površina pika 18β-glicirizinske kiseline na kromatogramu ispitivane otopine;

A_2 = površina pika 18β-glicirizinske kiseline na kromatogramu poredbene otopine;

m_1 = masa ekstrakta upotrebljenog za pripravu ispitivane otopine, u gramima;

m_2 = masa monoamonij glicirizinata CRS upotrebljenog za pripravu poredbene otopine, u gramima;

p = postotak sadržaja 18β-glicirizinske kiseline u monoamonij glicirizinatu CRS;

0.979 = faktor korelacije između pikova 18β-glicirizinske kiseline i monoamonij glicirizinata.

4.7.3. Monografija droge Liquiritae extractum fluidum ethanolicum normatum u Europskoj farmakopeji

TEKUĆI ETANOLNI EKSTRAKT SLADIĆA, STANDARDIZIRAN

Liquiritae extractum fluidum ethanolicum normatum

DEFINICIJA

Standardizirani tekući etanolni ekstrakt proizveden iz *sladićevog korijena* (0277).

Sadržaj: od 3.0% do 5.0% 18β-glicirizinske kiseline ($C_{42}H_{62}O_{16}$; M_r 823).

PROIZVODNJA

Ekstrakt se proizvodi iz biljne droge odgovarajućom procedurom za tekuće ekstrakte koristeći etanol (70% V/V).

ZNAČAJKE

Izgled: tamnosmeđa, bistra tekućina.

Ima blag, karakterističan miris i sladak okus.

IDENTIFIKACIJA

Tankoslojna kromatografija.

Ispitivana otopina. 1.0 g ekstrakta stavi se u tikvicu s okruglim dnom od 50 mL, doda se 16.0 mL *vode R* i 4.0 mL *klorovodične kiseline R1* i zagrije u vodenoj kupelji tijekom 30 min. Pričeka se da se otopina ohladi, a zatim se filtrira. Filter i tikvica s okruglim dnom se osuše pri 105°C tijekom 60 min. Filter se prenese u tikvicu s okruglim dnom, doda 20 mL *etera R* i zagrije u vodenoj kupelji na 40°C tijekom 5 min. Pričeka se da se otopina ohladi, a zatim se filtrira. Filtrat se upari do suha, a ostatak se otopi u 5.0 mL *etera R*.

Poredbena otopina. Otopi se 5.0 mg *gliciretične kiseline R* i 5.0 mg *timola R* u 5 mL *etera R*.

Ploča: TLC *silikagel F254 ploča R*.

Mobilna faza: *koncentrirani amonijak R, voda R, etanol (96%) R, etil acetat R* (1:9:25:65 V/V/V/V).

Nanošenje: 10 μL.

Razvoj: na duljini od 15 cm.

Sušenje: na zraku tijekom 5 min.

Detekcija A: promotriti pod ultraljubičastim svjetlom valne duljine 254 nm.

Rezultat A: kromatogrami dobiveni ispitivanom otopinom i poredbenom otopinom pokazuju slabije osvjetljenu zonu u svojoj donjoj polovici zahvaljujući gliciretičnoj kiselini.

Detekcija B: tretirati otopinom *anisaldehida R* i zagrijati na 100-105°C tijekom 5-10 min.; promotriti pod dnevnim svjetlom.

Rezultat B: kromatogram dobiven poredbenom otopinom pokazuje ljubičastu zonu u svojoj donjoj polovici zahvaljujući gliciretičnoj kiselini te crvenu zonu u gornjoj trećini zahvaljujući timolu. Kromatogram dobiven ispitivanom otopinom pokazuje ljubičastu zonu u svojoj donjoj

polovici koja odgovara onoj dobivenoj poredbenom otopinom te žutu zonu (izolikviritigenin) u gornjoj trećini. Mogu biti prisutne i druge zone.

ISPITIVANJA

Etanol: od 52% V/V do 65% V/V.

Metanol i **2-propanol**: najviše 0.05% V/V metanola i najviše 0.05% V/V 2-propanola.

Okratoksin A: najviše 80 μg po kilogramu ekstrakta.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija.

Smjesa otapala: razrijedi se *amonijak R1* s *vodom R* (8:92 V/V).

Ispitivana otopina. Razrijedi se 1.000 g ekstrakta do 100 mL smjesom otapala i provede se centrifugiranje. 2.0 mL supernatanta se razrijedi do 10.0 mL smjesom otapala.

Otopina A. Otopi se 0.130 g *amonij glicirizinata CRS* u smjesi otapala i razrijedi do 100.0 mL istom smjesom.

Poredbena otopina (a). Razrijedi se 5.0 mL otopine A do 100.0 mL smjesom otapala.

Poredbena otopina (b). Razrijedi se 10.0 mL otopine A do 100.0 mL smjesom otapala.

Poredbena otopina (c). Razrijedi se 15.0 mL otopine A do 100.0 mL smjesom otapala.

Kolona:

- *duljina*: l = 0.10 m, unutrašnji promjer = 4 mm;
- *stacionarna faza*: *oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R* (5 μm).

Mobilna faza: *ledena octena kiselina R, acetonitril R, voda R* (6:30:64 V/V/V).

Brzina protoka: 1.5 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar pri valnoj duljini 254 μm.

Nanošenje: 10 μL.

Izradi se kalibracijska krivulja kojoj je masa amonij glicirizinata u gramima na apscisi, a odgovarajući pikovi na ordinati.

Koristeći vremena zadržavanja i područja pikova dobivenih kromatogramima poredbenih otopina, locira se pik koji odgovara 18β-glicirizinskoj kiselini na kromatogramu ispitivane otopine.

Izračuna se postotak sadržaja 18β-glicirizinske kiseline koristeći sljedeći izraz:

$$A \times 5/m \times B \times 823/840$$

A = maseni ekvivalent monoamonij glicirizinata u ispitivanoj otopini u gramima, dobiven iz kalibracijske krivulje;
B = deklarirani postotak sadržaja *monoamonij glicirizinata CRS*;
m = masa biljne droge koja se koristila za izradu ispitivane otopine, u gramima;
823 = molekulska masa 18β-glicirizinske kiseline
840 = molekulska masa monoamonij glicirizinata (bez kristalne vode)

5. ZAKLJUČAK

Ovaj diplomski rad donosi podatke o fitokemijskom sastavu, pretkliničkim i kliničkim istraživanjima sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.) te kontroli kakvoće biljnih droga. Sladićev korijen se tradicionalno primjenjuje za liječenje ulkusa želuca i dvanaesnika te kao ekspektorans kod kašlja praćenog prehladom te ima status tradicionalnog biljnog lijeka za navedene indikacije. Smatra se da je 18β-gliciretinska kiselina odgovorna za terapijsko djelovanje sladića, ali i za potencijalne nuspojave. Zbog toga je fokus većine farmakoloških i kliničkih studija u prošlosti bio upravo na toj triterpenskoj sastavnici. Kod obje indikacije uzima se 1,5-2 g usitnjenog sladićevog korijena te se pripremi biljni čaj u obliku infuza ili dekokta i pije dva do četiri puta dnevno. Osim biljnog čaja, pripravlja se i tekući ekstrakt (32 mg) koji se uzima dva do tri puta dnevno.

Pripravke sa sladićem se ne preporučuje uzimati dulje od četiri tjedna. Sladić se smatra sigurnim za primjenu i rijetko izaziva neželjene učinke. Neželjeni učinci su prisutni kod dugotrajne primjene većih doza, pri čemu se mogu javiti simptomi poput retencije vode i natrija, hipokalemije i hipertenzije. Uporaba sladića je kontraindicirana kod kroničnih bolesti jetre, hipertenzije, hipokalemije, teške renalne insuficijencije i uzimanja oralnih kontraceptiva. Kako sigurnost primjene tijekom trudnoće i laktacije nije dovoljno istražena kao ni sigurnost primjene u dječjoj dobi, ne preporučuje se primjena sladića i njegovih derivata tijekom trudnoće, laktacije i u dobnoj skupini do 18 godina.

Klinička ispitivanja su pokazala da ova biljna vrsta ima pozitivan učinak u liječenju aftoznog stomatitisa i postoperativne grlobolje, a provode se ispitivanja koja će u budućnosti pokazati njenu učinkovitost u liječenju virusnih oboljenja, prevenciji raka i ublažavanju simptoma menopauze.

6. LITERATURA

Agarwal A, Gupta D, Yadav G, Goyal P, Singh PK, Singh U. An evaluation of the efficacy of licorice gargle for attenuating postoperative sore throat: a prospective, randomized, single-blind study. *Anesth Analg*, 2009, 109, 77-81.

Annan R. Efficacy and safety of treatment with a topical preparation containing licorice powder and L-ascorbic acid for skin pigmentation in Middle-Easterns. *J Clin Exp Dermatol Res*, 2015, 6, 3.

Armanini D, Wehling M, Weber PC. Mineralocorticoid effector mechanism of liquorice derivatives in human mononuclear leukocytes. *J Endocrinol Invest*, 1989, 12, 303-306.

Asl MN, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytother Res*, 2008, 22, 709-724.

Assessment report on Glycyrrhiza glabra L. and/or Glycyrrhiza inflata Bat. and/or Glycyrrhiza uralensis Fisch., radix. 2011., http://www.ema.europa.eu, pristupljeno 19.5.2017.

Awang DVC, Tyler's Herbs of Choice: The Therapeutic use of Phytomedicinals. New York, CRC Press, 2009, str. 51-52.

Baker ME. Licorice and enzymes other than 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: an evolutionary perspective. *Steroids*, 1994, 59, 136-141.

Bardhan KD, Cumberland DC, Dixon RA, Holdsworth CD. Clinical trial of deglycyrrhizinised liquorice in gastric ulcer. *Gut*, 1978, 19, 779-782.

Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines. London, Pharmaceutical Press, 2007, str. 411-416.

Bernardi M, D'Intino PE, Trevisani F. Effects of prolonged ingestion of graded doses of licorice by healthy volunteers. *Life Sci*, 1994, 55, 584-585.

Bruneton J. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. London, Intercept, 1999, str. 688-694.

Cantelli-Forti G, Maffei F, Hrelia P, Bugamelli F, Bernardi M, D'Intino P, Maranesi M, Raggi MA. Interaction of licorice on glycyrrhizin pharmacokinetics. *Environ Health Perspect*, 1994, 102, 65-68.

Community herbal monograph on Glycyrrhiza glabra L., and/or Glycyrrhiza inflata Bat. and/or Glycyrrhiza uralensis Fisch., radix. 2012., http://www.ema.europa.eu, pristupljeno 19.5.2017.

Costello CH, Lynn EV. Estrogenic substances from plants; glycyrrhiza. *J Am Pharm Assoc*, 1950, 39, 177-180.

Davis EA, Morris DJ. Medicinal uses of licorice through the millennia: The good and plenty of it. *Mol Cell Endocrinol*, 1991, 78, 1-6.

Dembinska-Kiec A, Pallapies D, Simmet T, Peskar BM, Peskar BA. Effect of carbenoxolone on the biological activity of nitric oxide: relation to gastroprotection. *Br J Pharmacol*, 1001, 104, 811-816.

EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). European Pharmacopoeia 8th Edition, Council of Europe, Strasbourg 2014.

Elinav E, Chajek-Shaul T. Licorice consumption causing severe hypokalemic paralysis. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78, 767-768.

Engqvist A, von Feilitzen F, Pyk E, Reichard H. Double-blind trial of deglycyrrhizinated liquorice in gastric ulcer. *Gut*, 1973, 14, 711-715.

Feldman H, Gilat T. A trial of deglycyrrhizinated liquorice in the treatment of duodenal ulcer. *Gut*, 1971, 12, 449-451.

Fiore C, Eisenhut M, Ragazzi E, Zanchin G, Armanini D. A history of the therapeutic use of liquorice in Europe. *J Ethnopharmacol*, 2005, 99, 317-324.

Fugh-Berman A. Herb-drug interactions. *Lancet*, 2000, 355, 134-138.

Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. *Life Sci*, 2002, 71, 1449-1463.

Gerritsen KG, Meulenbelt J, Spiering W, Kema IP, Demir A, va Driel VJ. An unusual cause of ventricular fibrillation. *Lancet*, 2009, 373, 1144.

Gomez-Sanchez CE, Gomez-Sanchez EP, Yamakita N. Endocrine causes of hypertension. *Semin Nephrol*, 1995, 15, 106-115.

Gupta D, Agrawal S, Sharma JP. Effect of preoperative licorice lozenges on incidence of postextubation cough and sore throat in smokers undergoing general anesthesia and endotracheal intubation. *Middle East J Anaesthesiol*, 2013, 22, 173-178.

Hajaiaghamohammadi AA, Zargar A, Oveisi S, Samimi R, Reisian S. To evaluate of the effect of adding licorice to the standard regimen of Helicobacter pylori. *The Brazilian journal of Infectuous Diseases*, 2016, 20, 534-538.

Hollanders D, Green G, Woolf IL, Boyes BE, Wilson RY, Cowley DJ, Dymoch IW. Prophylaxis with deglycyrrhizinised liquorice in patients with healed gastric ulcer. *Br Med J*, 1978, 1, 148.

Horwich L, Galloway R. Treatment of gastric ulceration with carbenoxolone sodium: clinical and radiological evaluation. *Br Med J*, 1965, 2, 1274-1277.

Ikeda K, Arase Y, Kobayashi M, Saitoh S, Someya T, Hosaka T, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Suzuki F, Kumada H. A long-term glycyrrhizin injection therapy reduces hepatocellular carcinogenesis rate in patients with interferon-resistant active chronic hepatitis C: a cohort study of 1249 patients. *Dig Dis Sci*, 2006, 51, 603-609.

Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (Glycyrrhiza sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2006, 46, 167-192.

Ishida S, Sakiya I, Ichikawa T, Taira Z. Dose-dependent pharmacokinetics of glycyrrhizin in rats. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40, 1917-1920.

Kang OH, Kim JA, Choi YA, Park HJ, Kim DK, An YH, Choi SC, Yun KJ, Nah YH, Cai XF, Kim YH, Bae KH, Lee YM. Inhibition of interleukin-8 production in the human colonic epithelial cell line HT-29 by 18 beta-glycyrrhetinic acid. *Int J Mol Med*, 2005, 15, 981-985.

Kent UM, Aviram M, Rosenblat M, Hollenberg PF. The licorice root derived isoflavan glabridin inhibits the activities of human cytochrome P450S 3A4, 2B6, and 2C9. *Drug Metab Dispos*, 2002, 30, 709-715.

Kim JK, Oh SM, Kwon HS, Oh JS, Lim SS, Shin HK. Anti-inflammatory effect of roasted licorice extracts on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 345, 1215-1223.

Kobuke T, Inai K, Nambu S, Ohe K, Takemoto T, Matsuki K, Nishina H, Huang IB, Tokuoka S. Tumorigenicity study of disodium glycyrrhizinate administered orally to mice. *Food Chem Toxicol*, 1985, 23, 979-983.

Kuštrak D. Farmakognozija – fitofarmacija. Zagreb, Golden marketing – Tehnička knjiga, 2005, str. 495-497.

Larkworthy W, Holgate PF, McIllmurray MB, Langman MJ. Deglycyrrhizinised liquorice in duodenal ulcer. *Br Med J*, 1977, 2, 1123.

Mantovani A, Ricciardi C, Stazi AV, Macri C, Piccioni A, Badellino E, De Vincenzi M, Caiola S, Patriarca M. Teratogenicity study of ammonium glycyrrhizinate in the Sprague-Dawley rat. *Food Chem Toxicol*, 1988, 26, 435-440.

Martin MD, Sherman J, van der Ven P, Burgess J. A controlled trial of a dissolving oral patch concerning glycyrrhiza (licorice) herbal extract for the treatment of aphthous ulcers. *Gen Dent*, 2008, 56, 206-210.

Menati L, Khaleghinezhad K, Tadayon M, Siahpoosh A. Evaluation of contextual and demographic factors on licorice effects on reducing hot flashes in postmenopause women. *Health Care Women Int*, 2014, 35, 87-99.

Miller LG, Murray WJ. Herbal Medicinals: A Clinician's Guide. New York, Pharmaceutical Products Press, 1998, str. 80-82.

Miyake K, Tango T, Ota Y, Mitamura K, Yoshiba M, Kako M, Hayashi S, Ikeda Y, Hayashida N, Iwabuchi S, Sato Y, Tomi T, Funaki N, Hashimoto N, Umeda T, Miyazaki J, Tanaka K, Endo Y, Suzuki H. Efficacy of Stronger Neo-Minophagen C compared between two doses administered three times a week on patients with chronic viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 17, 1198-1204.

Mizuhara Y, Takizawa Y, Ishihara K, Asano T, Kushida H, Morota T, Kase Y, Takeda S, Aburada M, Nomura M, Yokogawa K. The influence of the sennosides on absorption of glycyrrhetic acid in rats. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28, 1897-1902.

Moghadamnia AA, Motallebnejad M, Khanian M. The Efficacy of the Bioadhesive Patches Containing Licorice Extract in the Management of Recurrent Aphthous Stomatitis. *Phytother Res*, 2009, 23, 246-250.

National Center for Complementary and Integrative Health, 2016., https://nccih.nih.gov/health/licoriceroot, pristupljeno 30.7.2017.

Nazari S,Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Toxicological effects of Glycyrrhiza glabra (Licorice): A Review. *Phytother. Res*, 2017, 31, 1635-1650.

Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines: A Guide for Health-Care Professionals. London, Pharmaceutical Press, 1996., str. 411-416.

Palermo M, Shackleton CH, Mantero F, Stewart PM. Urinary free cortisone and the assessment of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in man. *Clin Endocrinol*, 1996, 45, 605-611.

Paolini M, Pozzetti L, Sapone A, Cantelli-Forti G. Effect of licorice and glycyrrhizin on murine liver CYP-dependent monooxygenases. *Life Sci*, 1998, 62, 571-582.

Pandey S, Verma B, Arya P. A review on constituents, pharmacological activities and medicinal uses of Glycyrrhiza glabra. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, 6-10.

Raikkonen K, Pesonen AK, Heinonen K, Lahti J, Komsi N, Eriksson JG, Seckl JR, Jarvenpaa AL, Strandberg TE. Maternal licorice consumption and detrimental cognitive and psychiatric outcomes in children. *Am J Epidemiol*, 2009, 170, 1137-1146.

Samuelsson G, Bohlin L. Drugs of Natural Origin. Stockholm, Swedish Pharmaceutical Press, 2017, str. 441-443.

Ruetzler K, Fleck M, Nabecker S, Pinter K, Landskron G, Lassnigg A, You J, Sessler DI. A randomized, double-blind comparison of licorice versus sugar-water gargle for prevention of postoperative sore throat and postextubation coughing. *Anesth Analg*, 2013, 117, 614-621.

Turpie AG, Thomson TJ. Carbenoxolone sodium in the treatment of gastric ulcer with special reference to side-effects. *Gut*, 1965, 6, 591-594.

Van der Zwan A. Hypertension encephalopathy after liquorice ingestion. *Clin Neurol Neurosurg*, 1993, 95, 35-37.

Walker BR, Edwards CR. Licorice-induced hypertension and syndromes of apparent mineralocorticoid excess. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 1994, 23, 359-377.

WHO (World Health Organisation). WHO monographs on selected medicinal plants, Volume 1, Radix Glycyrrhizae. World Health Organisation, Geneva, 1999, 183-195.

Wichtl M, Bisset NG. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. Stuttgart, Medpharm Scientific publishers, 2014, str. 401-403.

Yang R, Yuan BC, Yong-Sheng M, Zhou S, Liu Y. The anti-inflammatory effects activity of licorice, a widely used Chinese herb. *Pharmaceutical Biology*, 2017, 55, 5-18.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Glycyrrhiza glabra L. je biljna vrsta koja se tradicionalno primjenjuje za liječenje ulkusa želuca i dvanaesnika te kao ekspektorans kod kašlja praćenog prehladom. U nekim europskim zemljama sladićev korijen ima status tradicionalnog biljnog lijeka. Smatra se da je triterpenski saponin 18β-gliciretinska kiselina sastavnica koja je odgovorna za terapijsko djelovanje sladićevog korijena, ali i za potencijalne nuspojave. Klinička ispitivanja su pokazala da ova biljna droga ima pozitivan učinak u liječenju aftoznog stomatitisa i postoperativne grlobolje, a provode se ispitivanja koja će u budućnosti pokazati njenu učinkovitost u liječenju virusnih oboljenja, prevenciji raka i ublažavanju simptoma menopauze.

Glycyrrhiza glabra L. has been traditionally used for treating gastric and duodenal ulcer and as an expectorant in cough associated with cold. In some european countries, licorice root has a status of traditional herbal medicinal product for use in these specific indications. It is considered that triterpenoid saponin 18β-glycyrrhetinic acid is the main active compound responsible not only for liquorice root's phytotherapeutic activity, but also for its undesirable effects. Clinical studies have shown that liquorice root has a positive effect in treatment of aphthous stomatitis and postoperative sore throat. Studies that are currently being conducted are expected to show whether liquorice root possesses anti-viral and anti-carcinogenic effect and potential in alleviating the symptoms of menopause.

8. Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za Farmakognoziju
Marulićev trg 20/II 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

SLADIĆEV KORIJEN U SUVREMENOJ FITOFARMACIJI

Magdalena Šimek

SAŽETAK

Glycyrrhiza glabra L. je biljna vrsta koja se tradicionalno primjenjuje za liječenje ulkusa želuca i dvanaesnika te kao ekspektorans kod kašlja praćenog prehladom. U nekim europskim zemljama sladićev korijen ima status tradicionalnog biljnog lijeka. Smatra se da je triterpenski saponin 18β-gliciretinska kiselina sastavnica koja je odgovorna za terapijsko djelovanje sladićevog korijena, ali i za potencijalne nuspojave. Klinička ispitivanja su pokazala da ova biljna droga ima pozitivan učinak u liječenju aftoznog stomatitisa i postoperativne grlobolje, a provode se ispitivanja koja će u budućnosti pokazati njenu učinkovitost u liječenju virusnih oboljenja, prevenciji raka i ublažavanju simptoma menopauze.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 41 stranicu, 7 grafičkih prikaza i 60 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Sladićev korijen, *Glycyrrhiza glabra*, fitofarmacija

Mentor: **Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Marija Kindl, *poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Višnja Drinovac Vlah, *poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: ožujak 2018.

8. Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacognosy
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

LICORICE ROOT IN MODERN PHYTOPHARMACY

Magdalena Šimek

SUMMARY

Glycyrrhiza glabra L. has been traditionally used for treating gastric and duodenal ulcer and as an expectorant in cough associated with cold. In some european countries, licorice root has a status of traditional herbal medicinal product for use in these specific indications. It is considered that triterpenoid saponin 18β-glycyrrhetinic acid is the main active compound responsible not only for liquorice root's phytotherapeutic activity, but also for its undesirable effects. Clinical studies have shown that liquorice root has a positive effect in treatment of aphthous stomatitis and postoperative sore throat. Studies that are currently being conducted are expected to show whether liquorice root possesses anti-viral and anti-carcinogenic effect and potential in alleviating the symptoms of menopause.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 41 pages, 7 figures and 60 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Licorice root, *Glycyrrhiza glabra*, phytopharmacy

Mentor: **Sanda Vladimir-Knežević**, **Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Sanda Vladimir-Knežević**, **Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Marija Kindl, **Ph.D.** *Postdoctorand*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Višnja Drinovac Vlah, **Ph.D.** *Postdoctorand*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: March 2018.