

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

**Filip Babić**

**ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI EKSTRAKTA KORIJENA SLADIĆA**

*(Glycyrrhiza glabra L.)*

Završni rad

Mentor: dr. sc. Ljiljana Krstin, doc.

Neposredni voditelj: dr. sc. Zorana Katanić

Osijek, 2016.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij: **Biologija**

Znanstveno područje: **Prirodne znanosti**

Znanstveno polje: **Biologija**

### ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI EKSTRAKTA KORIJENA SLADIĆA

(*Glycyrrhiza glabra* L.)

Filip Babić

**Rad je izrađen:** na Zavodu za biokemiju i ekofiziologiju biljaka

**Mentor:** dr. sc. Ljiljana Krstin, doc.

**Neposredni voditelj:** dr. sc. Zorana Katanić

**Kratak sadržaj:** Sladić (*Glycyrrhiza glabra* L.) je ljekovita biljka koja je bogata bioaktivnim tvarima kao što su flavonoidi, fenoli, triterpenski saponini, eterična ulja i brojnim drugim. Od svih bioaktivnih tvari izoliranih iz ekstrakta korijena sladića, najvažniji su glicirizin i glabridin koji imaju antimikrobne (antibakterijske i antifungalne) aktivnosti i također antiviralno djelovanje. Brojna znanstvena istraživanja potvrdila su pozitivno djelovanje ekstrakta korijena sladića protiv nekih sojeva bakterija, sojeva gljivica i virusa. Dosadašnja saznanja i buduća istraživanja trebala bi osigurati učinkovitiju terapiju bakterijskih, gljivičnih i ujedno virusnih infekcija te također, djelomično ili potpuno, zamijeniti sadašnje lijekove.

**Broj stranica:** 21

**Broj slika:** 16

**Broj tablica:** 1

**Broj literaturnih navoda:** 44

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** glicirizin, glabridin, ljekovita svojstva, sekundarni metaboliti

**Datum ocjene:** 5.9.2016.

**Rad je pohranjen u:** knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

## **BASIC DOCUMENTARY CARD**

**Final thesis**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**

**Department of Biology**

**Undergraduate Study of Biology**

**Scientific Area: Natural science**

**Scientific Field: Biology**

### **ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF LICORICE ROOT EXTRACT**

*(Glycyrrhiza glabra L.)*

**Filip Babić**

**Thesis performed at:** Department of biochemistry and plants physiology

**Supervisor:** dr. sc. Ljiljana Krstin, doc.

**Assistant in charge:** dr. sc. Zorana Katanić

**Short abstract:** Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) is a medicinal plant that is rich with bioactive substances such as flavonoids, phenols, triterpene saponins, volatile oils and numerous others. Of all bioactive substances isolated from the licorice root extract, the most important are glycyrrhizin and glabridin that have antimicrobial (antibacterial and antifungal) activities and also antiviral activity. Numerous scientific studies confirmed the positive effects of licorice root extract against some bacterial strains, strains of fungi and viruses. Current knowledge and the future research should provide more effective treatment of bacterial, fungal and also viral infections and also to replace the current drugs partially or completely.

**Number of pages:** 21

**Number of figures:** 16

**Number of tables:** 1

**Number of references:** 44

**Original in:** Croatian

**Key words:** glycyrrhizin, glabridin, healing properties, secondary metabolites

**Date of grading:** 5.9.2016.

**Thesis deposited in:** Library of Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. OSNOVNI DIO .....	2
2.1. Sistematika, morfologija, ekologija i geografska rasprostranjenost sladića.....	2
2.2. Sekundarni metaboliti.....	6
2.2.1. Bioaktivne tvari ekstrakta korijena sladića .....	6
2.2.2. Priprava ekstrakta korijena sladića .....	8
2.3. Antimikrobne aktivnosti ekstrakta korijena sladića .....	8
2.3.1. Antibakterijska svojstva.....	9
2.3.2. Antifungalna svojstva .....	13
2.4. Antiviralna i ostala ljekovita svojstva sladića .....	14
3. ZAKLJUČAK .....	17
4. LITERATURA.....	18

## 1. UVOD

Sladić (*Glycyrrhiza glabra* L.) je višegodišnja biljka iz porodice mahunarki (*Fabaceae*) koja je od davnina prepoznata po svojim ljekovitim svojstvima te zauzima važno mjesto u narodnoj medicini. Razvojem modernih tehnologija koje potpomažu biološka istraživanja, utvrđeno je djelovanje sladića na staničnom nivou te je dokazan njegov potencijal u borbi protiv uzročnika bolesti i drugih poremećaja. Iz navedenoga, moguće je uočiti važnost budućih istraživanja u otkrivanju točnih i složenih mehanizama djelovanja kemijskih spojeva izoliranih iz korijena sladića, koji su za sada uglavnom nepoznati. Bioaktivne tvari sladića kriju se u njegovim podzemnim biljnim dijelovima, korijenu, čiji je ekstrakt ispitivan u nizu znanstvenih istraživanja. Testirane su i utvrđene njegove antimikrobne aktivnosti koje se očituju u antibakterijskim i antifungalnim svojstvima. Upotreba antibiotika i ostalih sintetiziranih medicinskih pripravaka često donosi i niz negativnih posljedica u vidu različitih nuspojava. U takvim se situacijama pomoć traži u biljnim izvorima korisnih tvari. U ovome radu obradit će se morfologija i geografska rasprostranjenost sladića s detaljnim opisom antimikrobnog djelovanja ekstrakta korijena sladića. Sadržaj rada uključit će i nezaobilaznu antiviralnu aktivnost i ostala ljekovita svojstva korijena sladića koja su rezultat višegodišnjih istraživanja potencijalnih pozitivnih svojstava ljekovitih biljaka, među kojima se svakako ističe sladić.

Od niza sekundarnih metabolita kojima korijena sladića obiluje, svakako se ističe, u prvom redu, glicirizin, a potom i glabridin. Iako ne treba zanemariti ni druge bioaktivne tvari u sastavu korijena koje će u radu biti spomenute, ovi se kemijski spojevi najviše povezuju s antimikrobnim i antiviralnim aktivnostima protiv čestih i, današnjoj ljudskoj populaciji zanimljivih bolesti, koje su, naročito nekoć kada nije postojala adekvatna terapija, imale smrtni ishod. Antibakterijske su aktivnosti uočene protiv niza bakterijskih sojeva, uzročnika oralnih infekcija, tuberkuloze, gastritisa i karcinoma želuca ili primjerice onih bakterija koje uzrokuju sepsu nakon većih opekлина kože pri čemu se otvara njihov infektivni put u unutrašnja tkiva. Od gljivičnih infekcija, protiv kojih su dokazana antifungalna svojstva, ističe se ona koju uzrokuje gljivica *Candida albicans*. Virusne bolesti kod kojih je uočeno djelovanje bioaktivnih tvari korijena sladića su one koje uzrokuju SARS koronavirus, HIV, HCV, virus influence i Epstein-Barrov virus.

Sladić se, između ostalog, ističe i svojim antiupalnim, antioksidativnim i brojnim drugim aktivnostima i ljekovitim svojstvima te kao takav predstavlja jednu od ključnih biljaka ne samo u dosadašnjim istraživanjima već osigurava dobar temelj za istraživanja u budućnosti.

## 2. OSNOVNI DIO

### 2.1. Sistematika, morfologija, ekologija i geografska rasprostranjenost sladića

Sladić (*Glycyrrhiza glabra* L.) je višegodišnja, zeljasta biljka koja pripada porodici *Fabaceae* (mahunarke, lepirnjače). Ime roda *Glycyrrhiza* potječe od grčkih riječi *glykos* (što u prijevodu znači sladak) i *rhiza* (što znači korijen), a što ukazuje na činjenicu da korijen sladića posjeduje slatkasti okus. U tablici 1. prikazana je sistematska pripadnost ove biljne vrste.

Tablica 1. Sistematska pripadnost sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.)

<b>Carstvo</b>	Plantae
<b>Odjeljak</b>	Spermatophyta
<b>Pododjeljak</b>	Angiospermae
<b>Razred</b>	Magnoliopsida
<b>Podrazred</b>	Rosidae
<b>Red</b>	Fabales
<b>Porodica</b>	Fabaceae
<b>Rod</b>	<i>Glycyrrhiza</i>
<b>Vrsta</b>	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.

Unutar roda *Glycyrrhiza* poznato je oko 30 vrsta, a u središtu bioloških istraživanja su dvije vrste s dokazanim medicinskim djelovanjem – glatki sladić (*Glycyrrhiza glabra* L.) i kineski sladić (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), a u ovom radu iznijet će se zaključci iz istraživanja provedenih na glatkom sladiću (*Glycyrrhiza glabra* L.)

Habitus, kao i građa pojedinih biljnih dijelova ove biljne vrste odgovaraju karakteristikama porodice *Fabaceae* (slika 1. i 2.). Sladić ima uspravnu stabljiku visine do 1,5 m. Sastavljeni (složeni) listovi (dužine 10 do 20 cm) su smješteni na stabljici naizmjenično, a oni su neparno perasto sastavljeni – čini ih 9 do 17 ovalnih, nasuprotnih liski (dužine 2 do 4 cm), a list završava krajnjom liskom. Razvija debeli podzemni rizom dužine i do 2 m iz kojeg se razvija snažan korijen koji je ujedno nositelj ljekovitih svojstava ove biljne vrste.



Slika 1. Ilustracija vanjskog izgleda i građe pojedinih biljnih dijelova vrste *Glycyrrhiza glabra* L. (Web 1.)



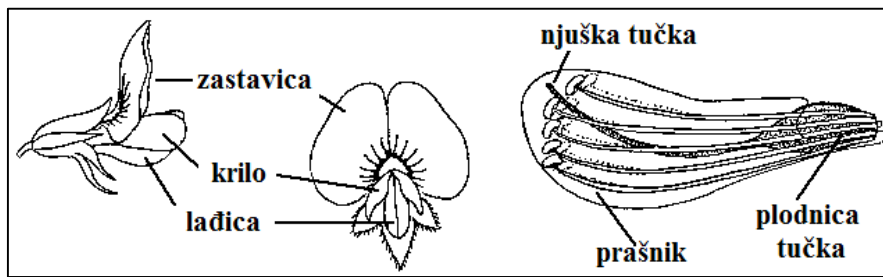
Slika 2. Habitus glatkog sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.) (Web 2.)

Predstavnici porodice *Fabaceae* imaju vrlo karakteristične i lako prepoznatljive cvjetove (slika 3.). Cvjetovi su bijele do nježno ljubičaste boje, a skupljeni su u cvat koji se naziva grozd. Cvatovi su aksilarni što znači da nastaju u pazušcu lista.



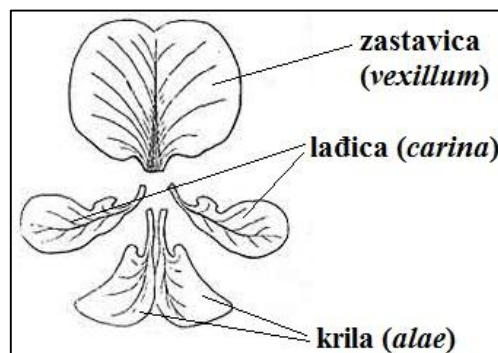
Slika 3. Izgled cvata sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.) (Web 3.)

Građa cvijeta sladića odgovara općoj građi cvijeta porodice *Fabaceae* (slika 4.). Glavna se odlika cvijeta ove porodice očituje u pogledu simetrije – cvijet je zigomorfan što znači da se cvijet dijeli jednom osi simetrije na dva jednaka dijela. S obzirom na zigomorfnu simetriju cvijeta, rod *Glycyrrhiza* pripada potporodici *Papilionoideae*. Ocvijeće ima jasno razlučenu čašku i vjenčić pa je ono heterohlamidejsko. Čaška sadrži 5 slobodnih lapova (korisepalna čaška), a vjenčić gradi 5 latica koje su djelomično srasle. Latice se istog vjenčića razlikuju i imaju posebne nazive (slika 5.). Stražnja je latica ujedno najveća i naziva se zastavica (lat. *vexillum*) te obuhvaća cijeli cvijet. Dvije ventralne latice grade tzv. lađicu (lat. *carina*) koja zatvara andrecej i ginecej. Dvije postrane latice grade tzv. krila (lat. *alae*), a mogu završavati produljenim vrhom koji se naziva kljun. Sve latice vjenčića također mogu imati tanak i dugi donji dio, tzv. klinac. Lađica i krila zajednički čine sletišta za kukce oprašivače.



Slika 4. Osnovna građa cvijeta porodice *Fabaceae* (potporodice *Papilionoideae*) (Web 4.)

Andrecej se sastoji od 10 prašnika koji grade diplostemon (prašnici u 2 reda), a tučak se sastoji od jednog nadraslog plodnog lista. Tip oprašivanja je entomofilija (kukcima), a uspješnosti oprašivanju doprinose boja ocvijeća, nektar, miris i već spomenuti oblik cvjetova. Plod se naziva mahuna (Nikolić, 2013).

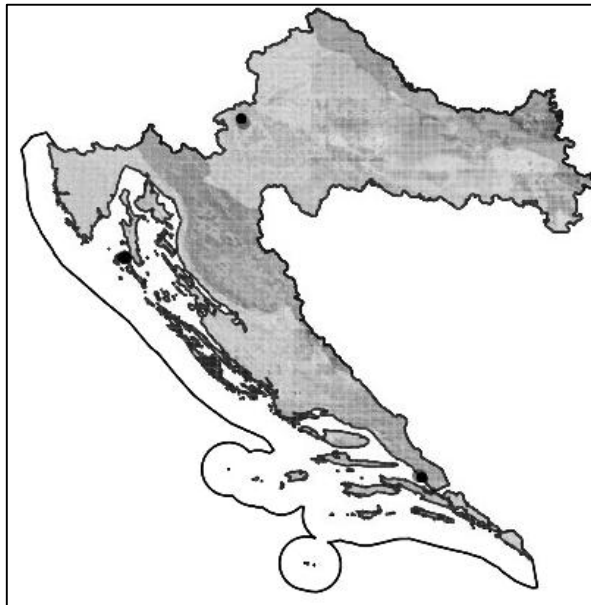


Slika 5. Latice unutar vjenčića cvijeta porodice *Fabaceae* (potporodice *Papilionoideae*) (Web 5.)



Sladić pronalazimo na područjima s utjecajem mediteranske klime, na iznimno osunčanim područjima. Raste na propusnim, rahlim i dobro prozračenim tlima koja tijekom duljeg perioda mogu biti suha, a nakon oborina značajno vlažna. Čest je na staništima bogatim dušikom te je ujedno pokazatelj tala s osrednjom količinom humusa. Također, sladić je pokazatelj slabo kiselih do slabo bazičnih tala te ga nikada nećemo pronaći na izrazito kiselom tlu. Ne podnosi zaslanjenje tla, a prema životnom obliku, ova biljka pripada geofitima (nepovoljno doba godine preživljava u obliku podzemnih rizoma) (Nikolić, 2015).

Malo je podataka o rasprostranjenosti sladića u Republici Hrvatskoj. Prema trenutnoj istraženosti područja i dostupnim podacima, sladić nije zabilježen na velikom broju lokaliteta, a dokumentiran je na sjeverozapadnom dijelu Hrvatske (oko Žumberka), na području između otoka Cresa i Lošinja te uz obalu na samom jugu Hrvatske (slika 6.).



Slika 6. Rasprostranjenost sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.) u Hrvatskoj (Nikolić, 2015)

Kozmopolitska je vrsta, na što ukazuje karta geografske rasprostranjenosti sladića na području čitave planete Zemlja (slika 7.). Najveći je broj nalaza ove biljne vrste na području Europe i Azije, a u nešto manjoj mjeri se pojavljuje i na drugim kontinentima (Sjeverna i Južna Amerika, Afrika, Australija).



Slika 7. Geografska rasprostranjenost sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.) (Web 6.)

## 2.2. Sekundarni metaboliti

Sekundarni biljni metaboliti su skupina organskih spojeva koji nemaju neposrednu ulogu u primarnom biljnom metabolizmu. Za razliku od primarnih metabolita, kao što su klorofil, aminokiseline, nukleotidi i ugljikohidrati, sekundarni metaboliti nemaju ulogu u procesima fotosinteze, staničnog disanja, primanja hranjivih tvari, prijenosa otopljenih tvari i dr. Njihova je funkcija ekološka jer predstavljaju osnovnu i vrlo učinkovitu zaštitu biljaka od herbivora i infekcija mikrobima. Osim toga, služe i za privlačenje oprašivača i životinjskih vrsta koje rasprostranjuju sjemenke. Tijekom evolucije, sekundarni metaboliti postali su sve značajniji za biljke, a njihova su znanstvena istraživanja od velike važnosti i za čovjeka zbog njihove široke primjene u medicini. Osnovna je podjela sekundarnih metabolita, obzirom na način njihove biosinteze, na terpene, fenolne spojeve i spojeve koji sadrže dušik (Pevalek-Kozlina, 2003).

### 2.2.1. Bioaktivne tvari ekstrakta korijena sladića

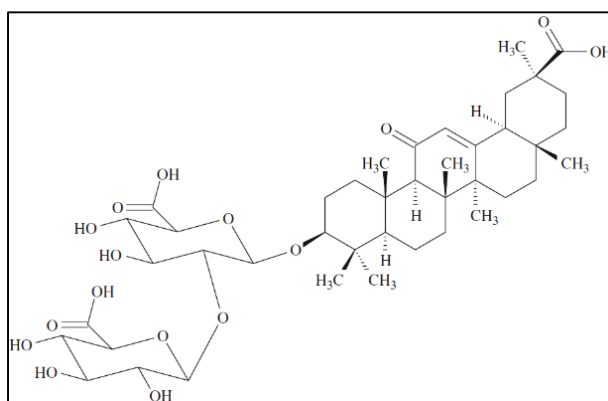
Istraživanja sladića su od sve veće važnosti zbog niza sekundarnih metabolita kojima obiluje, a koji imaju, između ostalog, i funkciju antimikrobnog djelovanja. Veliki je broj kemijskih spojeva izoliran upravo iz korijena sladića. Primjerice, 40 do 50 % od ukupne mase suhog korijena sladića čini, u vodi topljivi, biološki aktivni kompleks. Najvažnije komponente toga kompleksa su škrob (30 %), pektini, polisaharidi, jednostavni šećeri, biljna smola, aminokiseline, triterpenski saponini, flavonoidi (izoflavonoidi, likviritin, izolikviritin, formononetin, glabridin), fenoli, soli, esencijalna ulja, tanini, glikozidi, proteini, steroli, eterična ulja i brojni drugi. Žućkasta boja korijena sladića (slika 8.) potječe upravo od

flavonoida (Damle, 2014). Kako je navedeno, u korijenu je sladića utvrđeno nekoliko vrsta triterpenskkih saponina od kojih je najviše istražen glicirizin (poznat i kao glicirizinska kiselina) (Braun i Cohen, 2007).



Slika 8. Korijen sladića (*Glycyrrhiza glabra* L.) (Web 7.)

Glicirizin je osnovna bioaktivna tvar ekstrakta korijena sladića te njegovom ukupnom sastavu doprinosi s 10 do 25 %. Prema kemijskom sastavu, glicirizin je triterpenski saponin koji je i šezdeset puta slađi od šećera dobivenog iz šećerne trske pa se pripravci korijena sladića koriste i kao zaslađivači. Strukturna formula glicirizina (slika 9.) ukazuje da se sastoji od triterpenoidnog aglikona, gliciretinske kiseline konjugirane s disaharidom glukuronske kiseline. Glicirizin i gliciretinska kiselina mogu postojati u  $18\alpha$  i  $18\beta$  stereoisomernim oblicima.

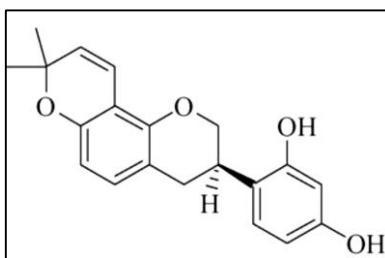


Slika 9. Strukturna formula glicirizina (glicirizinske kiseline) u sastavu ekstrakta korijena sladića (Barceloux, 2008)

Glicirizin se smatra najčešćom bioaktivnom tvari u azijskoj narodnoj medicini zbog njegovog dokazanog antiupalnog i antimikrobnog djelovanja. Pored navedenog, glicirizin ima i inhibirajuće djelovanje prema slobodnim radikalima te blokira lančane reakcije peroksidacije u

lipidima. Znanstvenim su istraživanjama na životinjama utvrđena kemopreventivna, antioksidativna i antiproliferacijska svojstva glicirizina (Damle, 2014).

Glabridin je, pored glicirizina, također važan kemijski spoj u sastavu ekstrakta korijena sladića (slika 10.). Ovaj spoj pokazuje antibakterijska svojstva protiv određenih sojeva bakterija, a ujedno pokazuje i antifungalnu aktivnost (Gupta i sur., 2007).



Slika 10. Strukturna formula glabridina (Gupta i sur., 2007)

### 2.2.2. Priprava ekstrakta korijena sladića

Za pripravu ekstrakta korijena sladića i ekstrakciju glicirizina i glabridina, ključnih spojeva s antimikrobnom aktivnošću koji ulaze u sastav korijena ove biljke, korištena su različita otapala kao što su voda, metanol, etanol, acetonitril i kloroform. Korijenje sladića se suši pri temperaturi od 25°C te se usitnjuje u prah, a potom se vrši ekstrakcija. Kao najpogodnije otapalo za ekstrakciju određena je 80 % otopina etanola. Ekstrakcija se vrši 48 sati, a pomoću rotacijskog vakuumskeg uparivača, pri temperaturi od 40°C, koncentrira se volumen ekstrakta koji se zamrzava i koristi pri daljnjim istraživanjama (More, 2008).

### 2.3. Antimikrobne aktivnosti ekstrakta korijena sladića

Pojam mikroorganizmi ili mikrobi predstavlja zajednički naziv za bakterije, gljive i praživotinje koje su vidljive pod mikroskopom, a u fokusu su znanstvenih istraživanja jer dio njih uzrokuje bolesti aktualnih u današnjoj ljudskoj populaciji. Sladić je sve češća biljka koja se koristi u znanstvenim ispitivanjima gdje se testiraju potencijalne antimikrobne aktivnosti ekstrakta njegovog korijena, koje podrazumijevaju prvenstveno njegova antibakterijska i antifungalna svojstva. S druge strane, virusi su jedinstveni primjer infektivnih agenasa čije se osobitosti temelje na jednostavnoj građi, načinu umnožavanja i nestaničnom ustrojstvu (Presečki i sur., 2002). Dakle, virusi ne posjeduju osnovne karakteristike živih bića, a jedino ih posjedovanje nukleinske kiseline (DNA ili RNA) te sposobnost umnožavanja povezuje sa živim bićima. Virusi, kako nisu živa bića, ne mogu se svrstati među mikrobe, koji prema svojoj

definiciji to jesu, no antiviralna svojstva koje korijen sladića također posjeduje predstavljaju nezanemarivi dio sveukupnih dosadašnjih saznanja dobivenih nizom pokusa na ovoj biljci te će kao takav biti obrađen unutar zasebnog odjeljka u daljnjem tekstu.

### 2.3.1. Antibakterijska svojstva

Dosadašnja istraživanja antibakterijskih svojstava korijena sladića dokazala su njegov pozitivan učinak na velikom broju bakterijskih sojeva, a u ovom radu istaknut će se pozitivna antibakterijska aktivnost ekstrakta korijena sladića protiv bakterijama uzrokovanih oralnih infekcija, bakterije koja uzrokuje tuberkulozu, uzročnika gastritisa i karcinoma želuca i bakterija koje se javljaju u području opekline. Iz navedenoga, može se zaključiti da bi primjena bioaktivnih tvari iz korijena sladića mogla imati veliku i ekonomski značajnu upotrebu u liječenju bakterijskih infekcija sa značajno manjim brojem nuspojava koje su nerijetko karakteristika kemijski sintetiziranih medicinskih pripravaka.

Oralne infekcije i zubni karijes (slika 11.), koje uzrokuju patogene bakterije, ozbiljan su zdravstveni problem velikog broja ljudi, a ujedno predstavljaju značajan financijski teret zdravstvenim organizacijama diljem svijeta.

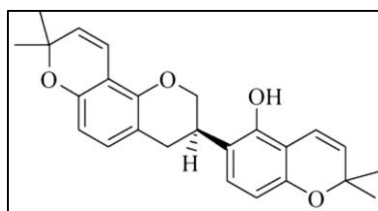


Slika 11. Zubni karijes uzrokovan oralnim patogenim bakterijama (Web 8.)

Kako bakterije na antibakterijske pripravke (antibiotike) razvijaju otpornost, a naročito ukoliko je riječ o čestom, neopreznom i nekontroliranom uzimanju antibiotika, sve je veći fokus znanstvenika na antibakterijska svojstva ljekovitih biljaka među kojima je svoje mjesto pronašao i sladić. Tako je antibakterijska aktivnost ekstrakta korijena sladića ispitana na šest bakterija unutar zasebnog istraživanja: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, *Enterococcus faecalis* koje su oralni patogeni te *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* koje su u ovom istraživanju predstavljale kontrolne sojeve bakterija. Istraživanjem je utvrđena minimalna koncentracija koja uzrokuje inhibiciju (engl. *the minimum*

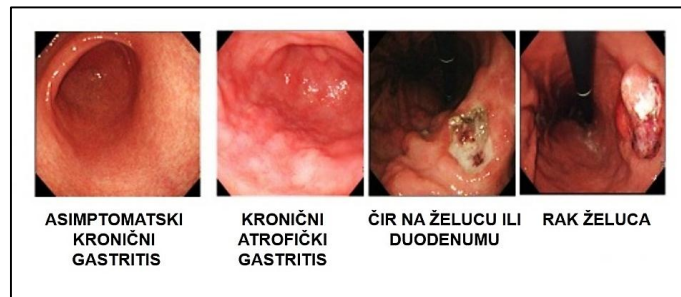
*inhibitory concentration – MIC*) koju izaziva ekstrakt korijena sladića na pojedini soj bakterija. Analizom rezultata utvrđena je pozitivna inhibitorna aktivnost ekstrakta korijena sladića na sve sojeve bakterija uključene u istraživanje, a niti jedan soj nije pokazao otpornost (rezistenciju) na ekstrakt. Također, inhibitorna aktivnost raste povećavanjem doze ekstrakta, a minimalna koncentracija koja izaziva inhibiciju vidljivog rasta bakterija (MIC) je točno određena za ispitane sojeve bakterija kako slijedi: za *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* i *Enterococcus faecalis* MIC je 12.5 mg/mL, a za *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* MIC je 35 mg/mL, dok MIC za *Streptococcus sanguis* iznosi 30 mg/mL. *Escherichia coli* je, u odnosu na ostale ispitivane bakterije, gram-negativna bakterija za koju je utvrđena najviša vrijednost MIC-a pa u skladu s tim, pretpostavlja se, da je ekstrakt najučinkovitiji prema gram-pozitivnim bakterijama. Od svih sojeva bakterija, *Escherichia coli* ujedno pokazuje najveću mogućnost rezistencije prema ekstraktu korijena sladića. Antimikrobna aktivnost sladića uspoređena je s već poznatom antibakterijskom aktivnošću klorheksidina koji je u sastavu niza oralnih antiseptika, a njegova učinkovitost nije značajno veća od one ekstrakta korijena sladića (Sedighinia, 2012).

Uzročnik tuberkuloze (TBC) je bakterija *Mycobacterium tuberculosis*, a riječ je o kroničnoj i progresivnoj infekciji koja najčešće zahvaća pluća te se manifestira kroz produktivni kašalj i bol u prsištu, a bolest je nekada bila smrtonosna kada nisu postojale mogućnosti za razvoj učinkovite terapije (Ivančević, 2000). Potencijalna je antimikrobna aktivnost ekstrakta korijena sladića ispitana i na dvama sojevima bakterije *Mycobacterium tuberculosis*. Analizom je utvrđena antimikrobna aktivnost glabridina protiv navedene bakterije te ujedno i veća aktivnost protiv gram-pozitivnih sojeva. Dok glabridin pokazuje pozitivnu aktivnost protiv bakterija, istražena aktivnost hispaglabridina B nije utvrđena. Smatra se da su ključan čimbenik u antimikrobnoj aktivnosti glabridina dvije slobodne hidroksilne skupine, dok je kod hispaglabridina B jedna hidroksilna skupina "zaštićena" izoprenskom skupinom benzopirenskog prstena (slika 12.) (Gupta i sur., 2008).



Slika 12. Strukturna formula hispaglabridina B (Gupta i sur., 2008)

Veliki broj ljudi pati od čira na želucu, a utvrđeno je da najmanje 75 % bolesnika s navedenom dijagnozom ima kroničnu infekciju završnih dijelova želučane ili početnih dijelova dvanaesnične sluznice, i to upravo bakterijom *Helicobacter pylori* (Guyton i Hall, 2012). *Helicobacter pylori* je spiralna, gram-negativna anaerobna bakterija, koja se prilagodila na život u kiseljoj, želučanoj sredini. Česti je uzročnik gastritisa i karcinoma želuca (slika 13.).



Slika 13. Posljedice infekcije bakterijom *Helicobacter pylori* na želucu (Web 9.)

Ova bakterija prihvaća se za sloj epitelnih stanica želuca i dijelom mukozni sloj. Pomoću enzima ureaze, koja se nalazi na površini bakterijske stanice, a za čiju je enzimatsku aktivnost ključan nikal, ova je bakterija u mogućnosti preživjeti uvjete niskoga pH u želucu osiguravajući optimalne pH uvjete u okruženju bakterije. I sam enzim ureaza doprinosi indukciji bolesti čiji produkt razgradnje ureje, amonijev ion, direktno oštećuje epitelne stanice. Bakterija prijanja na epitelne stanice želuca pomoću bakterijskih proteina adhezina, a među proteinima vanjske membrane poznato ih je nekoliko (BabA, AlpA, AlpB) (Nikić, 2015). U borbi protiv ove bakterije i bolesti koju izaziva, iskorištava se upravo sposobnost prijanjanja bakterije posredstvom proteina adhezina. Jedan od najznačajnijih proteina adhezina ove bakterije je onaj koji inicira protein-protein i protein-ugljikohidrat interakcije pa inhibicija te faze, nekim vanjskim čimbenikom, predstavlja mogući način borbe protiv ove bakterije. Polisaharidi izolirani iz vodenog ekstrakta korijena sladića uključuju 81 % ugljikohidrata i 19 % proteina, a svojim se udjelom ističu arabinoza, galaktoza, glukoza i glukuronska kiselina. Navedeni se polisaharidi povezuju s citotoksičnošću protiv bakterije *Helicobacter pylori* te im se pripisuju antiprijanjajuća svojstva. Oni ulaze u interakciju s bakterijskim adhezинима inhibirajući njihovo povezivanje s epitelnim stanicama želuca (Wittschier i sur., 2009). Oralnim unosom glicirizina, započinje reakcija pretvorbe u njegov aktivnih oblik – gliciretinsku kiselinu. Reakcija je moguća uz prisustvo enzima  $\beta$ -glukuronidaze kojeg luči bakterija *Eubacterium* spp. (Kim i sur., 2000). Pored spomenutih polisaharida, gliciretinska kiselina pokazuje najznačajniju antibakterijsku aktivnost kada je u pitanju bakterija *Helicobacter pylori*. Glicirizin predstavlja



inaktivan oblik i ne pokazuje značajnu antibakterijsku aktivnost čak niti pri visokim koncentracijama (Krausse i sur., 2004).

Opekline, kao rezultat najrazličitijih nesreća, otvaraju put brojnim patogenim bakterijama (slika 14.). Pored *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* predstavlja najčešću bakteriju utvrđenu na mjestima opeklina, a razvoj sepse povezuje se upravo s tom bakterijom.



Slika 14. Infekcija ruke bakterijom *Staphylococcus aureus* (Web 10.)

Antimikrobni peptidi,  $\beta$ -defenzini i katelecidini, koji su raspoređeni po čitavoj koži, ne razvijaju se na području opečenog tkiva gdje bi mogli imati svoju značajnu funkciju. Stanice  $\text{Gr-1}^+\text{CD11b}^+$ , izolirane iz područja oko same opeklina, inhibiraju keratinocite iz epidermalnog sloja kože u produkciji navedenih antimikrobnih peptida (Kobayashi i sur., 2008). Pokušaj proveden na miševima s prouzročnim opeklinama potvrdio je da nema bakterijskog rasta u krvi i slezeni u onih miševa tretiranih glicirizinom. Aplikacijom glicirizina kod opečenih miševa, razina  $\beta$ -defenzina se u potpunosti vraća na početnu razinu unutar 48 sati. Međutim, glicirizin nije u izravnoj interakciji s produkcijom  $\beta$ -defenzina od strane epidermalnih keratinocita, već je riječ o interakciji glicirizina s  $\text{Gr-1}^+\text{CD11b}^+$  supresorskim stanicama koje inhibiraju  $\text{Gr-1}^+\text{CD11b}^+$  stanice u sintezi posebnih spojeva koje spriječavaju produkciju antimikrobnih peptida (Yoshida i sur., 2010).

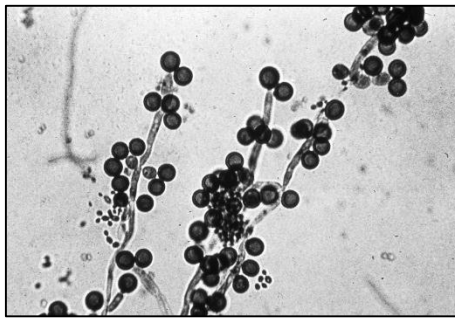
Konačno, antibakterijska je aktivnost ekstrakta korijena sladića često predmet komparativnih istraživanja pa je, unutar zasebnog istraživanja, uspoređena s ekstraktom biljke *Tinospora cordifolia* te ispitana na slijedećim bakterijama: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*. Utvrđena je veća antibakterijska aktivnost ekstrakta korijena sladića, a zanimljivost i važnost samog istraživanja tiče se usporedbe učinkovitosti zasebno vodenog, alkoholnog i hidroalkoholnog ekstrakta te je utvrđeno da vodeni ekstrakt korijena sladića pokazuje maksimalnu antimikrobnu aktivnost protiv svih ispitivanih sojeva bakterija (Patil i sur., 2007).



### 2.3.2. Antifungalna svojstva

U posljednja dva desetljeća, gljivične infekcije imaju značajan utjecaj na povećanje mortaliteta u ljudskoj populaciji. Potreba za stvaranjem otpornosti na fungalne infekcije sve je veća pa je i niz znanstvenih istraživanja usmjeren na otkrivanje novih antifungalnih spojeva među kojima je i ekstrakt korijena sladića koji pokazuje značajnu antifungalnu aktivnost spram gljivice *Candida albicans* (Anagha i sur., 2014).

*Candida albicans* je gljivica kvasnica koja je i inače prisutna na koži i sluznicama kod čovjeka u ograničenoj i bezopasnoj količini (slika 15.). Međutim, kod poremećenih uvjeta vlage i temperature te poremećenih mehanizama obrane imunskog sustava, koji predstavljaju idealne uvjete za njezin rast, ona se razvija u većem broju i uzrokuje neugodne simptome, poput svrbeži, peckanja, iscjedaka i sl. Najčešće se pojavljuje u naborima kože i između prstiju, na penisu te u području vagine (Ivančević, 2000).



Slika 15. *Candida albicans* (Web 11.)

U žena ova gljivica često uzrokuje vulvovaginalnu kandidijazu, a istraživanjem je utvrđena antifungalna aktivnost 18 $\beta$ -gliciretinske kiseline. U *in vitro* uvjetima, utvrđena je redukcija rasta gljivice *Candida albicans*, a navedeni mehanizam inhibicije nije povezan s mijenjanjem pH vrijednosti te nisu zabilježene nikakve nuspojave (Pellati i sur., 2009).

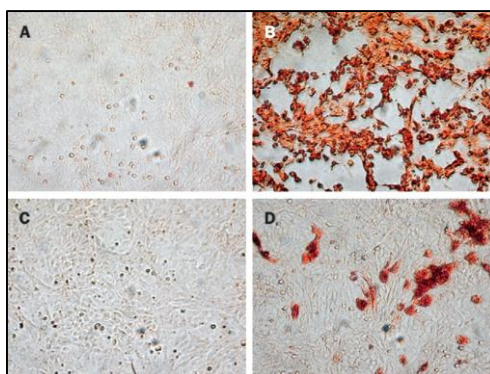
Ova je gljivica također i dio oralne mikroflore gdje se također može razmnožiti u prekomjernom broju. Ima sposobnost stvaranja biofilmova kao i prijelaza iz oblika kvasaca (kuglaste nakupine) u nitaste (filamentozne) oblike. Antifungalna je aktivnost ispitivana glabridinu, likokalkonu A i glicirizinu iz korijena sladića, a jedino glabridin i likokalkon A pokazuju pozitivnu antifungalnu aktivnost, dok to nije slučaj s glicirizinom. Glabridin i likokalkon A zajednički djeluju s antimikotikom nistatinom. Čak i pri manjim koncentracijama, likokalkon A sprječava formiranje biofilma koji predstavlja početak razvoja bolesti pa iz toga razloga predstavlja značajno saznanje u unaprijeđenju terapije. Isto tako, likokalkon A i

glabridin spriječavaju formiranje nitastih oblika ove gljivice, a učinak je još i veći kada likokalkon A djeluje sam, bez glabridina. Prijelaz iz oblika nalik kuglastim nakupinama kvasaca u nitasti oblik smatra se ključnim korakom u formiranju biofilma i razvoju bolesti (Messier i Grenier, 2011).

#### **2.4. Antiviralna i ostala ljekovita svojstva sladića**

Ni virusne bolesti nisu zaobiđene kada je u pitanju djelovanje bioaktivnih tvari iz korijena sladića na pojedine faze replikacijskog ciklusa virusa. Dokazana antiviralna svojstva posredovana su djelovanjem glicirizina i gliciretinične kiseline. Trenutna se istraživanja uglavnom baziraju na proučavanju djelovanja glicirizina, koji se u crijevu prevodi u gliciretiničnu kiselinu, jer oba spoja ne daju iste rezultate u uvjetima *in vitro* (Braun i Cohen, 2007). Dosadašnji eksperimenti dokazali su djelovanje ekstrakta korijena sladića na SARS koronavirus, virus hepatitisa C (HCV), HIV, virus influence (gripe) i Epstein-Barrov virus.

SARS koronavirus (engl. *severe acute respiratory syndrome*) uzročnik je bolesti koja se naziva teški akutni respiratorni sindrom. To je infektivna virusna bolest koja se širi kapljičnim putem, a simptomi su slični onima kod gripe, no može dovesti do teške respiratorne insuficijencije (Ivančević, 2000). Pripada porodici virusa *Coronaviridae*, posjeduje RNA te je ovijen ovojnicom. U znanstvenom je istraživanju testirana antiviralna aktivnost glicirizina protiv dvaju izolata koronavirusa – FFM-1 i FFM-2. Dokazano je da glicirizin inhibira adsorpciju i penetraciju virusa u ranim stadijima replikacijskog ciklusa. Nadalje, pokazuje manju učinkovitost kada se dodaje tijekom faze adsorpcije u odnosu na vrijeme nakon adsorpcije, a djelovanje je glicirizina najveće ukoliko se dodaje i tijekom i nakon adsorpcije virusa. Također, utvrđena je daleko manja ekspresija virusnih antigena u kulturi Vero stanica (stanice izolirane iz želuca afričkog zelenog majmuna (*Cercopithecus aethiops*)) koja je tretirana glicirizinom u odnosu na kulturu kontrolnih stanica. Visoke koncentracije glicirizina u potpunosti blokiraju replikaciju virusa (slika 16.). Složeni mehanizam antiviralnog djelovanja glicirizina protiv SARS koronavirusa još je uvijek nejasan (Cinatl i sur., 2003).



Slika 16. Utjecaj glicirizina na replikaciju SARS koronavirusa u kulturi Vero stanica (A – kontrolne stanice, B – inficirane stanice bez tretmana glicirizinom, C – inficirane stanice tretirane većom dozom glicirizina, D – inficirane stanice tretirane manjom dozom glicirizina) (Cinatl i sur., 2003)

Oko 3 % svjetske populacije zaraženo je virusom hepatitisa C (HCV) koji predstavlja jednu od najčešćih bolesti jetre u ljudi diljem svijeta. Zaraza ovim virusom očituje se kroz oboljenja jetre kao što su ciroza ili hepatocelularni karcinom (Ivančević, 2000). HCV je RNA virus koji pripada porodici virusa *Flaviviridae*. Odlikuje ga 6 značajnijih genotipova i oko 100 podtipova u ovisnosti o geografskoj distribuciji virusa. Sadašnja terapija uključuje kombinaciju visoke doze interferona alfa (IFN- $\alpha$ ) s ribavirinom (Rib), a kod čak 75 % oboljelih nema značajnije koristi od navedene terapije zbog niza nuspojava i visoke cijene. Isto tako, ne postoji cijepljenje za prevenciju zaraze HCV-om. Iz navedenih razloga, pomoć se traži među ljekovitim biljkama poput sladića. Mete potencijalnih antiviralnih pripravaka su proteini koji se povezuju s ovim virusom, među kojima se ističe onaj (engl. *HCV Core protein*) koji regulira transkripciju gena, proliferaciju stanica, staničnu smrt i signalizaciju. Taj protein potiče ekspresiju gena za ciklooksigenazu-2 što je, između ostalog, povezano s razvojem karcinoma jetre. Dokazano je da glicirizin inhibira ekspresiju gena HCV-a poput interferona alfa 2a (Ashfaq i sur., 2011).

Sindrom stečene imunodeficijencije ili SIDA (engl. *acquired immunodeficiency syndrom – AIDS*) virusna je bolest koja nastaje infekcijom virusa ljudske imunodeficijencije – HIV-om. HIV je kuglastog oblika, simetrije ikozaedra, obavija ga dvoslojna lipidna ovojnica na kojoj se nalaze izdanci (Presečki i sur., 2002). To je virus koji napada limfocite uzrokujući oštećenje stanične imunosti pri čemu je rizik od oboljevanja od neke infektivne bolesti ili čak tumora vrlo visok. Istraživanja iz 1989. potvrdila su da intravenozna primjena glicirizina može reducirati replikaciju HIV-a, a uz visoke doze postaje više učinkovit u redukciji p24 antigena HIV-a i povećanju broja limfocita (Hattori i sur., 1989). *In vitro* studija dokazala je potencijal

glicirizina u inhibiciji replikacije virusa u kulturi mononuklearnih stanica periferalne krvi uzetih iz HIV pozitivnih pacijenata (Sasaki i sur., 2003).

Porodica virusa *Orthomyxoviridae* otkriva tri roda virusa influence (gripe): Influenzavirus A, B i C. Virus influence je RNA virus, a jedinstven je po tome što može uzrokovati globalne pandemije akutne dišne bolesti, a to je omogućeno održavanjem virusa među životinjama te vrlo čestim i nepredvidivim antigenskim izmjenama. Zbog razdijeljenog genoma, virus influence A podliježe čestim rekombinacijama (Presečki i sur., 2002), a cijepljenje se provodi svake godine novim cjepivom. Istraživanje provedeno na miševima s doziranim letalnim dozama virusa influence A<sub>2</sub> pokazalo je da glicirizin posjeduje antiviralna svojstva, a očituju se kroz povećanu stopu preživljavanja miševa, inhibiciju rasta virusa u plućnom tkivu i redukciju plućnih smetnji. Opisana se antiviralna svojstva glicirizina ostvaruju kroz stimulaciju nastajanja interferona gama (IFN- $\gamma$ ) koji posjeduje antiviralnu aktivnost, a produciraju ga T-stanice imunološkog sustava (Utsunomiya i sur., 1997).

Epstein-Barrov virus (EBV), DNA virus iz porodice *Herpesviridae* otkriven 1964. godine, najpoznatiji je po infektivnoj mononukleozu koja se očituje vrućicom, slabošću, izraženim umorom, upalom ždrijela i povišenim vrijednostima jetrenih enzima. Učinak se glicirizina očituje kroz inhibiciju replikacije EBV-a i to tako da djeluje u ranoj fazi replikacijskog ciklusa, najvjerojatnije u fazi penetracije virusa (Lin, 2003).

U zaključku, valja naglasiti još neka ljekovita svojstva korijena sladića. Biljka je to koja se uvelike koristila tijekom povijesti medicine kao biljni izvor bioaktivnih tvari ključnih u liječenju brojnih bolesti, ali ujedno i kao začinska biljka i zaslađivač. Tako, visoka razina fenola u korijenu sladića osigurava učinkovitu antioksidativnu aktivnost u borbi sa slobodnim radikalima. Flavonoidi sladića pokazuju i do 100 puta veću antioksidativnu aktivnost od vitamina E. Navedeno upućuje na moguću upotrebu ekstrakta korijena sladića u kozmetičkim proizvodima za zaštitu kože i kose uslijed oksidativnog oštećenja. Istraživanja su dokazala i antiupalna svojstva glicirizina koja se uspoređuju s istim efektom glukokortikoida i mineralokortikoida inhibirajući faktore odgovorne za upalne procese. S druge strane, likokalkon A iz korijena sladića ima antimalarična svojstva. Stimulacija imunskog sustava očituje se kroz povećanje produkcije TCD69 limfocita i makrofaga ključnih u imunološkim reakcijama. U istraživanju provedenom s miševima, čak su utvrđena i pozitivna svojstva sladića u učenju i pamćenju, no točan mehanizam djelovanja i dalje je nepoznat i zahtijeva buduća istraživanja (Damle, 2014).

### 3. ZAKLJUČAK

Rezultati brojnih dosadašnjih istraživanja s ispitivanjem antimikrobnih učinaka otkrivaju ključne antibakterijske, antifungalne kao i antiviralne aktivnosti ekstrakta korijena sladića. Pozitivan se učinak u borbi s uzročnicima najrazličitijih bakterijskih, gljivičnih i virusnih infekcija pripisuje bioaktivnim tvarima izoliranim iz korijena sladića, među kojima se svakako ističu glicirizin i glabridin, a nezanemarivi su i drugi sekundarni metaboliti u sastavu korijena.

Antibakterijska svojstva dokazana su na velikom broju bakterijskih sojeva među kojima su i bakterije uzročnici jednih od najpoznatijih bakterijskih bolesti poput tuberkuloze, zubnog karijesa i ostalih oralnih infekcija, infekcija kože i unutarnjih tkiva uslijed opeklina, gastritisa i sl. Protiv gljivičnih infekcija, kakva je kandidijaza koju uzrokuje gljivica *Candida albicans*, dokazane su antifungalne aktivnosti ekstrakta korijena, a antiviralna je aktivnost uočena kod virusnih bolesti poput teškog akutnog respiratornog sindroma, hepatitisa C, SIDA-e, influence (gripe) i infektivne mononukleoze.

Sastav korijena sladića, međutim, nosi i brojna druga svojstva pa mu se tako pripisuju antiupalna i antioksidativna svojstva. Manjkavosti dosadašnjih istraživanja u vidu nepoznatih i neobjašnjenih složenih mehanizama djelovanja bioaktivnih tvari predstavljaju dodatnu potrebu sličnih istraživanja i u budućnosti koja će razjasniti nepoznate faze u djelovanju i liječenju, a čiji bi rezultati i saznanja mogla dovesti do redukcije upotrebe lijekova, kao što su antibiotici. Lijekovi katkad ne ispunjavaju očekivanja, cijene su nekih od njih izrazito visoke, a neoprezno korištenje antibiotika često dovodi do stvaranja rezistentnih sojeva bakterija uzročnika bolesti, dok navedeni efekt nije otkriven kod korištenja ljekovitih biljaka. Također, broj je nuspojava, kao rezultat uzimanja lijekova, daleko značajniji i veći, naročito ako se uzme u obzir da nuspojave uglavnom nisu uočene u istraživanju aktivnosti ekstrakta korijena sladića. No, kako je većina dosadašnjih studija izvedena na kulturama stanica, njihove rezultate treba uzeti s oprezom i pomoću budućih istraživanja i testiranja na živim bićima potvrditi njihovu učinkovitost i odrediti bezopasnu i propisanu upotrebu.

#### 4. LITERATURA

Ahmad, I., Beg, A. Z. 2000. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* 74:113-123

Anagha, K., Manasi, D., Priya, L., Meera, M. 2014. Antimicrobial activity of yashtimadhu (*Glycyrrhiza glabra* L.) - A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(1):329-336

Ashfaq, U. A., Masoud, M. S., Nawaz, Z., Riazuddin, S. 2011. Glycyrrhizin as antiviral agent against hepatitis C virus. *Journal of Translational Medicine* 9:112

Barceloux, D. G. 2008. *Medical toxicology of natural substances*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 1157 pp.

Barnes, J., Anderson, L. A., Phillipson, J. D. 2007. *Herbal medicines*. 3<sup>rd</sup> edition. Pharmaceutical Press, London, 710 pp.

Bascom, A. 2002. *Incorporating herbal medicine into clinical practice*. F.A. Davis Company, Philadelphia, 332 pp.

Braun, L., Cohen, M. 2007. *Herbs & natural supplements - An evidence-based guide*. 2<sup>nd</sup> edition. Elsevier, Australia, 1597 pp.

Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Chandra, P., Rabenau, H., Doerr, H. W. 2003. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *Lancet* 361:2045-46

Damle, M. 2014. *Glycyrrhiza glabra* (Liquorice) - a potent medicinal herb. *International Journal of Herbal Medicine* 2(2):132-136

Fatima, A., Gupta, V. K., Luqman, S., Negi, A. S., Kumar, J. K., Shanker, K., Saikia, D., Srivastava, S., Darokar, M. P., Khanuja, S. P. S. 2009. Antifungal activity of *Glycyrrhiza glabra* extracts and its active constituent glabridin. *Phytotherapy Research* 23:1190-1193

Gupta, V. K., Fatima, A., Faridi, U., Negi, A. S., Shanker, K., Kumar, J. K., Rahuja, N., Luqmana, S., Sisodia, B. S., Saikia, D., Darokar, M. P., Khanuja, S. P. S. 2008. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. *Journal of Ethnopharmacology* 116:377-380

Guyton, A. C., Hall, J. E. 2012. *Medicinska fiziologija – udžbenik*. 12. izdanje. Medicinska naklada, Zagreb, 1089 pp.

Hattori, T., Ikematsu, S., Koito, A., Matsushita, S., Maeda, Y., Hada, M., Fujimaki, M., Takatsuki, K. 1989. Preliminary evidence for inhibitory effect of glycyrrhizin on HIV replication in patients with AIDS. *Antiviral Research* 11:255-262

Ivančević, Ž. 2000. *MSD priručnik dijagnostike i terapije. The Merck Manual, sedamnaesto izdanje. Prvo hrvatsko izdanje*. Placebo d.o.o., Split, 3063 pp.

Kim, D. H., Hong, S. W., Kim, B. T., Bae, E. A., Park, H. Y., Han, M. J. 2000. Biotransformation of glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities. *Archives of Pharmacal Research* 23(2):172-173

Kobayashi, M., Yoshida, T., Takeuchi, D., Jones, V. C., Shigematsu, K., Herndon, D. N., Suzuki, F. 2008. Gr-1<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> cells as an accelerator of sepsis stemming from *Pseudomonas aeruginosa* wound infection in thermally injured mice. *Journal of Leukocyte Biology* 83:1354-1362

Krausse, R., Bielenberg, J., Blaschek, W., Ullmann, U. 2004. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of extractum liquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 54:243-246

Lin, J. C. 2003. Mechanism of action of glycyrrhizic acid in inhibition of Epstein-Barr virus replication in vitro. *Antiviral Research* 59:41-47

Meghashri, S. G. 2009. In vitro antifungal and antibacterial activities of root extract of *Glycyrrhiza Glabra*. *Journal of Applied Sciences Research* 5(10):1436-1439

Messier, C., Grenier, D. 2011. Effect of licorice compounds licochalcone A, glabridin and glycyrrhizic acid on growth and virulence properties of *Candida albicans*. *Mycoses* 54:801-806

More, G., Tshikalange, T. E., Lall, N., Botha, F., Meyer, J. J. M. 2008. Antimicrobial activity of medicinal plants against oral microorganisms. *Journal of Ethnopharmacology* 119:473-477

Nikić, S. 2015. Utjecaj antibiotske rezistencije *Helicobacter pylori* na postojeće eradikacijske metode. *Diplomski rad*. Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Nikolić, T. 2013. *Sistematska botanika – raznolikost i evolucija biljnog svijeta*. Alfa d.d., Zagreb, 872 pp.

- Nitalikar, M. M., Munde, K. C., Dhore, B. V., Shikalgar, S. N. 2010. Studies of antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* root extract. *International Journal of PharmTech Research* 2(1):899-901
- Pellati, D., Fiore, C., Armanini, D., Rassa, M., Bertoloni, G. 2009. In vitro effects of glycyrrhetic acid on the growth of clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytotherapy Research* 23:572-574
- Presečki, V., Mlinarić-Galinović, G., Punda-Polić, V., Lukić, A. 2002. *Virologija*. Medicinska naklada, Zagreb, 343 pp.
- Sasaki, H., Takei, M., Kobayashi, M., Pollard, R. B., Suzuki, F. 2003. Effect of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on HIV replication in cultures of peripheral blood mononuclear cells from HIV-seropositive patients. *Pathobiology* 70:229-236
- Sedighinia, F., Afshar, A. S., Soleimanpour, S., Zarif, R., Asili, J., Ghazvini, K. 2012. Antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* against oral pathogens: an *in vitro* study. *American Journal of Physiology* 2(3):118-124
- Sultana, S., Haque, A., Hamid, K., Urmi, K. F., Roy, S. 2010. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*. *Agriculture and Biology Journal of North America* 1(5):957-960
- Tian, M., Yan, H., Row, K. H. 2008. Extraction of glycyrrhizic acid and glabridin from licorice. *International Journal of Molecular Sciences* 9:571-577
- Utsunomiya, T., Kobayashi, M., Pollard, R. B., Suzuki, F. 1997. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 41(3):551-556
- Wittschier, N., Faller, G., Hensel, A. 2009. Aqueous extracts and polysaccharides from liquorice roots (*Glycyrrhiza glabra* L.) inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *Journal of Ethnopharmacology* 125:218-223
- Yoshida, T., Yoshida, S., Kobayashi, M., Herndon, D. N., Suzuki, F. 2009. Glycyrrhizin restores the impaired production of  $\beta$ -defensins in tissues surrounding the burn area and improves the resistance of burn mice to *Pseudomonas aeruginosa* wound infection. *Journal of Leukocyte Biology* 87:35-41



## Web izvori slikovnih prikaza

- Web 1. <http://pharm1.pharmazie.uni-greifswald.de/allgemei/koehler/koeh-eng.htm>  
(pristupljeno: 18.6.2016.)
- Web 2. <http://nmpb.nic.in/WriteReadData/photogallery/793972948Glycyrrhiza%20glabra.jpg>  
(pristupljeno: 21.7.2016.)
- Web 3. <http://www.kew.org/science-conservation/plants-fungi/glycyrrhiza-glabra-liquorice>  
(pristupljeno: 21.7.2016.)
- Web 4. [http://hosho.ees.hokudai.ac.jp/~tsuyu/top/plt/pea/pea\\_01.png](http://hosho.ees.hokudai.ac.jp/~tsuyu/top/plt/pea/pea_01.png) (pristupljeno:  
18.6.2016.)
- Web 5. <http://www.nswildflora.ca/glossary/Grays/fig217.jpg> (pristupljeno: 21.7.2016.)
- Web 6. <http://www.discoverlife.org/mp/20m?map=Glycyrrhiza+glabra>  
(pristupljeno: 5.8.2016.)
- Web 7. [https://middlepath.com.au/plant/img/Liquorice\\_Licorice\\_Glycyrrhiza-glabra\\_root-detail.jpg](https://middlepath.com.au/plant/img/Liquorice_Licorice_Glycyrrhiza-glabra_root-detail.jpg) (pristupljeno: 21.7.2016.)
- Web 8. <http://www.cariesdental.org/wp-content/uploads/2016/06/caries-dental.jpg>  
(pristupljeno: 6.8.2016.)
- Web 9. <http://www.bodyminddetox.com/h-pylori-the-silent-assassin/> (pristupljeno:  
13.8.2016.)
- Web 10. [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Microbial\\_Infection\\_of\\_Burn\\_Wounds](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Microbial_Infection_of_Burn_Wounds)  
(pristupljeno: 13.8.2016.)
- Web 11. <http://www.candidaalbicans.net/about/is-candida-albicans-always-a-bad-thing/>  
(pristupljeno: 13.8.2016.)