

# Fitokemijska karakterizacija i biološki učinci biljne vrste *Ziziphus jujuba* Mill

---

Srša, Klara

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:163:446821>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-07**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Klara Srša**

**Fitokemijska karakterizacija i biološki učinci  
biljne vrste *Ziziphus jujuba* Mill.**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Maje Bival Štefan.

*Najiskrenije se zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Maji Bival Štefan što mi je dodijelila ovu temu te me svojim stručnim savjetima vodila i pomagala mi tijekom izrade ovog rada.*

*Moje zahvale idu i mojim kolegicama (Ani, Josipi i Neli), i prijateljicama (Karin, Rebeki, Sari i cimerici Sari) za svaku potporu i motivaciju kad je bilo teško i za sve zajedničke trenutke. Uz vas su mi studentski dani bili ljepši!*

*Od srca se zahvaljujem svojim roditeljima i sestri Raheli na neizmjernoj podršci, utjehi, ohrabrenju, molitvama i vjeri u mene tijekom svih godina studiranja, ali i njihovoj bezuvjetnoj ljubavi koja me uvijek prati.*

*Na kraju, posebne zahvale idu mome Nikoli za pruženu ljubav, svaku riječ potpore, strpljenje i razumijevanje za moje obaveze te veselje zbog mojih uspjeha.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Botanička obilježja biljne vrste <i>Ziziphus jujuba</i> Mill., Rhamnaceae .....	2
1.2. Primjena biljne vrste u tradicionalnoj medicini.....	3
1.3. Bioaktivne sastavnice biljne vrste .....	4
1.3.1. Triterpenske kiseline .....	5
1.3.2. Saponini .....	6
1.3.3. Alkaloidi .....	7
1.3.4. Flavonoidi .....	8
1.3.5. Jednostavni fenoli .....	8
1.3.6. Polisaharidi .....	9
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	11
3. MATERIJALI I METODE .....	13
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	15
4.1. Biološki učinci biljne vrste .....	16
4.1.1. Antioksidativni učinak .....	16
4.1.2. Protuupalni učinak .....	18
4.1.3. Antikancerogeni i citotoksični učinak .....	19
4.1.4. Antimikrobni učinak .....	23
4.1.5. Anksiolitički i sedativni učinak .....	25
4.1.6. Neuroprotektivni učinak .....	28
4.1.7. Učinak na kardiovaskularni sustav .....	31
4.1.8. Hepatoprotektivni učinak.....	32
4.1.9. Učinak na gastrointestinalni trakt .....	33
4.1.11. Učinak na zacjeljivanje rana .....	35
4.1.12. Ostali učinci .....	35
4.2. Klinička ispitivanja.....	37

4.2.1. Plod biljne vrste <i>Z. jujuba</i> .....	37
4.2.2. Sjemenka biljne vrste <i>Z. jujuba</i> .....	39
5. ZAKLJUČCI.....	41
6. LITERATURA .....	43
7. SAŽETAK/SUMMARY.....	49
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD	

# **1. UVOD**

Ljudi od davnina obolijevaju od mnogih bolesti. Neke uspješno liječe, a za neke još i danas nema djelotvornog lijeka. Zato se uvijek traga za novim lijekovima, a jedan od mogućih izvora lijekova su ljekovite biljne vrste (Hossain, 2019).

Biljna vrsta *Ziziphus jujuba* Mill. čiji je plod poznat kao žižula, kineska datulja, crvena datulja ili „plod života“ potencijalni je izvor bioaktivnih molekula za liječenje i prevenciju određenih bolesti. Već se tisućama godina koristi u prehranbene svrhe, ali i kao tradicionalni biljni lijek u Kini gdje je plod te biljne vrste smatran jednim od pet najvrjednijih plodova, a zbog svojih blagodati počela se konzumirati i u drugim dijelovima svijeta (Chen i sur., 2017; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017). Također se sve više uzgaja i u Hrvatskoj, najviše na sjeveru Jadrana (Istra), a zbog povoljnih ekoloških uvjeta od uzgoja kao ukrasnog bilja u privatnim vrtovima, ide se na sve veće razmjere (Miklavčić Višnjevec i sur., 2018).

### **1.1. Botanička obilježja biljne vrste *Ziziphus jujuba* Mill., Rhamnaceae**

*Ziziphus jujuba* Mill. jedna je od najpoznatijih vrsta roda *Ziziphus* biljne porodice Rhamnaceae, a pripada skupini dvosupnica (Dicotyledoneae). To je listopadno drvo koje može narasti relativno visoko, do približno 8-12 metara visine. Kora je sivo-smeđa ili smeđa, a na granama se nalaze bodlje – duge i uspravne, ali i kratke. Listovi su ovalnog oblika s peteljka koje rijetko mogu biti prekrivene sitnim dlačicama, a poredani su naizmjenično. Gornja strana lista je tamnozeleno, a donja svijetlozeleno boje, a izražene su tri paralelne lisne žile. Dvospolni cvjetovi imaju žutozeleno jajolike latice i pentamerni su, a stapka je duljine do 3 mm. Lapovi su duguljasti, crvene do crveno-ljubičaste boje. Plod ove vrste je zelene boje kada je nezreo, a crveno-smeđe pa do ljubičasto-crne kada je zreo, oblika je datulje i slatkasto-kiselog je okusa. Sjemenke su spljoštene i orbikularne. Iako ova biljna vrsta najčešće raste u suhim i polusuhim područjima te podnosi širok raspon temperatura, za stvaranje plodova treba joj dovoljna količina vode (Liu i sur., 2020; Hossain, 2019; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Hamedi i sur., 2015).



**Slika 1.** Botanička obilježja *Ziziphus jujuba* Mill. (<http://dbiodbs.units.it>)

## 1.2. Primjena biljne vrste u tradicionalnoj medicini

Ova se biljna vrsta tradicionalno primjenjuje u medicini, najviše kineskoj, već dugi niz godina u ublažavanju simptoma i za liječenje mnogih bolesti, kako akutnih, tako i kroničnih.

**Plod** žižule se primjenjuje za liječenje problema sa srcem, kod nedostatka slezene, za toniziranje slezene i želuca, za uklanjanje želučanih i crijevnih patogena, za povećanje apetita, kod proljeva, za suzbijanje kašlja, u liječenju tuberkuloze, kao afrodisijak, za smirivanje uma i vraćanje snage te smanjenje umora. Zabilježeno je da se dekolti ili infuzi mogu koristiti kod hepatitisa i kod liječenja novorođenačke žutice, ali i općenito u jačanju funkcija jetre, dok se ekstrakti ploda koriste čak u liječenju raka dojke, kao sedativi ili u terapiji artritisa. Shi Zao Decoction je tradicionalna kineska formula u kojoj se plod žižule koristi kao protuotrov za smirivanje upalne reakcije izazvane *Euphorbia* vrstama, a neke indijske zajednice koriste plod u liječenju dijabetesa (El Maaiden i sur., 2020; Liu i sur., 2020; Hossain, 2019; Tahergorabi i sur., 2015; Gao i sur., 2013; Ebrahimi i sur., 2011; Suttisri i sur., 1995).

**Sjemenka** je korisna u detoksikaciji, liječenju očnih bolesti, zacjeljivanju rana i liječenju ulceroznog gingivitisa. Budući da je gorkog okusa, najčešće se primjenjuje lokalno u obliku praška. Sjemenka vrste *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* je među najpopularnijim kineskim



tradicionalnim biljnim lijekovima, a još se naziva i Suan Zao Ren (Liu i sur., 2020; Hossain, 2019; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

**List** je slatkastog okusa i većinom se primjenjuje za detoksikaciju ili kao antipiretik (često u djece), ali je koristan i u liječenju čireva, atletskog stopala, pretilosti, urinarnih infekcija, osipa uzrokovanog znojenjem i opekline. Isto se može pripremiti dekokt s vodom koji se primjenjuje oralno (Liu i sur., 2020; Hossain, 2019; Suttisri i sur., 1995).

**Kora** ove biljne vrste također ima značajnu primjenu u tradicionalnoj medicini. Zabilježeno je da ublažuje proljev i poboljšava oporavak crijeva, djeluje na abnormalnosti u menstrualnim krvarenjima i smanjuje kašalj. Neka plemena koriste koru kao oblik kontracepcijskog sredstva. Može se primijeniti oralno kao dekokt praška s vodom ili izravno kao smjesa praška i vode. Ako se koristi u liječenju opekline ili drugih ozljeda kože, primjenjuje se lokalno u obliku dekokta ili praška (El Maaiden i sur. 2020; Liu i sur., 2020).

**Korijen** žižule također se koristi kod menstrualnih tegoba, u ublažavanju boli, u liječenju neplodnosti, kod nedostatka slezene te u liječenju rubeole i erizipela. Budući da je slatkastog okusa, može se primijeniti oralno u obliku dekokta, ali i lokalno, ovisno o indikacijama (Liu i sur., 2020).

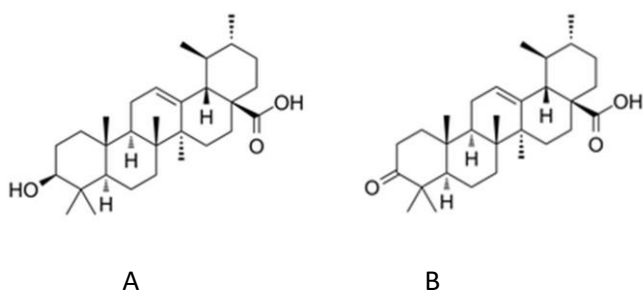
Zabilježeno je da se **cijela biljka** koristi u liječenju anemije, raznih poremećaja živčanog sustava i hipertonije (Suttisri i sur., 1995).

### **1.3. Bioaktivne sastavnice biljne vrste**

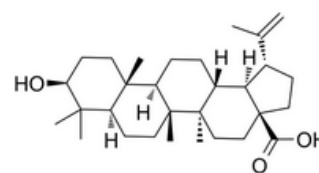
Budući da su u tradicionalnoj primjeni zastupljeni gotovo svi dijelovi biljne vrste, očito je da su biološki aktivni spojevi raspoređeni u svim biljnim dijelovima. No, točan kemijski sastav ovisi o dijelu biljke, sorti i okolišnim uvjetima (područje rasta, prisutnost vode, hranjivih tvari). Iako je takvih spojeva u ovoj biljnoj vrsti puno, najveći farmakološki učinak pokazuju triterpenske kiseline, saponini, alkaloidi, flavonoidi i jednostavni fenoli (Liu i sur., 2020).

### 1.3.1. Triterpenske kiseline

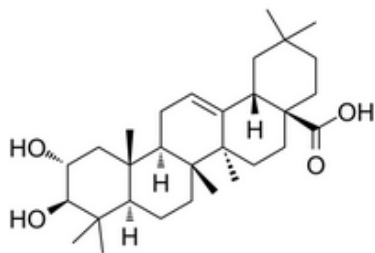
U biljnoj vrsti *Z. jujuba* identificirano je pedeset i pet triterpenskih kiselina pentacikličke strukture, i to najviše ceanotanskog i lupanskog tipa, a nešto manje ursanskog i oleananskog. Kao jedne od najvažnijih komponenti ove biljne vrste nalaze se u plodu, korijenu i kori korijena, listu i sjemenci. Nekima od njih se pripisuju antikancerogena svojstva (posebice onima lupanskog tipa, a najvjerojatnije zbog prisutnosti kumaroilnog dijela na C-3) i djelovanje na virus HIV-a. U plodu se nalaze triterpeni oleananskog tipa sa C-3 vezanom hidroksilnom skupinom i C-28 vezanom karboksilnom skupinom koji se povezuju s protuupalnim učincima, dok ursolna i betulinska kiselina (Slika 3) imaju antikancerogeni učinak. Ursonska kiselina također se koristi u pomoćnoj terapiji karcinoma, a od ursolne se razlikuje po tome što, umjesto  $\beta$ -hidroksilne skupine, sadrži keto skupinu na položaju C-3 zbog čega se malo i razlikuje u biološkim učincima (Slika 2). Maslinska kiselina (Slika 4), predstavnik oleananskog tipa triterpenskih kiselina, pokazuje hepatoprotektivnu aktivnost. Triterpeni ceanotanskog i lupanskog tipa izolirani iz kore stabljike pokazuju jaku aktivnost protiv hepatocelularnog karcinoma bez da previše oštećuju ostale stanice jetre. Betulinska i oleanolna kiselina su najvažnije aktivne komponente ploda *Z. jujuba* pa se upravo one koriste kao pokazatelji kvalitete ploda ili nekih pripravaka dobivenih od ploda (Liu i sur., 2020; Rangarajan i sur., 2020; Son i Lee, 2020).



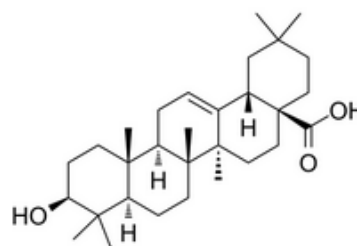
**Slika 2.** Razlika u kemijskim strukturama između ursolne (A) i ursonske kiseline (B) (www.medchemexpress.com)



**Slika 3.** Kemijska struktura betulinske kiseline (www.medchemexpress.com)



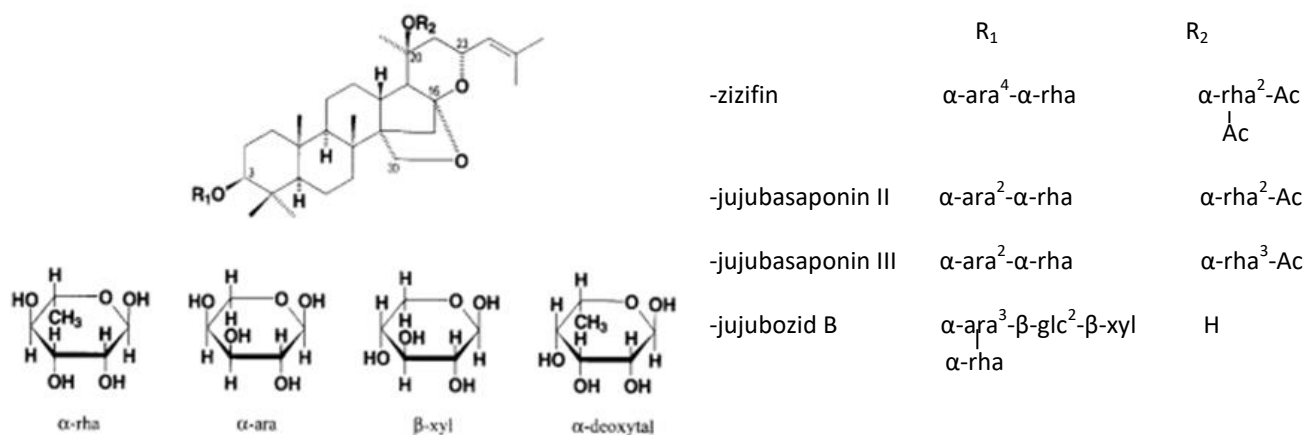
**Slika 4.** Kemijska struktura maslinske kiseline  
(www.medchemexpress.com)



**Slika 5.** Kemijska struktura  
oleanolne kiseline  
(www.medchemexpress.com)

### 1.3.2. Saponini

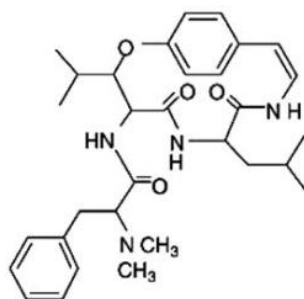
Dvadeset i šest spojeva ove skupine je identificirano u listu biljne vrste *Z. jujuba*, dok se jedan od njih (jujubozid B, Slika 7) nalazi u plodu. Po strukturi su najčešće triterpenski saponini damaranskog tipa i mogu imati najčešće C-3 i C-20 vezane glikozilne jedinice koje se mogu sastojati od D-glukoze, D-galaktoze, L-6-deoksi-taloze, L-ramnoze, L-arabinoze, D-ksiloze i acetil-ramnoze. Neki od njih, između kojih je i jujubozid B koji je prisutan i u plodu, inhibiraju slatki okus. U listovima je zizifin najpoznatiji inhibitor slatkog okusa aspartama, natrijeva saharina, steviozida, naringina dihidrohalkona, glicina, D-glukoze i D-fruktoze. Zizifin, jujubasaponin II i III (Slika 7) koji su također izolirani iz lista imaju acilne skupine u strukturama i zbog toga najveću mogućnost inhibiranja slatkog okusa. Iz sjemenki ove biljne vrste izolirani su jujubozid A i jujubozid B, glavne komponente jujubogeninskog tipa, koji pokazuju anksiolitički, sedativni i hipnotski učinak te pozitivni učinak na učenje i memoriju, a sam jujubozid A još djeluje pozitivno na neuronska oštećenja (Liu i sur., 2020; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Suttisri i sur., 1995).



**Slika 7.** Kemijske strukture nekih saponina  
(Suttisri i sur., 1995)

### 1.3.3. Alkaloidi

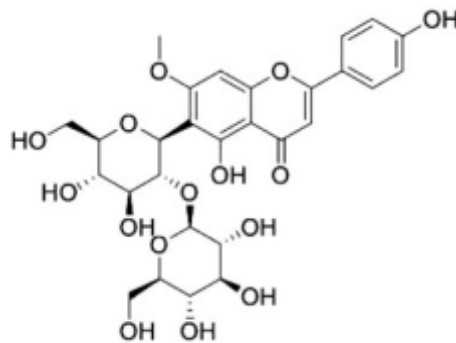
U ovoj je biljnoj vrsti identificirano trideset i sedam alkaloida, a najviše ih je prisutno u kori stabljike i korijena, no ima ih i u listu, i u sjemenci. Po strukturi su to najčešće ciklopeptidni i aporfinski alkaloidi. Neki od njih se mogu koristiti kao markeri roda *Ziziphus*. Jubanin F-J, frangulanin i adouetin X su ciklopeptidni i nalaze se u kori korijena te imaju sedativni učinak. Ciklopeptidni alkaloid sanjoinin A izoliran iz sjemenke pokazuje anksiolitički, sedativni i hipnotski učinak. Također, alkaloidi uspješno uklanjaju slobodne radikale (Liu i sur., 2020; Rangarajan i sur., 2020; Sušanjan i sur., 2020).



**Slika 8.** Kemijska struktura sanjoinina A  
(Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017)

### 1.3.4. Flavonoidi

Trideset i sedam flavonoida je identificirano u biljnoj vrsti *Z. jujuba* od kojih je najviše flavonola prisutno u plodu i listu, a jedan u sjemenci biljne vrste. Flavanoni su prisutni u plodu, flavona najviše ima u sjemenci, no prisutni su i u listu, i u plodu, dok flavan-3-ola ima u plodu, listu i korijenu. Za flavone spinozin i svertiš ustanovljeno je da imaju sedativni učinak, a epigalokatehin, galokatehin, spinozin, 6'''-feruloilspinozin i 6'''-sinapoilspinozin iz sjemenke imaju protuupalna svojstva. Spinozinu se još pripisuje učinak na učenje i memoriju. Plodu se pripisuje neuroprotektivni učinak upravo zbog flavonoida koje sadrži – kemferol 3-O-rutinozid, kvercetin 3-O-rutinozid, (-)-katehin, (-)-epikatehin, svertiš i spinozin. Općenito se flavonoidi ne mogu koristiti kao markeri biljne vrste ili roda jer su prisutni u većini biljnih vrsta (Liu i sur., 2020; Chen i sur., 2017).



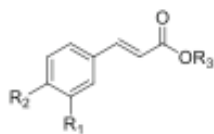
**Slika 9.** Kemijska struktura spinozina

(Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017)

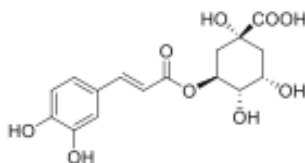
### 1.3.5. Jednostavni fenoli

U ovoj biljnoj vrsti je izolirano i identificirano četrnaest fenola – šest benzojevih kiselina, pet hidroksicimetnih kiselina, dva benzaldehida i jedan trihidroksibenzen. Svi se nalaze u plodu, dok se u sjemenci nalaze hidroksicimetne i neke benzojeve kiseline, a u listu dvije hidroksicimetne, jedna benzojeva kiselina i jedan od benzaldehida. Plodu se često pripisuju antioksidativna svojstva, a osim vitamina C, tom učinku doprinose i fenoli, no sušenjem ploda značajno se smanjuje količina vitamina C i fenola pa i njegov antioksidacijski potencijal pada (Liu i sur., 2020).

#### The hydroxycinnamic acids

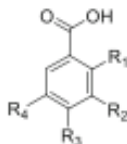


- 167 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=OH R<sub>3</sub>=H  
 168 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=H R<sub>3</sub>=H  
 169 R<sub>1</sub>=OH R<sub>2</sub>=OH R<sub>3</sub>=H  
 170 R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=OH R<sub>3</sub>=H



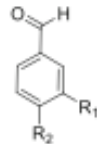
171

#### The benzoic acids(The hydroxybenzoic acids)



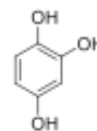
- 172 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=H R<sub>3</sub>=OH R<sub>4</sub>=H  
 173 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=H R<sub>3</sub>=OH R<sub>4</sub>=OH  
 174 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=OH R<sub>3</sub>=OH R<sub>4</sub>=OH  
 175 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub> R<sub>3</sub>=OH R<sub>4</sub>=H  
 176 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=H R<sub>3</sub>=H R<sub>4</sub>=H  
 177 R<sub>1</sub>=OH R<sub>2</sub>=H R<sub>3</sub>=H R<sub>4</sub>=H

#### The benzaldehydes



- 178 R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=OH  
 179 R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=OH

#### The trihydroxybenzene

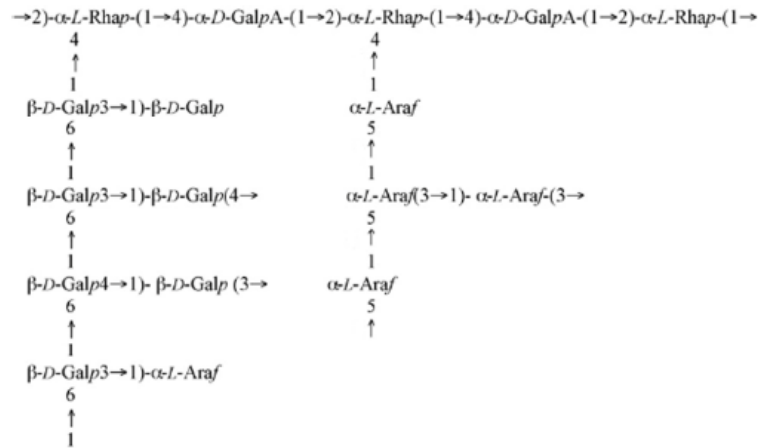


180

Slika 10. Kemijske strukture jednostavnih fenola (Liu i sur., 2020)

### 1.3.6. Polisaharidi

Ugljikohidrati su skupina spojeva koji čine najveći udio ploda žižule, a koji može biti i preko 80%, no količina ne ovisi o stupnju zrelosti ploda niti o procesu sušenja. U velikim količinama su prisutni neutralni i kiseli polisaharidi čije sastavne jedinice mogu biti ramnoza, arabinoza, ksiloza, manoz, galaktoza, glukoza i galaktouronska kiselina. Polisaharidi djeluju hepatoprotektivno, antikancerogeno, hipoglikemijski, protuupalno i imunomodulatorno te imaju zaštitni učinak u gastrointestinalnom traktu. I kiseli, i neutralni polisaharidi pokazuju antioksidacijski potencijal te učinkovitije uklanjaju superoksidne anione od hidroksilnih radikala, dok kiseli polisaharidi jako dobro keliraju ion željeza (Sušanji i sur., 2020; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Jiao i sur., 2016; Xie i sur., 2016; Chang i sur., 2010).



**Slika 11.** Shematska struktura jednog polisaharida (neutralni polisaharid izoliran iz *Ziziphus jujuba* cv. *Shanbeitanzao* (ZSP)) (Ji i sur., 2017)

Osim ovih glavnih spojeva, u biljnoj vrsti se mogu naći i steroli, glikozidi, nukleozidi, aminokiseline (osam njih su esencijalne, a posebno su arginin i histidin važne za djecu jer ih ne mogu sintetizirati), saharidi i ostali. Masne kiseline su prisutne u sjemenci pa se koriste u poticanju rasta kose, a plod je bogat linolnom kiselinom koju čovjek ne može sintetizirati. Plod žižule je jako bogat vitaminima A i B, dok je količina vitamina C u svježem plodu 70-80 puta veća od one u jabuci, a i ima ga više i od šipka, i agruma pa se često plod naziva i „prirodnom vitaminskom pilulom“. U plodu su prisutni i ciklički nukleotidi, posebno cAMP koji pokazuje neuroprotektivne učinke te sudjeluje u diferencijaciji neurona. Sadrži i dosta dijetalnih vlakana te fruktozu čime se utječe na probavu i neposredno na regulaciju šećera u krvi (Liu i sur., 2020; Sušanjanj i sur., 2020; Chen i sur., 2017).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**



Žižula je biljna vrsta porijeklom iz Kine pri čemu se njen plod, ali i ostali dijelovi biljne vrste koriste dugi niz godina u tradicionalnoj kineskoj medicini. Njezin uzgoj započeo je i u drugim dijelovima svijeta pa tako i u Hrvatskoj. Broj fitopreparata dostupnih u ljekarnama i trgovinama zdravom prehranom koji sadrže žižulu u stalnom je porastu. Iako je žižula dobro poznata ljekovita biljka tradicionalne kineske medicine, biološki učinci nisu u potpunosti ispitani. Brojna znanstvena istraživanja imaju za cilj objasniti mehanizam djelovanja ove biljne vrste te potvrditi terapijsku učinkovitost kliničkim studijama.

Stoga je svrha ovog diplomskog rada prikupiti literaturne podatke i napraviti pregled bioloških učinaka ove zanimljive biljne vrste, navesti opisane mehanizme djelovanja i indikacije potvrđene kliničkim studijama.

### **3. MATERIJALI I METODE**

Prilikom izrade ovog diplomskog rada provedeno je teorijsko istraživanje koje je uključivalo detaljno pretraživanje baza podataka (ScienceDirect, Scopus, Hrčak, PubMed, Web of Science, EMA), pregledavanje znanstvene i stručne literature te relevantnih internetskih stranica. Ključne riječi korištene u pretraživanjima su *Ziziphus jujuba*, biološki učinci (protuupalni učinak, antikancerogeni, neuroprotektivni, antimikrobni učinak itd.) i kliničke studije.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4.1. Biološki učinci biljne vrste

Mnoge blagodatne biljne vrste *Z. jujuba* prikazane su kroz tradicionalnu primjenu u narodnoj medicini pa da bi se one što bolje iskoristile, započela su istraživanja koja uključuju in vitro studije i studije na životinjskim modelima. Iako su kliničke studije malobrojne, sve je više znanstvenih radova koji potvrđuju različite učinke ove biljne vrste te objašnjavaju mehanizam djelovanja (Liu i sur., 2020).

### 4.1.1. Antioksidativni učinak

Istraživanje pokazuje da polisaharidi (neutralni polisaharidi izolirani iz *Ziziphus jujuba cv. Shanbeitanzao* (ZSP)) žižule imaju određenu antioksidativnu aktivnost što je procijenjeno pomoću DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala, hidroksilnog radikala i superoksidnog aniona. Učinak uklanjanja tih radikala ovisi o primijenjenoj dozi, a za dozu od 200 µg/mL iznosi 79,2% za DPPH radikal, a 50,6% za hidroksilni radikal. Napravljena je i usporedba triju frakcija polisaharida ZSP1b, ZSP2 i ASP3C te je najmanju aktivnost imala frakcija ASP3C što je vrlo vjerojatno povezano sa strukturom (Ji i sur., 2017). Chang i sur. odvojili su monosaharide iz polisaharidnih frakcija i zaključili da preko 80% sadržaja kisele polisaharidne frakcije čini galakturonska kiselina, a primijetili su da sadržaj uronske kiseline izravno utječe na antioksidativnu aktivnost (Chang i sur., 2010). Što je njezin sadržaj veći, proporcionalno je jači i antioksidacijski učinak (Gao i sur., 2013). Kisele polisaharidne frakcije su te koje štite DNA od oštećenja pa bi plod biljne vrste bogat polisaharidima mogao štiti ljude od upalnih reakcija i starenja izazvanih ROS-om (reaktivnim kisikovim vrstama) (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017). Međutim, uklanjanje prevelikih količina ROS-a može dovesti do poremećaja u signalnim putevima stanica, a samim time i do rizika od nekih kroničnih poremećaja i bolesti (Gao i sur., 2013).

Kako je neuropatija jedna od mogućih posljedica oboljelih od dijabetesa, a oksidativni stres je glavni čimbenik razvoja te neuropatije, provedeno je ispitivanje na PC12 stanicama koje su tretirane glukozom. Suhim ekstraktom iz prethodnog vodenog ekstrakta pulpe ploda žižule (700 mg/1,5 L) u dozi od 10 mg/mL fiziološke otopine puferirane fosfatom (PBS) smanjilo se stvaranje ROS-a izazvano glukozom te aktivacija kaspaze-3 koja je također bila inducirana glukozom, a koja dovodi do apoptoze stanica (Kaeidi i sur., 2015). Još jedno istraživanje je pokazalo da su kod štakora tretiranih vodenoalkoholnim ekstraktom ploda *Z. jujuba* nakon napada epilepsije izmjerene niže vrijednosti malondialdehida, markera lipidne peroksidacije, a više vrijednosti glutaciona, najpoznatijeg antioksidansa u organizmu (Pahuja i sur., 2011).

Osim neuroprotekcije, postoje i studije koje pokazuju kardioprotektivna djelovanja biljne vrste zbog antioksidativnih učinaka nekih sastavnica. U dozama od 50 mg/kg slobodni fenoli i polifenoli iz kore ploda davani su štakorima te je primijećena slabija peroksidacija lipida (Cheng i sur., 2012).

Jednim histološkim ispitivanjem utvrdio se hepatoprotektivni učinak polisaharida žižule uklanjanjem radikala u skupini miševa koja je prethodno tretirana tetraklorugljikom. Količina indikatora oštećenja jetre, alanin aminotransferaze (ALT), aspartat aminotransferaze (AST) i laktat dehidrogenaze (LDH), bila je značajno smanjena u skupini koja je primila polisaharide (Xie i sur., 2016).

Novija istraživanja fokusiraju se na terapijske potencijale ursolne (ULA) i uronske (UNA) kiseline koje se mogu ekstrahirati i iz *Z. jujuba*. Što se tiče antioksidativne aktivnosti, ULA ( $IC_{50} = 26,2 \mu M$ ) je učinkovitije smanjila količinu ROS-a u HL60 stanicama leukemije od UNA ( $IC_{50} = 55 \mu M$ ). Druga studija je pokazala da je količina od 10  $\mu M$  UNA-e smanjila 40% razine ROS-a u HaCaT keratinocitima, međutim razine ROS-a se nisu promijenile u A549 i H1299 NSCLC stanicama kada su bile tretirane UNA-om. To dovodi do zaključka da antioksidativni potencijal UNA-e ovisi o vrsti stanice (Son i Lee, 2020).

Još jedna zanimljiva komponenta ove biljne vrste pokazuje antioksidativni potencijal, a to je traumatska kiselina, vrsta masne kiseline, prisutna u plodu i listovima. Mogla bi se koristiti u liječenju mnogih kožnih bolesti koje su uzrokovane oksidativnim stresom jer djeluje antioksidativno i potiče biosintezu kolagena. To potvrđuje i kinesku poslovicu „tri žižule dnevno i mlad nikad ne postaje star“ (Liu i sur., 2020).

Osim što je količina antioksidansa različita u različitim kultivarima biljne vrste, ona se razlikuje i u različitim dijelovima ploda pa je tako najveća u kori ploda (Gao i sur., 2013). Velike ukupne količine fenola, flavonoida i antocijanina nalaze se upravo u kori. Osim kore ploda, in vitro ispitivanja pokazuju da i ekstrakti pulpe i sjemenki *Z. jujuba* imaju zadovoljavajuće antioksidativne aktivnosti, a ekstrakti listova pokazuju čak veći antioksidacijski potencijal od vitamina C i vitamina E (Liu i sur., 2020).

Na temelju jednog ispitivanja zaključeno je da količina antioksidansa ove biljne vrste ovisi o okolišnim uvjetima, tj. da plod koji raste u jako sušnim područjima visoke nadmorske visine ima jači antioksidativni učinak (Gao i sur., 2013).

#### 4.1.2. Protuupalni učinak

Učinak ploda biljne vrste *Z. jujuba* ispitivao se na modelima štakora u više stadija upalnog procesa. Ispitivanim skupinama Wistar albino štakora oralno je aplicirano 100, 200 ili 400 mg/kg suhog ekstrakta pulpe ploda (prinos 17,4% m/m) dobivenog iz prethodnog 60% etanolnog ekstrakta, a pozitivna kontrola bio je indometacin (10 mg/kg). Sat vremena nakon toga štakorima je injektiran karagenan. U akutnoj studiji primijećeno je ovisno o dozi značajno manje stvaranje edema šape inducirano karagenanom, što se može povezati sa manjom aktivnošću enzima ciklooksigenaze (COX) koja sudjeluje u nastanku medijatora upale, smanjenim oslobađanjem histamina i dušikovog monoksida (NO). Smanjenim nastajanjem dušikova monoksida smanjuje se i nastajanje proteina i enzima koji dovode do upalnih reakcija i citotoksičnosti (Liu i sur., 2020; Goyal i sur., 2011). Pri dozi od 200 i 400 mg/kg inhibirano je stvaranje granuloma (Liu i sur., 2020; Gao i sur., 2013). Osim toga, ekstraktom je i smanjena sinteza kolagena i mukopolisaharida te količina fibroblasta (Goyal i sur., 2011).

Jedna je studija potvrdila ono što je već opisano u tradicionalnoj upotrebi ploda biljne vrste *Z. jujuba*, a to je da frakcija triterpenskkih kiselina najviše inhibira upalne stanice koje su aktivirane biljnim vrstama iz porodice Euphorbiaceae što je dokazano u peritonealnim makrofagima štakora gdje je inhibirana sinteza TNF- $\alpha$  (faktora nekroze tumora- $\alpha$ ) i NO (dušikovog monoksida). To bi se moglo iskoristiti u zaštiti gastrointestinalnog trakta od upalnih oštećenja izazvanih biljnim vrstama roda Euphorbiaceae (Rangarajan i sur., 2020).

UNA i ULA su triterpenske kiseline prisutne u plodu biljne vrste *Z. jujuba* koje su ispitivane u nedavnoj studiji vezanoj za nastajanje NO u procesu upale. U stanicama makrofaga induciranih LPS-om u RAW264.7 miševa UNA ( $IC_{50} = 4,94 \mu M$ ) je u velikoj mjeri inhibirala sintezu NO molekule, dok se kod ULA to nije primijetilo što se može povezati s razlikom u strukturi tih dviju kiselina. UNA je, također, u dozi od 50 mg/kg pokazala 53%-tnu inhibiciju stvaranja edema šape izazvanog karagenanom što je usporedivo s protuupalnim lijekom, acetilsalicilnom kiselinom (28–71% inhibicije pri 150–300 mg/kg). Osim toga, UNA ( $IC_{50} = 0,26 \text{ mM}$ ) inhibira i agregaciju humanih trombocita koja je uzrokovana arahidonskom kiselinom što je usporedivo s kvercetinom ( $IC_{50} = 4,41 \mu M$ ) (Son i Lee, 2020).

U jednoj studiji dokazano je da je oleanonska kiselina ( $IC_{50} = 17 \mu M$ ) smanjila nastajanje leukotriena B4 iz peritonealnih leukocita štakora, a maslinaska kiselina oralno je primijenjena u CAIA miševa (dnevno 200 mg/kg) te je nakon 12 tjedana primjene došlo do usporavanja

razvoja artritisa. Postoje i podaci o korištenju maslinske kiseline u prevenciji artritisa na način da se potiče stvaranje tkiva i sprječava upala sinovije što se postiže smanjenjem količine leukotriena pomoću glukokortikoidnog receptora i inaktivacijom signala toll-like receptora (TLR).

Neki od flavona izoliranih iz sjemenki biljne vrste *Z. jujuba* pokazuju umjerenu inhibiciju (za nijedan ne prelazi 43%) ciklooksigenaze tipa 1 (COX-1) i ciklooksigenaze tipa 2 (COX-2), bez selektivnosti za COX-2 (Liu i sur., 2020).

Provedena je i studija lokalnog učinka 1%-tnog eteričnog ulja (fenolni spojevi, oksigenirani mono- i seskviterpeni i njihovi ugljikovodici) dobivenog iz sjemenki *Z. jujuba* na upalu kože u miševa koja je bila izazvana 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetatom (TPA). U tih miševa smanjio se porast epidermalne i dermalne debljine izazvan TPA-om, a protuupalni učinak tog eteričnog ulja je čak bolji i od eugenola korištenog u istoj koncentraciji.

Također, ispitivani su protuupalni učinci nekih spojeva (galokatehin, epigalokatehin, spinozin, 6''-feruloilspinozin i 6''-sinapoilspinozin) izoliranih iz sjemenki žižule te je utvrđena in vitro i in vivo inhibitorna aktivnost na vezanje NF- $\kappa$ B na DNA molekulu te smanjenje razine proteina NF- $\kappa$ B-p65 zbog inhibicije nuklearne transkripcije. U štakorima je dokazano smanjeno oslobađanje histamina iz stanica nakon reakcije antigen-protutijelo primjenom iste količine ( $10^{-4}$  M) jujubozida A1 (za  $30,3 \pm 4,7\%$ ), jujubozida C (za  $71,4 \pm 29,9\%$ ) i acetiljujubozida C (za  $14,4 \pm 18,0\%$ ) (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

#### **4.1.3. Antikancerogeni i citotoksični učinak**

Ispitivan je antikancerogeni učinak saponina jujubozida B in vivo u miševima kojima je subkutano implantirana HCT 116, stanična linija humanog kolorektalnog karcinoma. Nakon što je tumor imao veličinu od  $60 \text{ mm}^3$ , započela je petotjedna peritonealna terapija jujubozidom B u dozi od  $40 \text{ mg/kg}$  tri puta na tjedan. Rezultati su pokazali 60%-tnu inhibiciju rasta tumora, a promjene u tjelesnoj težini miševa i toksičnost nisu uočeni (Liu i sur., 2020; <https://imanolife.com>).

Proučavani su i antikancerogeni učinci lupeola, triterpenske kiseline lupanskog tipa, i stigmasterola in vitro i in vivo. In vitro je otkriveno njihovo protuupalno djelovanje i ciljanje



tumorskih endotelnih stanica na stanicama kolangiokarcinoma, a in vivo pojedinačnom ili kombiniranom oralnom primjenom u miševa narušena je tumorska angiogeneza i smanjen rast kolangiokarcinoma (Liu i sur., 2020).

U jednoj je studiji ispitivan učinak određenih triterpenskih kiselina lupanskog tipa na nekoliko staničnih linija tumora i utvrđeno je da kumaroilni ostatak na položaju C-3 u strukturi triterpenskih kiselina tipa lupana ima ulogu u jačanju citotoksične aktivnosti. Postoje dokazi in vitro studija o citotoksičnom učinku betulinske kiseline na karcinom jajnika, karcinom vrata maternice, humani melanom i karcinoma pluća ne-malih i malih stanica te karcinom glave i vrata (Liu i sur., 2020; Mahajan i sur., 2009).

Kada govorimo o plodu biljne vrste *Z. jujuba*, jedan od važnijih mehanizama citotoksične aktivnosti ekstrakata je indukcija apoptoze (Liu i sur., 2020).

U jednom su ispitivanju korišteni vodeni ekstrakti ploda biljne vrste *Z. jujuba* u osam faza sazrijevanja te u četiri doze (1 µg/mL, 10 µg/mL, 50 µg/mL i 100 µg/mL) pa je pokazana inhibicija rasta HeLa stanice raka vrata maternice ovisna o dozi, a rast Hel299, normalnih stanica pluća, i A549 stanica raka pluća se smanjivao sazrijevanjem ploda, no ekstrakti ploda nisu pokazali nikakav učinak na U937 stanice limfoma (Choi i sur., 2012).

Polisaharidi također pokazuju antitumorsku aktivnost koja ovisi o molekulskoj masi i topljivosti u vodi pa što su one veće, to je veća i antitumorska aktivnost. Neki od mehanizama kojima djeluju antitumorski su: poticanje rada imunskog sustava u borbi protiv tumora, indukcija apoptoze tumorskih stanica, sprečavanje širenja stanica tumora unutar organizma te prevencija onkogeneze. Kiseli polisaharid ploda žižule HJP3 je u jednom istraživanju inhibirao proliferaciju HepG2 stanica, a nije bio previše citotoksičan za ostale, ne-tumorske stanice (Ji i sur., 2017). Dokazano je da su deproteinizirani polisaharidi potaknuli G2/M fazu staničnog ciklusa u stanicama melanoma uz aktivaciju kaspaze-3 i kaspaze-9 te nastajanje apoptotičkih tjelešaca (Gao i sur., 2013). U jednoj studiji sirovi polisaharidi pokazuju smanjeni opstanak stanica melanoma nakon 24 sata inkubacije ovisan o dozi i vremenu proapoptotskim učinkom čiji je mehanizam otpuštanje kaspaze-3 i citokroma C iz mitohondrija u citosol (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

Mnogo je radova o antitumorskim učincima ursolne kiseline. Pokazala je proapoptotski učinak te dovela do smanjenja preživljavanja HepG2 humanih stanica hepatoblastoma u ovisnosti o koncentraciji i vremenu. Pri koncentraciji od 30 µM inducirala je fragmentaciju

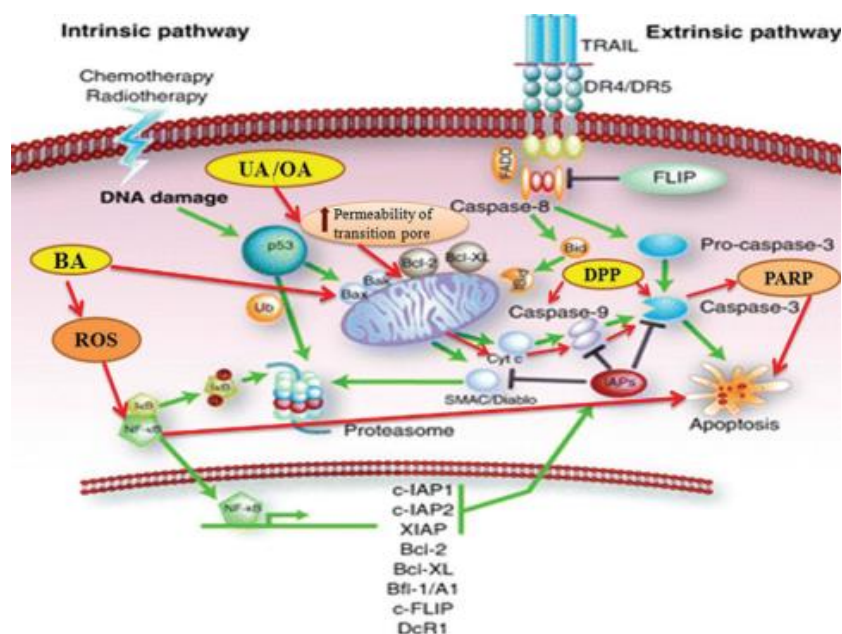
DNA i aktivirala kaspazu-3 (Kim i sur., 2000). U drugoj je studiji ispitivano djelovanje ursolne kiseline na stanicama tumora dojke. In vivo ispitivanje uključivalo je ženske miševe C57BL/6 kojima su uklonjeni jajnici (model postmenopauzalnog stanja). Jedna je skupina miševa u razdoblju od 8 tjedana primala kontroliranu ishranu, a druga ishranu dopunjenu s ursolnom kiselinom. Nakon 3 tjedna od početka ishrane, svim su miševima ubrizgane tumorske stanice dojke i ishrana bez ili sa ursolnom kiselinom je i dalje nastavljena. Nakon 8 tjedana imunohistokemijskim bojenjem utvrđena je inhibicija proliferacije tumorskih stanica. Iako su bile uspoređivane tri koncentracije ursolne kiseline (0,05%, 0,10% i 0,25%), najveći inhibični učinak na proliferaciju imala je središnja koncentracija. Taj je učinak potvrđen i in vitro na tumorskim WA4 stanicama dojke. Najvjerojatnije je da je ursolna kiselina uključena u signalne puteve koji uključuju fosfatidilinozitol-3-kinazu (PI3K/Akt) i mitogen-aktiviranu protein kinazu (MAPK) čime utječe na preživljavanje stanica (Tahergorabi i sur., 2015).

Osim ursolne kiseline, citotoksično djelovanje oleanske kiseline ispitivano je na staničnoj liniji HCT15 karcinoma i u stanicama hepatocelularnog karcinoma HuH7, no ono je nešto slabije. Obje kiseline povećavaju propusnost tranzicijske pore u mitohondrijima pa se u citosolu povećava oslobađanje citokroma C koji aktivira kaspazu-3 i kaspazu-9 što dovodi do cijepanja poli (ADP-riboza) polimeraze (PARP) i završava apoptozom (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Tahergorabi i sur., 2015). Utvrđeni su slični antitumorski učinci ursolne i oleanske kiseline i na staničnoj liniji karcinoma humanog debelog crijeva HC-T15 što objašnjava sličnost u kemijskim strukturama tih dviju kiselina. Nakon što je provedena analiza staničnog ciklusa protočnom citometrijom nakon tretiranja stanica karcinoma ursolnom (30  $\mu\text{mol/L}$ ) i oleanskom (60  $\mu\text{mol/L}$ ) kiselinom u razdoblju od 36, odnosno 72 sata, većina stanica karcinoma nalazila se u G0/G1 fazi staničnog ciklusa, a smanjila se količina popratnih stanica koje su u S fazi (Tahergorabi i sur., 2015).

Otkriven je još jedan mehanizam djelovanja ursolne kiseline, a to je smanjenje aktivnosti Bcl-2 proteina koja je posredovana sa NF- $\kappa\beta$  u stanicama raka prostate DU145 i B16F-10 melanomskim stanicama te u stanicama raka dojke MCF-7 (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017). Utvrđeno je da i oleanska kiselina u tim stanicama pokazuje indukciju apoptoze (Tahergorabi i sur., 2015).

Najvažniji rezultat antitumorskog djelovanja betulinske kiseline je in vivo i in vitro selektivna inhibicija rasta stanica melanoma u odnosu na zdrave stanice, melanocyte. Mehanizmi koji bi mogli biti u pozadini antitumorskog djelovanja betulinske kiseline su indukcija apoptoze

mitohondrijskim putem ili aktivacijom NF- $\kappa$ B koja je uzrokovana povećanim stvaranjem ROS-a induciranih betulinskom kiselinom, poremećaj u mitohondrijskom membranskom potencijalu, dvostruka regulacija MAP-kinaza signalnog puta i protein kinaza B/Akt signalnog puta te inhibicija enzimske aktivnosti aminopeptidaze N koja regulira angiogenezu (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Tahergorabi i sur., 2015). Zanimljiva je i činjenica da betulinska kiselina istovremeno može inducirati ekspresiju člana proteinske obitelji Bcl-2, Mcl-1, koji ima antiapoptotski učinak. Osim što proteinska obitelj Bcl-2 uključuje antiapoptotske članove (Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub> i Mcl-1), ona uključuje i proapoptotske (Bax, Bak, Bad i BH3 domena) pa je zabilježeno da betulinska kiselina povećava ekspresiju Bax-a u stanicama neuroblastoma, glioblastoma i melanoma, a razina ekspresije Bcl-2 proteina se povećala samo u stanicama glioblastoma. Postoji niz dokaza o antitumorskom učinku betulinske kiseline na stanice raznih vrsta karcinoma. Primjerice, dokazana je antitumorska aktivnost na MCF-7 stanicama adenokarcinoma dojke u miševa smanjenjem veličine adenokarcinoma, dok je u modelu miševa s metastatskim melanomom prikazan sinergijski učinak s vinkristinom na plućnim metastazama jer je antitumorski učinak bio slabiji u onim miševima koji su tretirani samo s vinkristinom (Tahergorabi i sur., 2015).



**Slika 12.** Shematski prikaz signalnih puteva kojima pojedine bioaktivne sastavnice biljne vrste *Z. jujuba* dovode do apoptoze stanica; UA = ursolna kiselina, OA = oleanolna kiselina, BA = betulinska kiselina, DPP = deproteinizirani polisaharid (Tahergorabi i sur., 2015)

Postoje i dokazi o citotoksičnim učincima ursonske kiseline na stanice različitih tumorskih tkiva – stanica karcinoma pluća ne-malih stanica A549 (NSCLC) ( $IC_{50} = 7,7 \mu M$ ), stanica melanoma SK-MEL-28 ( $IC_{50} = 22,2 \mu M$ ), stanica raka jajnika SK-OV-3 ( $IC_{50} = 32,1 \mu M$ ), stanica glioblastoma XF498 ( $IC_{50} = 25,9 \mu M$ ) i HCT15 stanične linije raka debelog crijeva ( $IC_{50} = 4,6 \mu M$ ), ali i o antiproliferativnim učincima na HONE-1 stanice nazofaringealnog karcinoma ( $IC_{50} = 5,2 \mu M$ ), KB oralne stanice epidermalnog raka ( $IC_{50} = 4,0 \mu M$ ), HT29 stanice kolorektalnog karcinoma ( $IC_{50} = 6,3 \mu M$ ) i drugih. Miševima sa S180 stanicama sarkoma koji su tretirani s ursonskom kiselinom produljen je život za 7 dana u odnosu na neliječene miševe, a najvjerojatnije je mehanizam antitumorskog učinka inhibicija enzima topoizomeraze-I. Kako su dosadašnje studije pokazale, ursonska kiselina može djelovati na apoptotske signalne puteve, ali i one koji uključuju MAPK, što i jesu jedne od glavnih meta u liječenju raka. Primjerice, ljudske stanice karcinoma želuca MGC-803 bile su tretirane ursonskom kiselinom i povećala im se ekspresija proteina p53 (supresor tumora) i proapoptotskog proteina BAX te aktivacija kaspaze-3 i kaspaze-9 koje dovode do apoptoze stanice. S obzirom na provedene testove, antitumorski učinci ursonske kiseline su svakako usporedivi s učincima ursolne. Naime, u HCT15 stanicama raka debelog crijeva doza koja je uzrokovala citotoksičnost za ursolnu je bila  $IC_{50} > 20 \mu M$ , za antitumorski lijek cisplatin  $IC_{50} = 10,52 \mu M$ , a za ursonsku samo  $1,23 \mu M$ . Dokazan je i antimetastatski učinak ursonske kiseline koji je izuzetno važan jer su metastaze uzrok približno 66,7% smrti od raka. Naime, metastaze čine proširene tumorske stanice u drugim dijelovima tijela, a ne samo u primarnom tumoru. Ekstracelularni matriks (ECM) građen od proteina i polisaharida je taj koji čini barijeru između tumorskih i okolnih stanica te ako je uništen, nastaju metastaze. Matriksne metaloproteinaze (MMP) su enzimi koji doprinose metastaziranju tumora jer razgrađuju ECM (enzimski način) i promiču staničnu migraciju (neenzimski način). Upravo je za ursonsku kiselinu dokazano da inhibira aktivnost MMP-2 i MMP-9 kroz regulaciju transkripcije pa je spriječena invazija A549 i H1299 humanih NSCLC stanica. U stanicama karcinoma pluća prikazani su slični učinci za ursolnu kiselinu (Son i Lee, 2020)-

#### **4.1.4. Antimikrobni učinak**

Dokazana je antimikrobna aktivnost etanolnih ekstrakata korijena biljne vrste *Z. jujuba* na stanice gljivica *Candida tropicalis*, *C. albicans*, *Malassezia furfur* (sojevi 1374 i 1765.),

*Aspergillus niger* i *A. flavus*. Alkaloid magnoflorin mikrodilucijom je pokazao minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) od 146,02  $\mu\text{M}$  u inhibiciji sojeva iz roda *Candida* pa je odličan potencijal u novim vodećim antimikotičkim sredstvima.

Ekstrakti kore korijena djeluju **inhibitorno na 20 različitih bakterija**, dok ceanotska kiselina, vrsta triterpenske kiseline, pokazuje antimikrobno djelovanje na *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* i *Actinomyces viscosus*, ali uz visoke vrijednosti MIC (Liu i sur., 2020). Provedeno je i ispitivanje antimikrobnog učinka suhog ostatka vodenog ekstrakta ploda biljne vrste *Z. jujuba* na sojeve *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* otpornih na meticilin i meticilin-osjetljivih. U difuzijskom testu izmjerene su zone inhibicije od 14 mm za *S. aureus* otporan na meticilin i 21 mm za *P. aeruginosa*. Pretpostavljeno je da su flavonoidi odgovorni za antibakterijski učinak (Mehreen i sur., 2016).

Prema jednom ispitivanju antimikrobnih učinaka vodenih i alkoholnih ekstrakata mezokarpa ploda žižule, etanolni ekstrakti nisu pokazivali ni antibakterijsko, ni antimikotičko djelovanje, a budući da su fenolni spojevi pronađeni u tim ekstraktima, pretpostavlja se da oni nemaju antimikrobni učinak. Što se tiče vodenih ekstrakata, antimikotički učinak nije opažen, ali djeluju blago antibakterijski na *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* (Miklavčič Višnjevec i sur., 2018).

Nekoliko vrsta triterpenskih kiselina koje nalazimo u vrsti *Z. jujuba* ima **antivirusni učinak**. Betulinska kiselina koja je izolirana iz kore stabljike biljne vrste *Z. jujuba* ublažava infekciju stanica HIV-1 virusom (Mahajan i sur., 2009). Ona je inhibirala replikaciju virusa HIV-a u H9 limfocitima ( $\text{EC}_{50} = 1,4 \mu\text{M}$ ) i rast neinficiranih H9 limfocita ( $\text{IC}_{50} = 13 \mu\text{M}$ ). Točan mehanizam kojim betulinska kiselina djeluje antivirusno treba biti još istražen, ali je poznato da su C-17 karboksilna skupina, C-3 hidroksilna skupina i supstituenti C-19 značajni za jače anti-HIV učinke. Epiceanotska kiselina, još jedna vrsta triterpenske kiseline, pokazuje umjereni anti-HIV učinak ( $\text{IC}_{50} = 38,9 \mu\text{M}$ ) (Liu i sur., 2020). Vero stanice bubrega majmuna inficirane herpes simplex virusom tipa I i II bile su tretirane sa UNA te je sprječen citopatski učinak virusa. U stanicama Raji – Burkitt-ovog limfoma UNA je zbog ketonske skupine na položaju C-3 povećala antivirusni učinak na Epstein-Barr virus (EBV) u odnosu na ULA te se je održivost stanica limfoma svelo na 20% pri 65  $\mu\text{M}$ . U jeku pandemije definitivno je najzanimljiviji podatak da bi UNA mogla djelovati na inhibiciju replikacije SARS-CoV-2

virusa na način da se vodikovim vezama veže na Nsp15, endoribonukleazu, važnu za životni ciklus virusa.

Biljna vrsta *Z. jujuba* pokazuje **inhibitorni učinak na protozoe**. Za ursonsku je kiselinu dokazano da bi terapijski mogla djelovati na lišmanijazu, tropsku bolest koju uzrokuju vrste iz roda *Leishmania*. Naime, utvrđena je njezina djelomična nekompetitivna inhibicija proteinaze katepsina L iz vrste *Leishmania mexicana* sa  $IC_{50} = 3,78 \mu\text{M}$ , dok je  $IC_{50}$  vrijednost za ULA puno lošija,  $8,1 \mu\text{M}$ . One imaju i učinak na uzročnika Chagasove bolesti, epimastigota *Trypanosoma cruzi*. Minimalna tripanocidna koncentracija iznosi  $50 \mu\text{M}$  za UNA i  $100 \mu\text{M}$  za ULA. UNA ima i antimikrobne učinke na vrste *Acanthamoeba Castellanii Neff* sa  $IC_{50} = 34,9 \mu\text{M}$  i *Acanthamoeba Griffini* sa  $IC_{50} = 11,1 \mu\text{M}$ , uzročnike *Acanthamoeba* keratitisa i granulomatoznog amebnog encefalitisa, bez citotoksičnog učinka na ostale stanice sisavaca. UNA je u dozi od  $100 \mu\text{M}$  pokazala i 55% inhibiciju vrste *Trichomonas vaginalis*, uzročnika spolno prenosive bolesti, ali i antimalarijski učinak na vrstu *Plasmodium falciparum* koji je bio jači u odnosu na ULA (Son i Lee, 2020).

#### **4.1.5. Anksiolitički i sedativni učinak**

U tradicionalnoj kineskoj medicini, ali i u znanstvenoj literaturi, sjemenka biljne vrste *Z. jujuba* var. *spinosa* sinonim je za anksiolitičku i sedativno – hipnotičku aktivnost jer je to njezino najvažnije farmakološko djelovanje (He i sur., 2020).

Kod miševa su ispitani pripravci sastavljeni od dijelova različitih biljaka, između ostalog i sjemenki biljne vrste *Ziziphus jujuba*, te se pokazalo da imaju anksiolitički učinak. U jednome ispitivanju miševima su se oralno davali flavonoidi prisutni u sjemenci *Z. jujuba*, spinozin ( $0,04 \text{ mmol/kg}$ ) i svertiš ( $0,04 \text{ mmol/kg}$ ), te je kod tretiranih miševa duljina spavanja bila veća za  $29 \pm 31\%$  u odnosu na onu koja je postignuta pentobarbitalom (Liu i sur., 2020). Spinozin pokazuje anksiolitički učinak, vjerojatno djelomično, zbog vezanja na benzodiazepinske GABA ( $\gamma$ -aminomaslačna kiselina) receptore, a to je i potvrđeno jer su anksiolitički učinci izostali kada je uz spinozin davan i flumazenil, antagonist  $GABA_A$  receptora. Međutim, kada je spinozin primijenjen u kombinaciji s pentobarbitalom, pojačavajući učinak na hipnozu najvjerojatnije je posljedica djelovanja na postsinaptičke  $5-HT_{1A}$  receptore. Zapravo, oba GABA-ergička i serotonergijska sustava su uključeni u djelovanje spinozina (Wang i sur.,

2010). Prema određenim farmakokinetičkim istraživanjima spinozin pokazuje dobru tkivnu distribuciju u središnjem živčanom sustavu, posebice u corpus striatumu i hipokampusu, no apsolutna bioraspoloživost spinozina u štakorima iznosila je samo 2,2 % (Shergis i sur., 2017).

Yang i sur. otkrili su da kada se oleamid koji je prisutan u plodu biljne vrste primjeni miševima intraperitonealnom injekcijom, djeluje inhibitorno na njihovo kretanje, i to ovisno o primijenjenoj dozi (od 43,7 do 175,0 mg/kg, a pozitivna kontrola bio je diazepam u dozi od 2,5 mg/kg), a oleamidom se postiže i hipnotički učinak koji je potaknut natrijevim pentobarbitalom (Liu i sur., 2020). Oleamid pojačava učinak 5-hidroksi-triptamina na 5-HT<sub>2</sub> receptorima.

U jednoj je studiji suhi ekstrakt dobiven od sjemenki biljne vrste *Z. jujuba* u dozi od 500 mg/kg davan muškim ICR (Institute for Cancer Research) miševima te je pokazao gotovo onakav anksiolitički učinak kakav pokazuje intraperitonealno primijenjeno 2 mg/kg buspirona i 1 mg/kg diazepam. Kada se miševima primijenila dvostruko veća doza, primijećena je inhibicija kretanja (Peng i sur., 2000).

U modelima glodavaca koji pate od anksioznosti ispitan je učinak alkaloida sanjoinina A izoliranog iz sjemenki. Pri nižim dozama uočen je anksiolitički učinak bez učinka na lokomotornu aktivnost, u usporedbi s diazepamom kao standardom. Han i sur. predložili su da se anksiolitički učinak sanjoinina A može ostvariti utjecajem na GABA receptor osjetljivog na benzodiazepine zbog čega se pojačava odgovor receptora. Može biti posljedica otvaranja kloridnih kanala (klor ulazi u stanice) aktiviranih GABA receptorima osjetljivim na benzodiazepine, povećanja količine receptora i povećanja sinteze GABA-e u kojoj sudjeluje dekarboksilaza glutaminske kiseline (GAD65/67). Osim anksiolitičkog, primijećen je o dozi ovisan učinak sanjoinina A na nesanicu zbog mehanizma djelovanja sličnog Z-lijekovima (npr. zolpidema) koji uključuje aktivaciju GABA receptora zbog čega se otvara kloridni kanal, kloridni ioni ulaze u stanicu pa negativno nabijen neuron postaje hiperpolariziran i samim time otporan na ekscitaciju. Sanjoinin A je, također, bolji inhibitor kalmodulina od klorpromazina i pimozida i pokazuje dobre rezultate u sedaciji i utjecaju na stres (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Shergis i sur., 2017).

Primjena 9 mg/kg jujubozida (4,3% jujubozida A i 5% jujubozida B) muškim ICR miševima jako je povećala ukupno vrijeme spavanja i REM spavanje tijekom dana (9:00 – 15:00 h), a tijekom noći (21:00 – 3:00) povećala je ukupno vrijeme spavanja i NREM spavanje.

Jujubozid A je velika molekula i ne može prijeći krvno-moždanu barijeru (KMB), međutim nakon hidrolize glikozidnih veza nastaje jujubogenin koji može prijeći KMB i vezati se na GABA<sub>A</sub> receptore (Cao i sur., 2010; Chen i sur., 2008). Također, s obzirom na ekspresiju određenih podjedinica GABA receptora koja je potaknuta primjenom benzodiazepina ili jujubozida A, niske doze jujubozida A su sigurnije u dugotrajnijem liječenju nesаницe jer je manja vjerojatnost nastanka tolerancije i ovisnosti u odnosu na liječenje benzodiazepinima (Shergis i sur., 2017).

2018. godine je modelu štakora koji pate od anksioznosti primijenjeno 17,5 g/kg dekokta sjemenke biljne vrste *Z. jujuba var. spinosa* te je utvrđeno da je smanjena frekvencija akcijskog potencijala u neuronima te ekspresija c-Fos proteina u neuronima bazolateralne amigdale. Kada se u drugoj studiji taj dekokt u dozi od 10 g/kg intragastrično dao štakorima koji su patili od *Yin deficiency heat syndrome*, primijećen je anksiolitički učinak – smanjen je rad bubrega i nadbubrežne žlijezde, izmjerene su manje količine hormona štitnjače, trijodotironina (T3) i tiroksina (T4), a povećane razine TSH (hormona koji stimulira rad štitnjače), smanjeno je abnormalno prejedanje i uzimanje tekućine u tih štakora te povećano vrijeme obavljanja traženih zadataka (prolazak labirinta).

Rong i sur. su otkrili da bi u pozadini anksiolitičkog mehanizma etanolnog ekstrakta sjemenki moglo biti povećanje razine GABA-e u središnjem živčanom sustavu, povećanje količina GABAAR1 receptora, smanjenje količina glutamata i smanjenje količine NMDAR1 receptora. Kada se etanolni ekstrakt daje u dozi od 0,5 g/kg, pokazuje anksiolitički učinak, a u dozi od 2,0 g/kg pokazuje sedativni učinak (He i sur., 2020).

Dakle, većina sastavnica biljne vrste koje pokazuju ove učinke djeluju na GABA sustav. Mogu se vezati na GABA<sub>A</sub> receptore kao agonisti ili parcijalni agonisti čime aktiviraju ligande na receptorima. Upravo je tu njihova prednost da kada se vežu kao parcijalni agonisti, manja je vjerojatnost da će doći do desenzitizacije receptora, tolerancije ili simptoma odvikavanja kao što je to slučaj kod benzodiazepina (Shergis i sur., 2017).



#### 4.1.6. Neuroprotektivni učinak

Vodeni ekstrakt ploda biljne vrste *Z. jujuba* korišten je u tretmanu kultura stanica 72 h što je uzrokovalo ekspresiju neurofilamena (NFs) ovisno o dozi što opravdava upotrebu ploda u prevenciji neurodegenerativnih bolesti kod kojih je zabilježen nedostatak neurotropina.

Učinak viteksina, flavonoida prisutnog u sjemenkama biljne vrste, ispitan je *in vitro* i *in vivo* te se uspostavilo da je uključen u neuroprotekciju na način da inducira neuroprotektivne čimbenike, ali i sprječava neurodegeneraciju uzrokovanu npr. abnormalnom agregacijom proteina ili neravnotežom u redoks sustavu.

Proučavana je i maslinaska kiselina te je uočen njezin sinergistički učinak s MK-801 u liječenju akutnog ishemijskog moždanog udara gdje je neuroprotekcija značajna zbog poboljšanja glijalne funkcije i povećane GLT-1 ekspresije (Liu i sur., 2020).

Izvešteno je da jujubozid A pokazuje neuroprotektivno djelovanje jer je inhibirao ekscitacijski signalni put u stanicama hipokampusa Sprague – Dawley štakora koji je izazvan natrijevim penicilinom zbog čega su bile povišene izvanstanične razine glutamata. Jujubozid A je smanjio količinu glutamata, ali i posljedičnu povećanu koncentraciju kalcija u stanicama i to ovisno o dozi. Moguće da je taj učinak povezan s vezanjem jujubozida A za kalmodulin što zaustavlja cijeli signalni put. Drugi način na koji jujubozid A djeluje na neuroprotekciju mogao bi uključivati presinaptički mehanizam (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

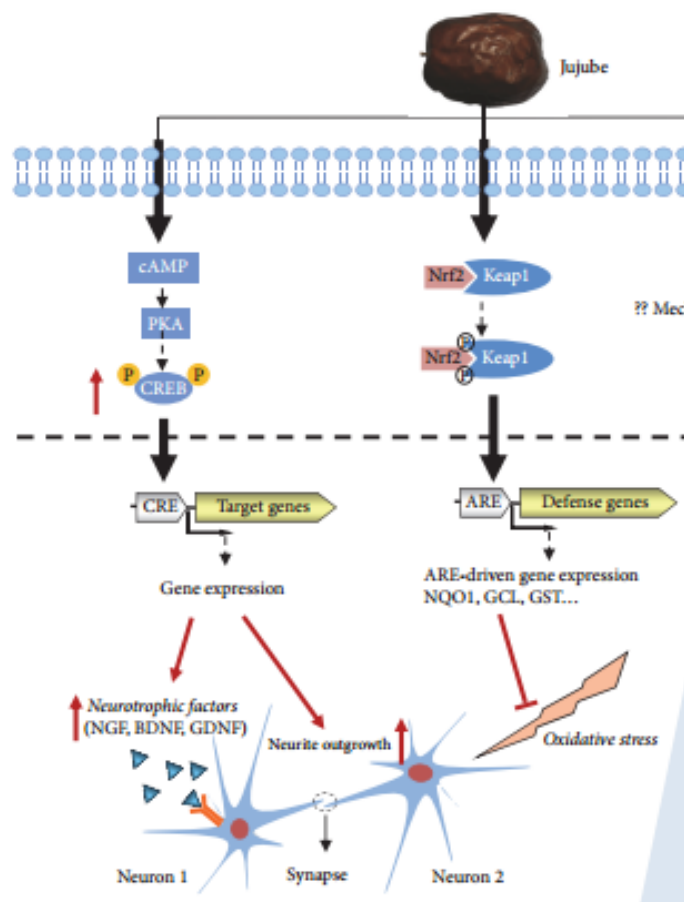
Oleamid je pokazao 65%-tnu aktivaciju kolin-acetiltransferaze *in vitro* pa bi se mogao koristiti u liječenju Alzheimerove bolesti kod koje je sadržaj acetilkolina smanjen. Učinak oleamida primijećen je i *in vivo* gdje je u miševa smanjio amneziju izazvanu skopolaminom (Chen i sur., 2017; Mahajan i sur., 2009).

Neurogeneza je proces koji uključuje proliferaciju stanica, diferencijaciju neurona i stvaranje sinapsi. Prema nekim bi studijama poticanje neurogeneze, odnosno neuronske diferencijacije, moglo biti prevencija raznih neurodegenerativnih bolesti. Tako je ispitan učinak vodenog ekstrakta ploda žižule na neuronsku diferencijaciju na kultiviranim stanicama feokromocitoma PC12 koje su dobar model zbog svojih osobina sličnih simpatičkom živčanom sustavu. Rezultat je pokazao da je nakon 72 h tretmana stanica ekstraktom bilo 25% induciranih diferenciranih stanica, a ovisno o dozi bila je stimulirana ekspresija NF68, NF160 i NF200. Također, vodeni ekstrakt zrelog ploda je imao bolji učinak od nezrelog. U

diferencijaciji stanica feokromocitoma PC12 važan je signalni put cAMP-PKA-CREB. Upravo vodeni ekstrakt ploda žižule potiče fosforilaciju CREB-a, transkripcijskog faktora, važnog za diferencijaciju neurona. Primjenom H89, cikličkog o AMP-u-ovisnog inhibitora PKA, zaustavljen je induktivni učinak ekstrakta ploda te rast neurita i ekspresija neurofilamenta.

Faktor rasta živca (NGF), neurotrofni faktor dobiven iz mozga (BDNF), neurotrofni faktor izveden iz glija stanične linije (GDNF), neurotrofin 3 (NT3) i NT4/5 su važni neurotrofni čimbenici koji omogućuju rast, diferencijaciju i preživljavanje neurona. Sintetiziraju ih astrociti, a njihovim nedostatkom može doći do različitih neuroloških poremećaja. Na astrocitima je također ispitan učinak vodenog ekstrakta ploda žižule i uočena je ekspresija neurotrofnih čimbenika ovisno o dozi s indukcijom od 100% za NGF, 100% za BDNF, 100% za GDNF i 50% za NT3. Budući da je nakon predobrade stanica s H89 inhibirano stvaranje neurotrofnih čimbenika, postoji mogućnost da je i u njihovo stvaranje uključena PKA signalizacija.

U procesima neurodegenerativnih bolesti, kao što su Alzheimerova i Parkinsonova bolest, dolazi do značajnoga oštećenja neurona zbog oksidacijskog stresa. Otkriveno je da je vodeni ekstrakt ploda žižule stimulirao transkripcijsku aktivnost posredstvom ARE (antioxidant response element), što ukazuje na aktivaciju Nrf2 (nuclear factor (erythroid-derived 2-) like 2) puta i regulaciju enzima koji su zaštitili staničnu kulturu od oksidativnog oštećenja, ali i spriječili terc-butil hidroperoksidom (tBHP) inducirano stvaranje ROS-a. U studiji je rađena usporedba s vitaminom C i t-BHQ-om (tert-butil hidrokinonom) (Chen i sur., 2017).



**Slika 13.** Mehanizmi neuroprotekcije ploda biljne vrste *Z. jujuba* (Chen i sur., 2017)

Kao što je već spomenuto u uvodnom dijelu ovog rada, flavonoidi prisutni u plodu su ti koji pokazuju neuroprotektivna svojstva. Kvercetin 3-O-rutinozid, kemferol 3-O-rutinozid, (-) - katehin i (-) – epikatehin pokazali su anti-A $\beta$  agregacijski učinak. Kemferol 3-O-rutinozid još štiti i od oksidacijskog oštećenja, a kemferol 3-O-rutinozid dodatno štiti od trajne fokalne cerebralne ishemije, povoljno utječe na metabolizam energije i memoriju i štiti od oksidativnog stresa u modelima dementinih štakora s više infarkti. Međutim, za ove flavonoide nije utvrđen značajni neurotrofni učinak.

Za ciklički nukleotid cAMP koji je u dosta velikim količinama prisutan u plodu biljne vrste *Z. jujuba* utvrđeno je da ima ulogu u diferencijaciji neurona i još dodatno povećava količinu cAMP-a u plazmi i hipokampusu životinjskog modela.

Osim studija neuroprotektivnih učinaka pojedinih sastavnica i ekstrakata ploda žižule, postoje i studije u kojima se ispituju učinci tradicionalnih biljnih dekokta koji sadrže žižulu. Primjerice, za Ganmai Dazao Tang je utvrđeno da povećava ekspresiju BDNF-a u životinjskom modelu depresije, a Guizhi Tang, Neibu Dangguijianzhong Tang i ZaoTang u PC12 stanicama potiču diferencijaciju neurona i ekspresiju antioksidativnih enzima (Chen i sur., 2017).

#### **4.1.7. Učinak na kardiovaskularni sustav**

Oleanonska kiselina je davana oralnim putem štakorima sa stenozom trbušne aorte te je primijećeno da se ovisno o dozi smanjila debljina stjenke lijeve klijetke i veličina samog srca. Oleanonska kiselina najvjerojatnije inhibira signalni put PKC $\zeta$ -NF- $\kappa$ B čime smanjuje hipertrofiju srca.

Maslinska kiselina isto pokazuje potencijal u liječenju hipertrofije kardiomiocita in vivo, ali i in vitro jer inhibira aktivaciju ERK i AKT signalnih putova (Liu i sur., 2020).

Triterpenoidi, a posebice oleanonska, pomolna i pomonska kiselina iz ploda i sjemenki biljne vrste *Z. jujuba*, mogli bi se koristiti u prevenciji ateroskleroze jer sprečavaju stvaranje pjenastih stanica u makrofagima, a koje inače induciraju acetilirani LDL. Sprague – Dawley štakorima davana je prehrana bogata kolesterolom i infuzija vode sjemenki biljne vrste u razdoblju od 4 tjedna, no razine ukupnog kolesterola, LDL-a, slobodnog kolesterola, triglicerida, fosfolipida i glukoze u serumu te aktivnosti enzima jetre bili su sniženi. Dokazano je da su triterpenoidi sa karboksilnom kiselinom na C-28 važni u toj inhibiciji stvaranja pjenastih stanica (Liu i sur., 2020; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Gao i sur., 2013).

Jujubozid B je već u in vitro, ali i u in vivo studijama pokazao inhibiciju agregacije trombocita. Kod  $IC_{50} = 92,1 \mu M$  inhibirao je agregaciju trombocita izazvanu kolagenom (acetilsalicilna kiselina kao kontrola,  $IC_{50} = 130,5 \mu M$ ), a kod  $IC_{50} = 201,5 \mu M$  inhibirao je agregaciju trombocita izazvanu trombinom (acetilsalicilna kiselina kao kontrola,  $IC_{50} = 1810,5 \mu M$ ), a davan oralno miševima pokazao je 63 %-tnu zaštitu od akutne tromboembolije. Stoga bi se jujubozid B mogao koristiti u prevenciji, ali i terapiji određenih kardiovaskularnih bolesti.

Neolignan koji se nalazi u listu ove biljne vrste potaknuo je povećano stvaranje endogenog prostaglandina I<sub>2</sub> iz aorte štakora, a betulinska kiselina isto ima potencijal u liječenju kardiovaskularnih bolesti jer može povećati ekspresiju endotelne NO sintaze (eNOS), a smanjiti ekspresiju NADPH oksidaze u endotelnim stanicama te djeluje kao agonist TGR5. (Liu i sur., 2020).

U jednoj studiji je utvrđeno da ekstrakt ploda žižule ima hematopoetsku funkciju jer, ovisno o dozi, potiče stvaranje eritropoetina nakupljanjem razine hipoksijom inducibilnog faktora 1- $\alpha$  proteina u Hep3B stanicama. Time se regulira eritropoeza u koštanoj srži. Ekstrakt također potiče ekspresiju antioksidativnih enzima pomoću Nrf2 signalnog puta i sprječava ekspresiju proupalnih IL-1 $\beta$  i IL-6 citokina u makrofagima, što je bitno da se hematopoeza može normalno odvijati (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

#### **4.1.8. Hepatoprotektivni učinak**

Na zvjezdastim stanicama štakora HSC-T6 ispitan je hepatoprotektivni učinak entepikatehinoceanotske kiseline A izolirane iz korijena biljne vrste i uočen je antiproliferativni učinak s IC<sub>50</sub> vrijednošću 43,5  $\mu$ M ((-) - epigalokatehin galat kao pozitivna kontrola, IC<sub>50</sub> = 31,6  $\mu$ M), no mehanizmi tog učinka nisu još poznati.

U jednoj studiji miševi su bili tretirani s tetraklorugljikom kojim je izazvano oštećenje jetre, tj. povišene razine enzima aspartat aminotransferaze (AST), laktat dehidrogenaze (LDH) i alanin aminotransferaze (ALT) te hepatičkog malondialdehida (MDA) u serumu. Kod skupine koja je tada bila liječena polisaharidima iz ploda biljne vrste *Z. jujuba* u dozi od 400 mg/kg, došlo je do smanjenja razine tih enzima, slično kao i s pozitivnom kontrolom, bifenildikarboksilatnim tabletama. Također se smanjio sadržaj MDA, a razina GSH-Px (glutation peroksidaze) i SOD (superoksid dismutaze) se povišila. To sugerira da plod biljne vrste ima hepatoprotektivne učinke in vivo, i to smanjenjem upalnih reakcija i jačanjem antioksidativnog obrambenog sustava u jetri.

Za maslinску kiselinu je isto potvrđeno da ima hepatoprotektivne aktivnosti ovisno o dozi inhibiranjem transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B i aktiviranjem signalnih putova posredovanih Nrf2. Neke studije čak pokazuju i jak inhibitorni učinak maslininske kiseline na enzim

CYP3A4 što bi također moglo biti objašnjenje slabije toksičnosti CCl<sub>4</sub> (Liu i sur., 2020; Rangarajan i sur., 2020; Sun i sur., 2015; Yue i sur., 2014).

#### **4.1.9. Učinak na gastrointestinalni trakt**

Studije pokazuju da u vodi topljivi koncentracije ugljikohidrata ekstrakata ploda biljne vrste *Z. jujuba* (glukoza, fruktoza, pektinski polisaharidi i hemiceluloza) imaju učinak u očuvanju normalne funkcije crijeva i zdravlja sluznice u modelima hrčaka, a u modelima kunića su polisaharidi ploda (ksiloza (31,3%), glukoza (23%), fruktoza (21,6%) i manozna (12,9%)) pokazali smanjenje oksidacijskih oštećenja (Liu i sur., 2020; Rangarajan i sur., 2020).

Štakorima kojima je s 2,4,6-trinitrobenzensulfonskom kiselinom (TNBS) izazvan kolitis, aplikacija polisaharida smanjila je aktivnost i komplikacije bolesti smanjenjem upalnih reakcija (niže razine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 i mijeloperoksidaze) te povećanjem barijere aktivacijom 5' AMP-aktivirane protein kinaze (AMPK) (Ji i sur., 2017).

Maslinska i ursolna kiselina djeluju gastroprotektivno. Maslinska kiselina inhibira aktivnost enzima H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPaze, a ursolna kiselina djeluje na sluznicu želuca. Međutim, nisu samo one važne, druge sastavnice biljne vrste mogu poboljšati njihovu bioraspoloživost (Liu i sur., 2020).

Ispitivala se gastroprotektivna aktivnost vodenog ekstrakta kore stabljike biljne vrste na Wistar štakorima koji su bili dobar model oboljelih od čira na želucu. Ovisno o primijenjenoj dozi, čir je bio smanjen, a neki rezultati su čak usporedivi s onima kada je štakorima davan ranitidin. Pretpostavlja se da povećanjem pokretljivosti želuca i pojačanjem mukozne barijere želuca ekstrakt kore stabljike djeluje gastroprotektivno (Hamedi i sur., 2015).

#### **4.1.10. Imunomodulatorni učinak**

Studije pokazuju da vodeno-etanolni ekstrakt lista biljne vrste *Z. jujuba* djeluje na funkciju imunskog sustava stimulirajući fagocitozu i kemotaksiju neutrofila. Međutim, koje točno sastavnice u ekstraktu su zaslužne za to, treba tek istražiti.

Za vodene ekstrakte ploda biljne vrste otkriveno je da imaju dvostruku ulogu na imunosti sustav. S jedne strane su u uzgojenim RAW 264,7 makrofagima poticali ekspresiju TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6, a s druge su u predtretmanu LPS stimuliranih makrofaga inhibirali transkripcijske aktivnosti NF- $\kappa$ B i smanjili ekspresiju IL-6 i IL-1 $\beta$ , ali ne i TNF- $\alpha$ .

U jednoj je studiji korištena maslinjska kiselina u dvotjednom liječenju miševa koji su bolovali od leukemije. Povećali su se markeri monocita (32 mg/kg i.p.) i T-stanica (16 mg/kg i.p.), a smanjili markeri B-stanica (8 mg/kg i.p.). Također, pri najvećoj primijenjenoj dozi bio je pojačani učinak NK stanica (stanica prirodnih ubojica) i fagocitoza makrofaga (Liu i sur., 2020).

Polisaharidima prisutnima u plodu biljne vrste pripisuje se važna biološka funkcija, imunomodulacija, a koja ovisi o svojstvima polisaharida kao što su molekularna težina, kemijski sastav ili glikozidne veze. U studiji je nekoliko frakcija polisaharida uzrokovalo povećanje sinteze dušikovog oksida u RAW 264,7 stanicama i stimuliralo urođeni imunosti odgovor, ovisno o koncentraciji.

Polisaharidni konjugati bili su ispitani u štakorima sa sindromom kroničnog umora povezanog s imunosti sustavom. Nakon liječenja u tih je štakora primijećena pojačana proliferacija limfocita T i aktivnost NK stanica, povećana je ekspresija proteina IL-2 te pojačana aktivnost superoksid dismutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GSH-Px), a smanjena ekspresija proteina IL-10 i razine malondialdehida (MDA). Također se povećala količina CD4<sup>+</sup>T stanica, a smanjila količina CD8<sup>+</sup>T stanica (Ji i sur., 2017).

Utvrđeno je da polisaharidi ove biljne vrste, ovisno o dozi, pojačavaju proliferaciju splenocita i peritonealnih makrofaga, kao i indeks slezene i timusa kod miševa. Zhao i sur. su iz plodova *Z. jujuba Mill. cv. Jinsixiaozao* izolirali i ispitali aktivnost dva pektinska polisaharida. Rezultati pokazuju da je Ju-B-2 imao učinak na povećanje proliferacije stanica slezene, dok Ju-B-3 nije pokazao taj učinak. Stimulaciji imunosti sustava u strukturi polisaharida najviše doprinose ramnogalakturonan i bočni lanci (Gao i sur., 2013).

Studije provedene u in vitro i in vivo uvjetima pokazale su da sulfatirani polisaharidi jače induciraju proliferaciju limfocita i povećavaju titar serumskih protutijela (Xie i sur., 2016).

In vitro je ispitan učinak triterpena olenanskog tipa na klasični put sustava komplementa. Utvrđeno je da 3-O-cis-p-kumaril maslinjska kiselina, 3-O-trans-p-kumaril maslinjska kiselina i oleanolna kiselina izolirane iz ploda *Z. jujuba* inhibiraju put komplementa uz IC<sub>50</sub> vrijednosti

od 101,4, 143,9 i 163,4  $\mu\text{M}$ . Istraživanje je pokazalo da triterpeni koji u strukturi imaju hidroksi skupinu na C-3 i karboksilnu skupinu na C-28 pokazuju inhibitorni učinak na sustav komplementa, a ako je na C-3 prisutan analog kumarola, inhibitorni učinak je još jači (Lee i sur., 2004).

#### 4.1.11. Učinak na zacjeljivanje rana

Kako je već poznato u tradicionalnoj medicini, dokazano je i na modelu štakora da topikalno primijenjen korijen biljne vrste *Z. jujuba* u obliku masti (5 mg/ml i 10 mg/ml) potiče zacjeljivanje rane.

Skvalen, izoliran iz lista biljne vrste, također povoljno utječe na zacjeljivanje, i to na način da djeluje na aktivnost makrofaga, a triterpenoid lupeol također pokazuje takav potencijal.

Na modelu miševa koji pate od dijabetesa streptozotocinom je izazvana dijabetička rana, a na zacjeljivanje su povoljno utjecali adelmidrol i trans-traumatična kiselina.

Ispitan je učinak klorogenske kiseline na zacjeljivanje rane poslije infekcije koji je u ispitivanoj skupini bio  $72,35\% \pm 2,86$  ili  $83,85\% \pm 4,82$  u odnosu na kontrolnu skupinu  $53,53\% \pm 6,58$ . Također, broj bakterija je nakon 5. i 7. dana infekcije bio puno manji u ispitivanoj skupini liječenoj klorogenskom kiselinom (Liu i sur., 2020; Mahajan i sur., 2009).

#### 4.1.12. Ostali učinci

Utvrđena je **antiastmatična aktivnost** jujubozida B i etanolnih ekstrakata ploda biljne vrste koji znatno inhibiraju eozinofiliju i leukocitozu. Miševima kojima je peroralno davan jujubozid B značajno je bio smanjen broj upalnih stanica u tekućini dobivenoj ispiranjem bronhoalveola (Liu i sur., 2020).

Također je uočen **antikonvulzivni učinak** ekstrakata ploda biljne vrste *Z. jujuba* ispitan na muškim štakorima Wistar kojima su napadi inducirani kemijski ili električki. Ekstrakti ploda poboljšavaju kognitivni deficit sprječavanjem napadaja, a povećana je i aktivnost AChE (acetilkolinesteraze) i BChE (butirilkolinesteraze) (Pahuja i sur., 2011).



Ispitivana je djelotvornost eteričnog ulja dobivenog iz sjemenki biljne vrste **u poticanju rasta kose**. Točan mehanizam nije još poznat, no uočeno je da 1%-tno eterično ulje na obrijanoj koži miševa primijenjeno jednom dnevno u razdoblju od 21 dan povećava rast dlaka, broj folikula dlake u anagenoj fazi te debljinu dlake. Uočeno je i da etanolni ekstrakt ploda biljne vrste *Z. jujuba* fermentiran sa 1%-tnim *S. cerevisiae* djeluje pozitivno na rast dlaka u miševa produljujući anagenu fazu na način da smanjuje oksidativni stres (Choa i Kim, 2020; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

Vodeni ekstrakt ploda najvjerojatnije ima važnu ulogu u oba procesa koji čine **hematopoezu**. Proučavan je ekstrakt koji je imao najmanje 35 µg/g flavonoida i 100 µg/g cikličkih nukleotida te je uočeno da potiče ekspresiju eritropoetina induciranu HIF-om (hypoxia inducible factor) što je važno u regulaciji jednog procesa hematopoeze, eritropoeze u koštanoj srži. S druge strane, potiče ekspresiju enzima hem oksigenaze-1 (iz hema nastaje biliverdin, ugljikov monoksid i slobodno željezo), biliverdin reduktaze (iz biliverdina nastaje bilirubin) te feroportina (oslobađanje slobodnog željeza u cirkulaciju) povećavajući fagocitoznu ulogu makrofaga u recikliranju hem željeza što čini drugi proces hematopoeze, eritrofagocitoza. Stoga, žižula bi mogla biti jedna od opcija u liječenju i prevenciji anemije (Chen i Tsim, 2020; Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

Proučavan je učinak kineskih ljekovitih biljaka **u liječenju HAPE-a** (high-altitude pulmonary edoema) i **HAPH-a** (high-altitude pulmonary hypertension), budući da sve više postaje popularan turizam koji uključuje velike nadmorske visine koje su često uzrok tim bolestima. U ispitivanju je korišten i plod biljne vrste *Z. jujuba* u terapiji HAPH izazvane štakorima u hipoksično-hipobarnoj komori. Rezultati pokazuju smanjenje upalne reakcije i količine CRP-a (C-reaktivni protein), EPO-a (eritropoetin), VEGF-a (vaskularni endotelni faktor rasta) u serumu (Wang i sur., 2020).

Kako rezultati prikazuju, UNA bi se mogla koristiti **u terapiji hiperglikemije**. U studijama je in vitro inhibirala aktivnost enzima  $\alpha$ -glukozidaze kvasca bolje od antidijabetika akarboze i ULA-e, smanjila je aktivnost glikogen fosforilaze u mišiću zeca te povećala ekspresiju proteina transportera glukoze tipa 4 (GLUT4) u membrani stanica skeletnih mišića štakora. Prikazani su i pozitivni učinci ULA-e na hiperglikemiju, no ne u svim uvjetima (Son i Lee, 2020).

U literaturi se opisuju učinci ploda biljne vrste na **uspješnije dojenje** novorođenčadi. Naime, zbog nekih uobičajenih problema s dojkama u dojilja često se događa prerani prekid dojenja, a

poznato je koliko je ono bitno u mnogima aspektima razvoja novorođenčadi. Postoje dokazi da bi se, između ostalog, korištenjem ploda biljne vrste *Z. jujuba* mogle ublažiti pukotine nastale na bradavicama dojki u dojilja, a koje su u SAD-u jedan od najznačajnijih faktora koji sprečavaju kontinuirano dojenje (Rahnemaie i sur., 2018).

Također ima dokaza o **antidepresivnom učinku** biljne vrste. Nekoliko tradicionalnih kineskih biljnih formula, a koje sadrže biljnu vrstu *Z. jujuba*, pokazuju smanjenje simptoma depresije in vivo. Primjerice, CUMS (chronic unpredictable mild stress) štakori bili su tretirani tradicionalnom kineskom biljnom formulom, Ganmai Dazao Decoction, koja sadrži sladić, pšenicu i žižulu te im je u mozgu uočena povećana koncentracija monoaminskih neurotransmitera NE i 5-HT (Wang i sur., 2019).

Radila su se i istraživanja o učinku tradicionalnih biljnih vrsta **u liječenju osteoporoze**. Tako je za betulinsku kiselinu, izoliranu iz biljne vrste *Z. jujuba*, utvrđeno da potiče diferencijaciju i mineralizaciju osteoblasta MC3T3-E1 (Zhanga i sur., 2016).

## **4.2. Klinička ispitivanja**

Da bi neki lijek, pa tako i biljni lijek, stigao na tržište, bitni su pouzdani dokazi o njegovoj učinkovitosti i sigurnosti. Iako za *Z. jujuba* još uvijek nedostaje dovoljan broj kliničkih istraživanja koja bi dala znanstveno utemeljene i valjane rezultate, ipak su neka od njih provedena (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017).

### **4.2.1. Plod biljne vrste *Z. jujuba***

Budući da tradicionalna primjena ploda biljne vrste i preklinička ispitivanja pokazuju dobre rezultate u zaštiti jetre i prevenciji jetrenih bolesti, provedena je dvostruko slijepa studija koja je ispitala **učinak ploda na novorođenačku žuticu**. Kliničko istraživanje koje je odobrio Institucionalni etički odbor za ljudska istraživanja Yasuj provedeno je na 121 dojenčadi oba spola. Ispitivana je skupina dojenčadi tri puta dnevno primila 150 mg/kg sušenog ekstrakta ploda biljne vrste *Z. jujuba* i fototerapiju, a kontrolna destiliranu vodu i fototerapiju. Rezultati su pokazali da je u ispitivanoj skupini u prva 4 dana došlo do značajnog smanjenja razina bilirubina u serumu, najvjerojatnije zbog veće brzine klirensa i defekacije. Naime, kao

nuspojava je zabilježen blagi proljev u 3 dojenčadi i pojačano mokrenje (Ebrahimi i sur., 2011).

Također je provedeno jedno trostruko slijepo, placebo kontrolirano, kliničko ispitivanje kako bi se utvrdio **učinak ploda na razine lipida u serumu**. U dvije skupine je podijeljeno 86 tinejdžera (12 - 18 g.) koji su patili od dislipidemije i imali indeks tjelesne mase jednak ili veći od onog koji je dobno ili spolno specifični. Ispitivana skupina je 4 tjedna svakodnevno primala 15 g pulveriziranih smrznutih suhih plodova *Z. jujuba*, a kontrolna skupina mikrokristaliničnu celulozu. Kontrolnoj skupini izmjereno je  $157,5 \pm 47,9$  mg/dL, a ispitivanoj  $132,2 \pm 49,7$  mg/dL triglicerida u serumu, dok su razine LDL-C u serumu iznosile  $114,9 \pm 38,6$  mg/dL za kontrolnu i  $104,7 \pm 22,4$  mg/dL za ispitivanu skupinu. Takvi rezultati govore o potencijalnom liječenju ili prevenciji ateroskleroze žižulom u mlađoj životnoj dobi. Osim što triterpenoidi sprječavaju nastajanje pjenastih stanica u makrofagima i time preveniraju aterosklerozu, pektin, vrsta topljivih vlakana, koji se nalazi u staničnoj stijenci također ima povoljan utjecaj na razinu kolesterola (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017, Sabzghabae i sur., 2013).

U drugoj dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj, studiji ispitanici su bili dvanaest muškaraca te dvadeset i pet žena (prosječna dob 59,5 godina) koji su tvrdili da već više od 2 godine pate od idiopatskog kroničnog zatvora što je potvrđeno mjerenjem tranzitnog vremena. Da bi se ispitao **učinak ploda biljne vrste na idiopatski kronični zatvor**, ispitivana skupina je dnevno trebala uzimati dozu od 20 kapi ekstrakta ploda i povećavati je ili smanjivati za 4 kapi svaka 4 dana do maksimalno 40 kapi, dok je kontrolna skupina uzimala placebo. U ispitivanoj su se skupini smanjile tegobe kroničnog zatvora, moguće da zbog antrakinona, a to je pokazalo i tranzitno vrijeme. Budući da je studija prekratko trajala, samo 12 tjedana, nije se zaključivalo o štetnosti ekstrakta. Ipak, pokazalo se da u tom razdoblju ne utječe na funkciju bubrega i jetre, niti pokazuje promjene u radu srca. Jedna je od glavnih prednosti ove studije, u odnosu na one koje su uključivale klasičnu medicinsku terapiju konstipacije, da uključuju i objektivnu procjenu stanja konstipacije, tranzitno vrijeme (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017; Naftali i sur., 2008).

U jednoj se studiji ispitan **učinak ploda na dojenje novorođenčadi**. U skupini dojilja na bradavice se nanosio losion od ploda biljne vrste 5 puta na dan nakon dojenja, dok su se u kontrolnoj skupini isto nakon dojenja bradavice tretirale majčinim mlijekom. Dokazano je da se, u odnosu na kontrolnu skupinu, u ispitivanoj skupini dojilja smanjuje intenzitet boli u

bradavicama, a analgetski i protuupalni učinak se pripisuje flavonoidima, steroidima, masnim kiselinama, epikatehinu, vitaminima A i C (Rahnemaie i sur., 2018).

Provedena su mnoga pretklinička, ali i klinička istraživanja PHY906 dekokta koji se sastoji od mješavine četiriju biljnih droga - korijena *Scutellaria baicalensis* Georgi. (štit), *Glycyrrhiza uralen-sis* Fisch. (sladić) i *Paeonia lactiflora* Pall (božur) i ploda *Ziziphus jujuba* (kineska datulja), a da bi se dokazala njegova **učinkovitost u adjuvantnoj terapiji raka**. Do 2012. je zabilježeno da je u SAD-u i na Tajvanu pokrenuto 5 kliničkih ispitivanja koje je uključivalo taj dekokt. Dvije studije su bile u I. fazi (uznapredovali rak debelog crijeva), dvije studije u I/II. fazi (uznapredovali hepatocelularni karcinom i uznapredovali rak gušterače) i jedna studija u II. fazi (uznapredovali hepatocelularni karcinom). Rezultati pokazuju da je korištenje PHY906 uz konvencionalnu kemoterapiju pojačalo odgovor na liječenje raka, poboljšalo kvalitetu života i/ili povećalo stopu preživljavanja (Liu i Cheng, 2012).

#### **4.2.2. Sjemenka biljne vrste *Z. jujuba***

Bila su provedena mnoga klinička ispitivanja koja uključuju Suan Zao Ren (sjemenka *Ziziphus jujuba* var. *spinosa*) kako bi se utvrdila njezina **učinkovitost u terapiji nesаницe**. No, meta-analiza randomiziranih kontrolnih ispitivanja je utvrdila da dokazi nisu relevantni zbog mnogih propusta, najviše u kvaliteti metodologije, pa se ne mogu donijeti kvalitetni zaključci. Primjerice, neke studije uopće nisu imale placebo kontrole, dvostruko slijepi dizajn, objektivnost i dulje razdoblje praćenja (Rodríguez Villanueva i Rodríguez Villanueva, 2017, Yeung i sur., 2012).

Jedno novije kliničko ispitivanje, dvostruko slijepo, imalo je za cilj utvrditi kako terapija kapsulama sjemenki žižule utječe na poremećaj spavanja od kojeg pate mnoge žene u postmenopauzi. U ispitivanju je sudjelovalo 53 postmenopauzalnih žena u ispitivanoj skupini i isto toliko u kontrolnoj skupini. Dvaput dnevno 3 tjedna ispitivana skupina primila je oralno 250 mg kapsule sjemenki žižule, a kontrolna skupina placebo kapsule. Rezultati su pokazali da terapija kapsulama sjemenki žižule poboljšava kvalitetu spavanja u postmenopauzalnih žena (Mahmoudi i sur., 2020).

Provedeno je jedno kliničko ispitivanje koje je potvrdilo **ulogu biljne vrste *Z. jujuba* u liječenju depresije**. U razdoblju od 8 tjedana jedna se skupina pacijenata liječila tabletama

sertralin hidroklorida, a druga kombinacijom tih tableta i dekokta Yangxin (*Bupleurum chinensis* DC., *Ziziphus jujuba* Mill., *Paeonia lactiflora* Pall. et al.). U toj drugoj skupini pacijenata liječenoj kombinacijom primijećen je bolji terapijski učinak prema HAMD ljestvici zbog sinergizma, ali i manja incidencija nuspojava (Wang i sur., 2019).

## **5. ZAKLJUČCI**

Biljna vrsta *Ziziphus jujuba* Mill već je poznata u tradicionalnoj kineskoj medicini. U našem podneblju koristi se plod ove biljne vrste koji se naziva žižula. Iako su plodovi najčešće korišten dio ove biljne vrste, literaturni podaci govore u prilog tome da su i ostali dijelovi ljekoviti.

*Z. jujuba* sadrži triterpenske kiseline, saponine, alkaloide, flavonoide, polisaharide te jednostavne fenole. Većina in vitro ispitanih bioloških učinaka povezuje se s triterpenskim kiselinama, saponinima i alkaloidima.

Najveći broj istraživanja proveden je na ispitivanju antioksidativnog učinka raznih dijelova i sastavnica vrste *Z. jujuba*. Sam antioksidativni potencijal doprinosi i ostalim biološkim učincima kao što su protuupalni učinak, neuroprotektivni učinak te učinak na kardiovaskularni sustav.

Dosta studija govori u prilog antikancerogenog učinka vrste *Z. jujuba* za koji su uglavnom odgovorne triterpenske sastavnice.

Također je zanimljiv anksiolitički i sedativni učinak koji je potvrđen sjemenke ove biljne vrste kojem doprinose alkaloidi i saponini.

Iako postoje mnoge pretkliničke studije, broj kontroliranih kliničkih studija koje ispituju učinak vrste *Z. jujuba* je ograničen.

Pregledom dostupne literature možemo zaključiti da vrsta *Z. jujuba* ima širok terapijski potencijal koji još treba potvrditi kontroliranim kliničkim studijama.

## **6. LITERATURA**



Betulinic acid, [www.medchemexpress.com](http://www.medchemexpress.com), pristupljeno 24.6.2021.

Cao JX, Zhang QY, Cui SY, Cui XY. Hypnotic effect of jujubosides from Semen Ziziphi Spinosa. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130, 163–166.

Chang SC, Hsu BY, Chen BH. Structural characterization of polysaccharides from Zizyphus jujuba and evaluation of antioxidant activity. *Int J Biol Macromol*, 2010, 47, 445-453.

Chen CY, Chen YF, Tsai HY. What is the effective component in suanzaoren decoction for curing insomnia? Discovery by virtual screening and molecular dynamic simulation. *J Biomol Struct Dyn*, 2008, 26, 57–64.

Chen J, Liu X, Li Z, Qi A, Yao P, Zhou Z, Dong TTX, Tsim KWK. A Review of Dietary *Ziziphus jujuba* Fruit (Jujube): Developing Health Food Supplements for Brain Protection. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017, 1-10.

Chen J, Tsim KWK. A Review of Edible Jujube, the *Ziziphus jujuba* Fruit: A Health Food Supplement for Anemia Prevalence. *Front Pharmacol*, 2020, 11, 1-12.

Cheng D, Zhu C, Cao J, Jiang W. The protective effects of polyphenols from jujube peel (*Ziziphus Jujube* Mill) on isoproterenol-induced myocardial ischemia and aluminum-induced oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50, 1302-1308.

Choa EC, Kim K. A comprehensive review of biochemical factors in herbs and their constituent compounds in experimental studies on alopecia. *J Ethnopharmacol*, 2020, 258, 1-19.

Choi SH, Ahn JB, Kim HJ, Im NK, Kozukue N, Levin CE, Friedman M. Changes in Free Amino Acid, Protein, and Flavonoid Content in Jujube (*Ziziphus jujube*) Fruit during Eight Stages of Growth and Antioxidative and Cancer Cell Inhibitory Effects by Extracts. *J Agric Food Chem*, 2012, 60, 10245-10255.

Ebrahimi S, Ashkani-Esfahani S, Poormahmudi A. Investigating the Efficacy of *Zizyphus Jujuba* on Neonatal Jaundice. *Iran J Pediatr*, 2011, 21, 320-324.

El Maaiden E, El Kharrassi Y, Qarah NAS, Essamadi AK, Moustaid K, Nasser B. Genus *Ziziphus*: A comprehensive review on ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological properties. *J Ethnopharmacol*, 2020, 259, 1-32.

Gao QH, Wu CS, Wang M. The Jujube (*Ziziphus Jujuba* Mill.) Fruit: A Review of Current Knowledge of Fruit Composition and Health Benefits. *J Agric Food Chem*, 2013, 61, 3351-3363.

Goyal R, Sharma PL, Singh M. Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of *Ziziphus jujuba* in rat. *J Nat Med*, 2011, 65, 514–518.

Hamedi S, Arian AA, Farzaei MH. Gastroprotective effect of aqueous stem bark extract of *Ziziphus ju-juba* L. against HCl/Ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *J Tradit Chin Med*, 2015, 35, 666-670.

HCT 116, <https://imanislife.com>, pristupljeno 10.5.2021.

He SR, Zhao CB, Zhang JX, Wang J, Wu B, Wu CJ. Botanical and Traditional Uses and Phytochemical, Pharmacological, Pharmacokinetic, and Toxicological Characteristics of *Ziziphi Spinosae Semen*: A Review. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020, 1-21.

Hossain MA. A phytopharmacological review on the Omani medicinal plant: *Ziziphus jujube*. *J King Saud Univ Sci*, 2019, 31, 1352-1357.

Jiao R, Liu Y, Gao H, Xiao J, So KF. The Anti-Oxidant and Antitumor Properties of Plant Polysaccharides. *Am J Chinese Med*, 2016, 44, 1-26.

Ji X, Peng Q, Yuan Y, Shen J, Xie X, Wang M. Isolation, structures and bioactivities of the polysaccharides from jujube fruit (*Ziziphus Jujuba* Mill.). *Food Chem*, 2017, 227, 349-357.

Kaeidi A, Taati M, Hajializadeh Z, Jahandari F, Rashidipour M. Aqueous extract of *Zizyphus jujuba* fruit attenuates glucose induced neurotoxicity in an in vitro model of diabetic neuropathy. *Iran J Basic Med Sci*, 2015, 18, 301-306.

Kim DK, Baek JH, Kang CM, Yoo MA, Sung JW, Kim DK, Chung HY, Kim ND, Choi YH, Lee SH, Kim KW. Apoptotic activity of ursolic acid may correlate with the inhibition of initiation of dna replication. *Int J Cancer*, 2000, 87, 629 – 636.

Lee SM, Park JG, Lee YH, Lee CG. Anti-complementary activity of triterpenoides from fruits of *Zizyphus jujuba*. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27, 1883–1886.

Liu SH, Cheng YC. Old formula, new Rx: The journey of PHY906 as cancer adjuvant therapy. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140, 614-623.

Liu SJ, Lv YP, Tang ZS, Zhang Y, Xu HB, Zhang DB, Cui CL, Liu HB, Sun HH, Song ZX, Wei SM. Ziziphus jujuba Mill., a plant used as medicinal food: a review of its phytochemistry, pharmacology, quality control and future research. *Phytochem Rev*, 2020, 20, 507–541.

Mahajan RT, Chopda MZ. Phyto-Pharmacology of Ziziphus jujuba Mill – A Plant Review. *Phcog Rev*, 2009, 3, 320-329.

Mahmoudi R, Ansari S, Haghighizadeh HM, Maram NS, Montazeri S. Investigation the effect of jujube seed capsule on sleep quality of postmenopausal women: A double-blind randomized clinical trial. *Biomedicine*, 2020, 10, 42-48.

Maslinic acid, [www.medchemexpress.com](http://www.medchemexpress.com), pristupljeno 24.6.2021.

Mehreen A, Waheed M, Liaqat I, Arshad N. Phytochemical, antimicrobial, and toxicological evaluation of traditional herbs used to treat sore throat. *Biomed Res Int*, 2016, 2016, 1–9.

Miklavčič Višnjevec A, Arbeiter AB, Hladnik M, Ota A, Skrt M, Butinar B, Nečemer M, Krapac M, Ban D, Bučar-Miklavčič M, Ulrih NP, Bandelj D. An Integrated Characterization of Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) Grown in the North Adriatic Region. *Food Technol Biotechnol*, 2018, 57, 17-28.

Naftali T, Feingelernt H, Lesin Y, Rauchwarger A. Ziziphus jujuba extract for the treatment of chronic idiopathic constipation: a controlled clinical trial. *Digestion*, 2008, 78, 224–228.

Oleanolic acid, [www.medchemexpress.com](http://www.medchemexpress.com), pristupljeno 24.6.2021.

Pahuja M, Mehla J, Reeta KH, Joshi S, Gupta YK. Hydroalcoholic extract of Zizyphus jujuba ameliorates seizures, oxidative stress, and cognitive impairment in experimental models of epilepsy in rats. *Epilepsy Behav*, 2011, 21, 356-363.

Peng WH, Hsieh MT, Lee YS, Lin YC. Anxiolytic effect of seed of Ziziphus jujuba in mouse models of anxiety. *J Ethnopharmacol*, 2000, 72, 435–441.

- Rahnemaie FS, Zare E, Zaheri F, Abdi F. Effects of Complementary Medicine on Successful Breastfeeding and its Associated Issues in the Postpartum Period. *Iran J Pediatr*, 2018, 29, 1-10.
- Rangarajan H, Elumalai A, Chidanand DV. Traditional fruits of South India: Bioactive components and their potential health implications in chronic diseases. *J Food Biochem*, 2020, 45, 1-11.
- Rodríguez Villanueva J, Rodríguez Villanueva L. Experimental and Clinical Pharmacology of *Ziziphus jujuba* Mills. *Phytother Res*, 2017, 31, 347-365.
- Sabzghabae AM, Khayam I, Kelishadi R, Ghannadi A, Soltani R, Badri S, Shirani S. Effect of *Zizyphus Jujuba* Fruits on Dyslipidemia in Obese Adolescents: a Triple-masked Randomized Controlled Clinical Trial. *Med Arh*, 2013, 67, 156-159.
- Shergis JL, Ni X, Sarris J, Zhang AL, Guo X, Xue CC, Lu C, Hugel H. *Ziziphus spinosa* seeds for insomnia: a review of chemistry and psychopharmacology. *Phytomedicine*, 2017, 34, 38-43.
- Son J, Lee SY. Therapeutic Potential of Ursonic Acid: Comparison with Ursolic Acid. *Biomolecules*, 2020, 10, 1-16.
- Sun M, Tang Y, Ding T, Liu M. Investigation of cytochrome P450 inhibitory properties of maslinic acid, a bioactive compound from *Olea europaea* L., and its structure–activity relationship. *Phytomedicine*, 2015, 22, 56–65.
- Sušanj D, Gugić J, Očić V, Gadže J, Bolarić S, Batelja Lodeta K. Uzgoj, nutritivna svojstva i korištenje žižule (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Glasnik zaštite bilja*, 2020, 43, 42-49.
- Suttisri R, Lee IS, Kinghorn AD. Plant-derived triterpenoid sweetness inhibitors. *J Ethnopharmacol*, 1995, 47, 9-26.
- Tahergorabi Z, Abedini MR, Mitra M, Fard MH, Beydokhti H. “*Ziziphus jujuba*”: A red fruit with promising anticancer activities. *Phcog Rev*, 2015, 9, 99-106.
- Ursolic acid, [www.medchemexpress.com](http://www.medchemexpress.com), pristupljeno 24.6.2021.
- Ursonic acid, [www.medchemexpress.com](http://www.medchemexpress.com), pristupljeno 24.6.2021.

Wang LE, Cui XY, Cui SY, Cao JX, Zhang J, Zhang YH, Zhang QY, Bai YJ, Zhao YY. Potentiating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid of Semen Ziziphispinosae, on pentobarbital-induced sleep may be related to postsynaptic 5-HT1A receptors. *Phytomedicine*, 2010, 17, 404–409.

Wang T, Hou J, Xiao W, Zhang Y, Zhou L, Yuan L, Yin X, Chen X, Hu Y. Chinese medicinal plants for the potential management of high-altitude pulmonary oedema and pulmonary hypertension. *Pharm Biol*, 2020, 58, 815-827.

Wang YS, Shen CY, Jiang JG. Antidepressant active ingredients from herbs and nutraceuticals used in TCM: pharmacological mechanisms and prospects for drug discovery. *Pharmacol Res*, 2019, 150, 1-49.

Xie JH, Tang W, Jin ML, Li JE, Xie MY. Recent advances in bioactive polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill, *Plantago* spp., and *Morus* spp.: Structures and functionalities, *Food Hydrocoll*, 2016, 60, 148-160.

Yeung WF, Chung KF, Poon MMK, Ho FYY, Zhang SP, Zhang ZJ, Ziea ETC, Wong VT. Chinese herbal medicine for insomnia: A systematic review of randomized controlled trials. *Sleep Med Rev*, 2012, 16, 497-507.

Yue Y, Wu S, Zhang H, Zhang X. Characterization and hepatoprotective effect of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou sarcocarp. *Food Chem Toxicol*, 2014, 74, 76–84.

Zhanga ND, Hana T, Huang BK, Rahmanb K, Jianga YP, Xua HT, Qina LP, Xina HL, Zhanga QY, Li Y. Traditional Chinese medicine formulas for the treatment of osteoporosis: Implication for antiosteoporotic drug discovery. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189, 61-80.

*Zizyphus jujuba* Mill., <http://dbiodbs.units.it> , pristupljeno 22.1.2021.

## **7. SAŽETAK/SUMMARY**

Biljna vrsta *Ziziphus jujuba Mill.* koja pripada porodici Rhamnaceae najpoznatija je po svome plodu zbog čijih ga karakteristika nazivaju kineskom crvenom datuljom, ali i žižulom. „Plod života“ također je još jedan od sinonima, a on najbolje dočarava brojne blagodati ploda, ali i cijele biljke bogate najviše triterpenskim kiselinama, saponinima, alkaloidima, flavonoidima, jednostavnim fenolima i polisaharidima. Prvo poznata tradicionalnoj kineskoj medicini, danas se uzgaja u svim dijelovima svijeta, pa i u Hrvatskoj, te se koristi u prehrambene i terapijske svrhe. Brojna neklinička i manje brojna klinička istraživanja potvrđuju njezinu tradicionalnu primjenu i objašnjavaju njezine antioksidativne, protuupalne, antikancerogene, antimikrobne anksiolitičke, sedativno–hipnotičke, imunomodulatorne, gastroprotektivne, kardioprotektivne, hepatoprotektivne i ostale biološke učinke. Potencijal ove biljne vrste u povećanju kvalitete života ljudi sve je veći zbog mogućih učinaka u prevenciji ili terapiji bolesti.

Plant species *Ziziphus jujuba Mill.* which belongs to the family Rhamnaceae is best known for its whole fruit and because of its characteristics called Chinese red date, but also jujube. "Fruit of life" is another synonym and it best evokes the many benefits of the fruit, but also whole plants rich in triterpene acids, saponins, alkaloids, flavonoids, simple phenols and polysaccharides. The first known traditional Chinese medicine today is cultivated in all parts of the world, including Croatia, and is used for nutritional and therapeutic purposes. Numerous non-clinical and less numerous clinical studies confirm its traditional application and explain its antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antimicrobial, anxiolytic, sedative-hypnotic, immunomodulatory, gastroprotective, cardioprotective, hepatoprotective and other biological effects. The potential of this plant species in increasing the quality of human life is increasing due to its potential roles in disease prevention or therapy.

## **8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD**



## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Zavod za farmakognoziju  
Farmakognozija 2  
Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### FITOKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I BIOLOŠKI UČINCI BILJNE VRSTE

#### *ZIZIPHUS JUJUBA MILL.*

Klara Srša

#### SAŽETAK

Biljna vrsta *Ziziphus jujuba* Mill. koja pripada porodici Rhamnaceae najpoznatija je po svome plodu zbog čijih ga karakteristika nazivaju kineskom crvenom datuljom, ali i žižulom. „Plod života“ također je još jedan od sinonima, a on najbolje dočarava brojne blagodati ploda, ali i cijele biljke bogate najviše triterpenskim kiselinama, saponinima, alkaloidima, flavonoidima, jednostavnim fenolima i polisaharidima. Prvo poznata tradicionalnoj kineskoj medicini danas se uzgaja u svim dijelovima svijeta, pa i u Hrvatskoj, te se koristi u prehrabene i terapijske svrhe. Brojna neklinička i manje brojna klinička istraživanja potvrđuju njezinu tradicionalnu primjenu i objašnjavaju njezine antioksidativne, protuupalne, antikancerogene, antimikrobne anksiolitičke, sedativno–hipnotičke, imunomodulatorne, gastroprotektivne, kardioprotektivne, hepatoprotektivne i ostale biološke učinke. Potencijal ove biljne vrste u povećanju kvalitete života ljudi sve je veći zbog mogućih učinaka u prevenciji ili terapiji bolesti.

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

Rad sadrži: 50 stranica, 13 slika i 53 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *Ziziphus jujuba* Mill., žižula, kineska datulja, tradicionalna kineska medicina (TCM)

Mentor: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*  
**Dr. sc. Jasna Jablan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*  
**Dr. sc. Marijana Zovko Končić**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Rad prihvaćen: srpanj 2021.

## Basic documentation card

University of Zagrebu  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Department of Pharmacognosy  
Pharmacognosy 2  
Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

### FITOKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I BIOLOŠKI UČINCI BILJNE VRSTE

#### *ZIZIPHUS JUJUBA* MILL.

Klara Srša

#### SUMMARY

Plant species *Ziziphus jujuba* Mill. which belongs to the family Rhamnaceae is best known for its whole fruit and because of its characteristics called Chinese red date, but also jujube. "Fruit of life" is another synonym and it best evokes the many benefits of the fruit, but also whole plants rich in triterpene acids, saponins, alkaloids, flavonoids, simple phenols and polysaccharides. The first known traditional Chinese medicine today is cultivated in all parts of the world, including Croatia, and is used for nutritional and therapeutic purposes. Numerous non-clinical and less numerous clinical studies confirm its traditional application and explain its antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antimicrobial, anxiolytic, sedative-hypnotic, immunomodulatory, gastroprotective, cardioprotective, hepatoprotective and other biological effects. The potential of this plant species in increasing the quality of human life is increasing due to its potential roles in disease prevention or therapy.

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

Thesis includes: 50 pages, 13 pictures and 53 references. Original is in Croatian language.

Keywords: *Ziziphus jujuba* Mill., Jujube, Chinese date, traditional Chinese medicine (TCM)

Mentor: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Jasna Jablan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Marijana Zovko Končić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2021.