

# Upotreba biljne droge *Belamcandae chinensis* rhizoma (she gan) u fitoterapiji

---

Duka, Ivan

Professional thesis / Završni specijalistički

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:163:924357>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Ivan Duka

**UPOTREBA BILJNE DROGE BELAMCANDAE CHINENSIS  
RHIZOMA (SHE GAN) U FITOTERAPIJI**

Specijalistički rad

Zagreb, 2021.

PSS studij: Fitofarmacija s dijetoterapijom

Mentor rada: prof. dr. sc. Željko Maleš

Specijalistički rad obranjen je dana 1. travnja 2021. na Zavodu za farmakognoziju, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević
2. prof. dr. sc. Željko Maleš
3. dr. sc. Zdenka Kalodera, prof. emerita

Rad ima 59 listova.

## **Predgovor**

Specijalistički rad je izrađen pod vodstvom prof. dr. sc. Željana Maleša, na Zavodu za farmaceutsku botaniku Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta te Institutu za farmaceutske znanosti - Odjelu za farmakognoziju Karl-Franzens-Sveučilišta u Grazu.

*Zahvaljujem svim nastavnicima studija i mentoru na nesebičnoj podjeli znanja, vještina i iskustva.*

*Najveće hvala roditeljima na bezuvjetnoj podršci u mojoj potrazi za znanjem.*

*Ovim radom želim potaknuti čitatelja da razmisli o kulturnim razlikama koje neopravdano predstavljaju zapreku pri donošenju najboljih odluka za terapijski ishod u liječenju. Ne smijemo zaboraviti da izostanak dokaza nije dokaz izostanka. Veliko iskustvo i ustrajnost azijskih naroda u tradicionalnom liječenju trebali bi biti inspiracija svim ljudskim bićima za dobrobit naših najdražih, životinja i ljudi.*

## SAŽETAK

### Upotreba biljne droge *Belamcandae chinensis rhizoma* (she gan) u fitoterapiji

#### Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je sustavni pregled spoznaja o biljnoj drogi *Belamcandae chinensis rhizoma* (she gan) koji može poslužiti magistrima farmacije te drugim stručnjacima u području biomedicine i zdravstva kao izvor informacija potrebnih za provođenje racionalne fitoterapije i poslovanja s proizvođačima biljaka i lijekova tradicionalne kineske medicine.

#### Materijal i metode

Upotrijebljene su tražilice Google i Google Scholar. Za istraživane teme pretražene su baze podataka, stručne knjige i važeći propisi.

#### Rezultati

Biljni materijal i standardi kvalitete su definirani prema europskoj farmakopeji (Ph. Eur.) i drugim stručnim izvorima. Prikazane su posebnosti vrste *I. domestica* - morfologija, stanište i suvremene taksonomske spoznaje. Sastavnice ekstrakata biljne droge *Belamcandae chinensis rhizoma* su sistematično prikazane, sukladno biogenetskom podrijetlu prirodnih spojeva. Opisani su biološki učinci i farmakokinetika. Tradicionalna upotreba droge je razmotrena prema sustavu tradicionalne kineske medicine, a suvremena sukladno medicinskim znanostima kad god je to moguće. Navedene su tipične aktualne recepture koje sadrže biljnu drogu *Belamcandae chinensis rhizoma*, ali i povijesni zapisi receptura.

#### Zaključci

Drogu *Belamcandae chinensis rhizoma* nije moguće na tržištu registrirati kao dodatak prehrani (NN 160/2013). Na europskom tržištu nisu pronađeni takvi pripravci, dok su na globalnom dostupni

monopripravci droge američkih proizvođača u obliku ekstrakta, koji su nekad standardizirani na udio irisflorentina. Uobičajena doza droge u sustavu tradicionalne kineske medicine je šest do deset grama suhe droge pripravljene kao dekoka za indikacije poput upale grla i produktivnog kašlja. Droga je blago toksična te se ne preporuča kod trudnica.

## SUMMARY

### Use of herbal drug *Belamcandae chinensis rhizoma* (she gan) in phytotherapy

#### Objectives

This study is a systemic review of subjects relating to the herbal drug *Belamcanda chinensis* rhizome (she gan). The review might be a useful guide for the pharmacists or the other health specialists on subjects of rational phytotherapy and the quality of the drug in order to ensure good supplying practice.

#### Material and methods

The Google and the Google Scholar search engines were used for the data collection. The research encompasses the facts from the professional and the scientific literature, as well as the active legal framework.

#### Results

The plant material and the quality standards are defined according to the European pharmacopoeia, accompanied by the facts from the other relevant sources. The specifics regarding the species *I. domestica* are described, the morphology, the habitat and the contemporary taxonomic stance. The compounds found in the extracts of the drug are given and categorized based on their biogenic origin. The pharmacokinetics and the biological activities of the herbal drug are discussed. The traditional use of the drug is described through the lens of the Traditional Chinese Medicine, while the contemporary use is described with the terminology of the medical science, whenever possible. The typical formulas are given, both the historical and the ones that are still being used.

## **Conclusion**

The herbal drug *Belamcandae chinensis rhizoma* cannot be placed on the market in the form of the herbal supplement (NN 160/2013). No examples of supplements or drugs containing the herbal drug were found on the European market, meanwhile some supplements from American manufactures can be found on global market, these supplements are sometimes standardised on the content of irisflorentin. The usual dosage of the drug in TCM is between six and ten grams of dried plant material prepared as the decoction for the treatments of sore throat and cough with excess of phlegm. The drug is mildly toxic so it should not be used in pregnancy.



## Sadržaj

1. Uvod i pregled područja istraživanja.....	1
2. Cilj istraživanja .....	3
3. Materijali i metode .....	4
4. Rasprava.....	5
4.1. Biljni materijal i standardi kvalitete za farmaceutsku uporabu .....	5
4.1.1. Definicija droge .....	5
4.1.2. Identifikacija.....	5
4.1.3. Ispitivanja .....	8
4.2. Botanička obilježja biljnog materijala .....	13
4.3. Fitokemija.....	16
4.3.1. Jednostavni fenoli .....	16
4.3.2. Flavonoidi .....	19
4.3.3. Ksantoni .....	23
4.3.4. Terpeni .....	24
4.4. Farmakološka istraživanja .....	27
4.4.1. Farmakokinetička ispitivanja.....	27
4.4.2. Kemoprotektivni učinak .....	27
4.4.3. Protuupalni učinak .....	27
4.4.4. Učinak kod metaboličkih poremećaja.....	28
4.4.5. Estrogenu nalik učinak .....	30
4.5. Fitoterapija.....	33
4.5.1. Tradicionalna upotreba.....	33
4.5.2. Suvremena upotreba .....	37
5. Zaključak.....	41
6. Literatura.....	42
7. Životopis.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## 1. Uvod i pregled područja istraživanja

*Belamcandae chinensis* rhizoma (she gan) je biljni materijal odobren za upotrebu u farmaceutske svrhe prema europskoj farmakopeji, kao i farmakopeji Narodne Republike Kine (1,2). Upotreba she gan u fitoterapiji zasigurno datira barem od 300. godine, opisana je u jednom od prvih zapisa o tradicionalnoj kineskoj medicini - Shennong Bencao Jing. Navodi se kako je droga she gan primjenjivana kao antidot, analgo-antipiretik, ekspektorans i antiflogistik (3). U suvremenoj fitoterapiji monopripravci ove droge nisu uobičajeni, najčešće se primjenjuje u mješavini za dekokciju s drugim ljekovitim vrstama za indikacije vezane za respiratorni sustav, poput upale grla, astme, kašlja i dispneje (4). Tradicionalna upotreba she gan nije zabilježena izvan istočnih i jugoistočnih azijskih zemalja, a Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je uvrstila she gan u popis od 150 biljaka koje se najčešće upotrebljavaju u tradicionalnoj kineskoj medicini (5,6).

She gan je osušeni podanak vrste *Iris domestica* (L.) DC., Iridaceae, no često se navodi vrsta *Belamcanda chinensis* (L.) DC. kao izvor droge, što je posljedica dugogodišnje rasprave o položaju ove vrste unutar roda *Iris* L. Suvremeni stručnjaci u taksonomiji biljaka smatraju da bi ovu vrstu ipak trebalo izdvojiti u monotipski rod *Belamcanda* Adans. (6). Povezanost s rodom *Iris* dokazana je molekularnim ispitivanjima, ali na to ukazuje i sličnost u fitokemijiskom sastavu, odnosno prisutnosti kemotaksonomskih markera poput izoflavonoida, ksantona i iridala. Neki od navedenih spojeva, kao i različiti ekstrakti droge, pokazali su brojne biološke učinke poput fitoestrogenog, protuupalnog, antitumorskog, antioksidativnog, kemoprotektivnog, antimutagenog i hipoglikemijskog učinka (2,4,7).

Kvaliteta biljnog materijala koji se primjenjuje u tradicionalnoj kineskoj medicini jedna je od gorućih tema, a uvrštavanje droge u europsku farmakopeju ključni je korak koji osigurava pripravke odgovarajuće kvalitete na europskom području. She gan ima potencijal da na europsko tržište dođe u obliku biljnog materijala i/ili ekstrakta, zasebno ili u kombinaciji s biljnim materijalom drugih ljekovitih

vrsta. Nadalje, nakon provedenih kliničkih istraživanja pojedini spojevi s izraženom farmakološkom učinkovitošću mogli bi se upotrebljavati kao dio zapadnjačke, ortodoksne medicine.

## 2. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je sustavni pregled spoznaja o biljnoj drogi *Belamcandae chinensis* rhizoma (she gan); detaljno će se opisati biljni materijal, zahtjevi kvalitete droge za farmaceutske upotrebu, fitokemija, farmakološka istraživanja te tradicionalna i suvremena primjena u fitoterapiji. Pregled značajnih spoznaja o she gan na hrvatskom jeziku može poslužiti magistrima farmacije te drugim stručnjacima u području biomedicine i zdravstva kao izvor informacija potrebnih za provođenje racionalne fitoterapije i poslovanja s proizvođačima biljaka i lijekova tradicionalne kineske medicine.

### 3. Materijali i metode

U sustavni pregled saznanja uključene su sljedeće teme: biljni materijal i standardi kvalitete za farmaceutsku uporabu, botanička obilježja vrste *Iris domestica* (L.) DC., Iridaceae, fitokemijski podaci, farmakološka istraživanja te tradicionalna i suvremena upotreba.

Pretražene su sljedeće baze podataka: SCOPUS, Web of Science CC i Pubmed te su upotrijebljene tražilice: Google i Google Scholar. Upotrijebljene su ključne riječi: Belamcanda chinensis, Iris domestica, she gan, Belamcanda AND ethno, Belamcanda AND traditional, Belamcanda AND clinical, Belamcanda AND medicinal. Pretraženi su zapisi o vrstama roda *Iris* L. u knjigama koristeći indeks latinskih imena, u knjižnici Instituta za farmaceutske znanosti - Odjela za farmakognoziju Karl-Franzens-Sveučilišta u Grazu.

Biljni materijal i standardi kvalitete za farmaceutsku uporabu su definirani sukladno važećim zakonskim propisima na teritoriju Europske Unije, kako je definirano u europskoj farmakopeji (Ph. Eur.), te drugim stručnim izvorima koji se odnose na kvalitetu biljnog materijala. Botanička obilježja obuhvaćaju morfologiju, stanište i suvremene taksonomske spoznaje o vrsti. Fitokemija, odnosno sustavni prikaz sastavnica ekstrakata biljne droge she gan podijeljen je u pododjeljke sukladno biogenetskom podrijetlu na jednostavne fenolne spojeve, flavonoide, ksantone i terpeni. Pregled farmakoloških učinaka podanka leopardovog cvijeta (*I. domestica*) podijeljen je na pododjeljak koji se odnosi na farmakokinetička ispitivanja i pododjeljke s obzirom na farmakodinamiku, odnosno organ i/ili organski sustav u kojem dolazi do farmakološke interakcije, izuzev u slučaju kad je učinak poopćen na cijeli organizam, kao što je slučaj za kemoprotektivni i estrogeni nalik učinak. Tradicionalna upotreba droge je razmotrena prema sustavu tradicionalne kineske medicine te su navedene tipične recepture koje sadrže biljnu drogu she gan. Suvremena upotreba razrađena je sukladno ortodoksnoj medicinskoj znanosti kad god je to moguće te se navode recepture čija je primjena aktualna sukladno suvremenoj literaturi, kao i slučajevi kada se droga dodaje drugim mješavinama radi specifičnog terapijskog ishoda.

#### 4. Rasprava

##### 4.1. Biljni materijal i standardi kvalitete za farmaceutsku uporabu

###### 4.1.1. Definicija droge

Prema europskoj farmakopeji drogu *Belamcandae chinensis rhizoma* čine osušeni, cijeli ili sječeni podanci vrste *Iris domestica* (L.) Goldbatt et Mabb. (*syn. Belamcanda chinensis* (L.) DC.) skupljeni u rano proljeće za vrijeme razvoja cvjetnih pupova ili u kasnu jesen kada nadzemni dijelovi biljke odumiru. Korijenje se odstranjuje. Droga sadrži minimalno 0,1 % irisflorentina (1).

###### 4.1.2. Identifikacija

###### Makroskopska obilježja droge

Cjeloviti podanci su čvorasti i zaobljeni, dugi 3 – 10 cm, a široki 1 – 2 cm u promjeru. Nepravilnog su oblika, više ili manje razgranati s brojnim prstenastim godišnjim prirastima. Prisutni su ožiljci nalik na krater, s jedne strane veći, oni koji odgovaraju godišnjem rastu nadzemne stabljike, a s druge strane, brojni manji ožiljci od korijenja (1). Longitudinalno sječeni podanci su tvrdi, dugački 2 – 8 cm, 2 cm široki i 1 cm debeli (slika 1.). Prerez je granularan, narančastosmeđe ili tamnosmeđe boje poput vanjske površine podanka. Središnji parenhim je rupičast zahvaljujući brojnim primarnim provodnim elementima (1). Leon i Yu-lin (4) navode da je droga tvrda, slabog mirisa, gorka i blago prodornog okusa, a droga dobre kvalitete je žuta ili narančasta na poprečnom prerezu. Nadalje, prema kineskim autorima droga za dekokciju se dobiva sječenjem podanka na tanke ploške, debljine do 2 mm.



Slika 1. Biljna droga she gan pripravljena longitudinalnim sječenjem podanaka  
(fotografirao: Ivan Duka)

#### Mikroskopska obilježja droge

Prašasta droga je narančastosmeđe ili tamnosmeđe boje. Prema farmakopeji prašak se promatra suspendiran u otopini kloral hidrata. Prisutni su sljedeći dijagnostički značajni elementi:

- A) rijetki dijelovi smeđe kore s priljubljenim poliedralnim stanicama;
- B) brojne zaobljene parenhimske stanice s nepravilnim zadebljanjima stanične stjenke i jažicama; sadržaj stanica je granuliran ili uljast, dok neke sadrže prizmatične kristale kalcijeva oksalata, 250  $\mu\text{m}$  dugačke i 50  $\mu\text{m}$  široke u promjeru, kristali su najčešće slomljeni;
- C) elementi ksilema: mrežaste i rupičaste traheje. Promatranjem praška suspendiranog u 50% V/V otopine glicerola vide se brojna jajasta škrobna zrnca, široka od 3 – 15  $\mu\text{m}$  u promjeru, uglavnom jednostavna, a ponekad složena, s 2-5 odjeljaka. Škrobna zrnca mogu biti slobodna ili se nalaze unutar parenhimskih stanica, nekad je vidljiva točkasta jezgra zrnca (1).

Otisak prsta droge dobiven tehnikom tankoslojne kromatografije

Međunarodna organizacija za standardizaciju (ISO) je osnovala Vijeće za kvalitetu i sigurnost proizvoda Tradicionalne kineske medicine (ISO/TC 249), koje ističe kako je tehnologija otiska prsta ekstrakata biljnih vrsta tankoslojnom kromatografijom metoda izbora za identifikaciju biljnog materijala. Europska farmakopeja ne nalaže provođenje ispitivanja otiska prsta za drogu she gan.

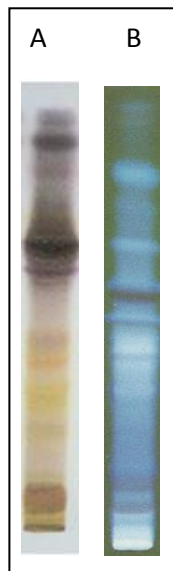
Uzorak droge, 10 g, ekstrahira se u Soxhlet aparaturi 5 sati sa 150 mL metanola. Ispitivana otopina je filtrat ekstrakta koji se uparava te po potrebi nadopunjuje metanolom do 15 mL. Na silika gel 60 ploče impregnirane s fluorescentnim indikatorom F<sub>254</sub> se nanosi 30 µL ispitivane otopine, a razdvajanje se provodi u dva kromatografska sustava:

sustavu 1 - mobilnu (pokretnu) fazu čine toluen, kloroform, metanol i mravlja kiselina u omjerima 1:6:2:1 V/V;

sustavu 2 – mobilna (pokretna) faza se sastoji od istih otpala, ali u omjerima 1:7:1:1 V/V.

Detekcija kromatografskih mrlja se provodi promatranjem ploče na 254 i 365 nm ili promatranjem na danjem svijetlu nakon derivatizacije vanilin – sumporna kiselina reagensom. Pri derivatizaciji najprije se na ploču nanosi 1 %-tna otopina vanilina u etanolu, potom slijedi nanošenje 5 %-tne otopine sumporne kiseline u etanolu nakon čega se ploče zagrijavaju 5 do 10 minuta na 105 °C. Prilikom pregleda ploča razvijenih u sustavu 1, prethodno derivatizaciji, vidljive su žute mrlje koje odgovaraju izoflavonima, flavonima i ksantonima u području faktora zadržavanja od 0,5 do 0,8. Pri promatranju na 254 nm vidljive su brojne zone gašenja fluorescencije duž putovanja uzorka. Nakon derivatizacije vanilin – sumporna kiselina (VS) reagensom vidljive su crnoljubičaste mrlje terpena i stilbena u gornjem dijelu kromatograma (slika 2.). Prilikom upotrebe sustava 2 i detekcije native ploče na 365 nm moguće je u gornjem i srednjem dijelu vidjeti karakteristične mrlje plave fluorescencije (aglikoni izoflavonida i stilbeni), a u donjem dijelu kromatograma vidljive su sive mrlje heterozida izoflavona (iridin, tektoridin i drugi) (8).





Slika 2. A) Tipični kromatogram droge dobiven upotrebom sustava 1 i derivatizacije s vanilin - sumporna kiselina reagensom promatran na dnevnom svijetlu; B) Tipični kromatogram droge dobiven upotrebom sustava 2 promatran na 365 nm (8)

#### 4.1.3. Ispitivanja

Patvorenje vrstom *Iris tectorum* Maxim.

Vrsta *I. tectorum* je izvor morfološki slične droge, koja je 2005. godine izdvojena u zasebnu monografiju farmakopeje Narodne Republike Kine, chuan she gan (*Iridis tectori* rhizoma) (9). Suhi podanci su slatki i gorki, više stožastog oblika od podanaka vrste *I. domestica*. Na vanjskoj površini su žućkaste ili sivkastosmeđe boje. Razlika u boji prereza je najvažnija za razlikovanje droga, kod droge *Iridis tectori* rhizoma presjek je sive, žućkastobijele ili žućkastosmeđe boje, a kod *Belamcandae chinensis* rhizoma narančastosmeđe ili tamnosmeđe boje. Autori navode da nije moguće razlikovati droge ako nisu pravilno procesuirane te se u tom slučaju preporuča upotreba laboratorijskih metoda (4). Pritom se uzima u obzir relativni sadržaj heterozida acetofenona, koji su značajno više zastupljeni kod podanka vrste *I. tectorum*, te izostanku tipičnih ksantona i resveratrola u podanku ove vrste (8).

Droga vrste *I. tectorum* nije uvrštena u europsku farmakopeju. Štoviše, definicija droge isključuje vrstu *I. tectorum* kao mogući biljni materijal. Ispitivanje se provodi tankoslojnom kromatografijom na silika gel pločama (debljina sloja 2 – 10  $\mu\text{m}$ ) impregniranim s fluorescentnim indikatorom ( $F_{254}$ ). Mobilna faza se sastoji od ledene octene kiseline, cikloheksana i etil acetata u omjerima 1:20:80 V/V. Otopina za ispitivanje se priprema ekstrakcijom 0,5 g praškaste droge s 5 mL metanola unutar ultrazvučne kupelji, na sobnoj temperaturi, u trajanju od 10 minuta. Nakon centrifugiranja smjese, supernatant se filtrira te se 4  $\mu\text{L}$  tako dobivene otopine nanosi na ploču za kromatografiju u linijama od 8 mm. Poredbena otopina se dobiva otapanjem 1 mg irisflorentina i 1 mg kumarina u 4 mL metanola. Razvijanje ploče se zaustavlja kad otapalo prijeđe put od 6 cm od mjesta nanošenja uzoraka. Ploče se suše na zraku. Interpretacija rezultata se obavlja na slijedeći način:

- a) detekcija A - ne vide se zone gašenja fluorescencije na 254 nm između zona koje čine irisflorentin i kumarin u poredbenoj otopini, također, na donjoj trećini kromatograma nisu prisutne zone gašenja fluorescencije;
- b) detekcija B - kromatogram promatran pod svjetlom valne duljine 365 nm ne sadrži blijedoplavu fluorescentnu zonu iznad one koja odgovara kumarinu u poredbenoj otopini (1).

#### Gubitak sušenjem

Test gubitka sušenjem je standardna farmakopejska metoda koja se upotrebljava za određivanje vlažnosti biljnog materijala. 1,000 g praškaste droge odvagano s preciznošću tri decimalna mjesta, suši se grijanjem na 105 °C u trajanju od 2 sata. Razlika u masi ne smije prelaziti 10 % (1).

#### Ukupni pepeo

Pepeo koji ostaje nakon potpunog sagorijevanja ukazuje na anorgansku tvar prisutnu u biljnom materijalu. Ukupni pepeo, određen prema standardnoj farmakopejskoj metodi, ne smije prelaziti 7 % (1).

Ukupni pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini

Masa tvari koja preostaje nakon digestije kloridnom kiselinom, prema standardnoj metodi, ne smije prelaziti 1.0 % ukupne mase ispitivanog biljnog materijala (1). Rezultati ovog ispitivanja najčešće ukazuju na kontaminaciju biljnog materijala elementima tla.

Određivanje sadržaja irisflorentina tekućinskom kromatografijom

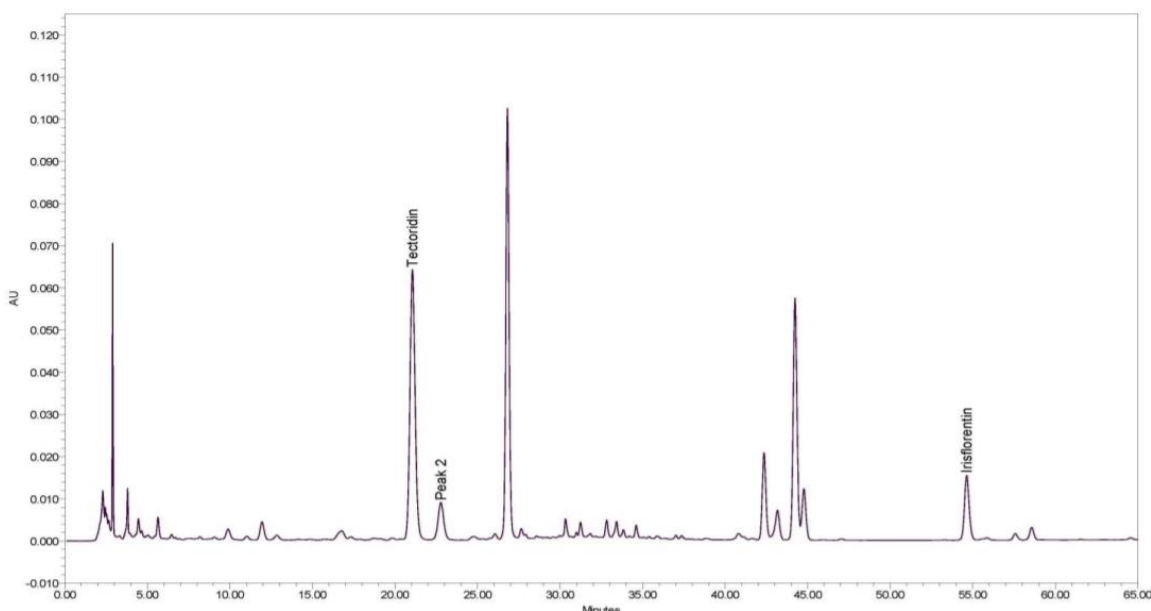
Sastavnice ekstrakta biljnog materijala razdvajaju se na koloni sa stacionarnom (nepokretnom) fazom od oktadecil silika gela, duljine 25 cm te promjera 4,6 mm. Metoda je gradijentna, za eluiranje sastavnica s kolone koristi se mješavina mobilne faze A (0,05 %-tna otopina (V/V) fosforne kiseline u destiliranoj vodi) te mobilne faze B (acetonitril) prema shemi (slika 3.). U sustav se injektira 10  $\mu$ L uzorka, protok mobilne faze je 1,0 mL/min, a detekcija se provodi spektrofotometrijski na 266 nm.

Vrijeme (min)	Mobilna faza A (%; V/V)	Mobilna faza B (%; V/V)
0 – 5	82	18
20	80	20
30	67	33
50	60	40
65	47	53

Slika 3. Shematski prikaz udjela mobilnih faza u ovisnosti o vremenu za gradijentnu analizu tekućinskom kromatografijom

Otopina za ispitivanje se priprema ultrazvučnom ekstrakcijom 0,100 g biljnog materijala u 10 mL 70 %-tnog etanola kroz 30 minuta. Smjesa se centrifugira, supernatant se prenosi u odmjernu tikvicu, a talog se suspendira u 10 mL etanola te se postupak ultrazvučne ekstrakcije ponavlja. Sjedinjeni supernatanti se nadopunjavaju 70 %-tnim etanolom do oznake volumetrijskog posuđa (25.0 mL). Prethodno analizi,

dobivena otopina se filtrira kroz filter veličine pora od 0,45 µm. Poredbena otopina a se dobiva otapanjem 5,0 mg irisflorentina u 50 mL 70%-nog etanola, a dobivena otopina se dalje razrjeđuje istim otapalom do desetorostruko manje koncentracije. S druge strane, poredbena otopina b se dobiva primjenom certificirane poredbene supstancije – 0,10 g *belamcanda chinensis rhizome HRS*, sukladno pripremi otopine za ispitivanje. Poredbena otopina a se koristi za identifikaciju pika koji odgovara irisflorentinu, čije je vrijeme zadržavanja na koloni otprilike 54 minute u prethodno opisanim uvjetima. Prikladnost sustava se utvrđuje pomoću poredbene otopine b, razlučivost pikova tektoridina i pika 2 (nepoznata sastavnica) mora biti minimalno 1,5 (slika 4.).



Slika 4. Kromatogram dobiven upotrebom certificirane poredbene supstancije – *belamcanda chinensis rhizome HRS* (10)

Udio irisflorentina određuje se prema sljedećoj formuli:

$$\frac{A1 \times m2 \times p}{A2 \times m1 \times 20}$$

pri čemu je A1 površina pika koji odgovara irisflorentinu u ispitivanoj otopini dok je A2 površina pika irisflorentina u kromatogramu poredbene otopine a. Odvaga biljnog materijala odgovara m1, a odvaga irisflorentina m2. Faktor standarda,  $p$ , odgovara sadržaju irisflorentina u certificiranoj referentnoj supstanciji (1).

#### 4.2. Botanička obilježja biljnog materijala

Leopardov cvijet, *Iris domestica* DC., Iridaceae, je trajnica s podzemnom stabljikom – podankom (rizomom), koji najčešće nosi puzajuće horizontalne izdanke te heliotropno izdanke sabljasto-lepezastih listova karakterističnih za rod *Iris* L. (slika 5.) (7). Listovi su široki 1 - 2 cm, a dosežu duljinu do jednog metra (11).



Slika 5. Ilustracija habitusa vrste *I. domestica* (7)

Vrsta je dobila naziv zahvaljujući koroliničnom ocvijeću kojeg čine 6 jednakih listova perigona žute ili narančaste boje s crvenim ili ljubičastim mrljama (slika 6.). Cvjetovi su dvospolni i trimerni, uobičajeno promjera do 4 cm. Cvat je ograničen, račvastog tipa, čine ga 3 do 12 cvjetova. Za razliku od ostalih vrsta roda *Iris* (slika 7.), njuške tučka nisu rasperjane i proširene, što uz istovrsne listove perigona, čini ovu vrstu

lako prepoznatljivom u periodu cvatnje. Plodnica je podrasla te se nakon oplodnje razvija suhi, trogradni pucavac - tobolac. Jedinstveno u rodu *Iris*, tobolac se u potpunosti otvara te ostavlja izloženu središnju os na kojoj se nalaze sjajne crne sjemenke (slika 6.). Vrsta se ponekad naziva Blackberry Lily na engleskom govornom području zahvaljujući izgledu zrelog ploda (7).



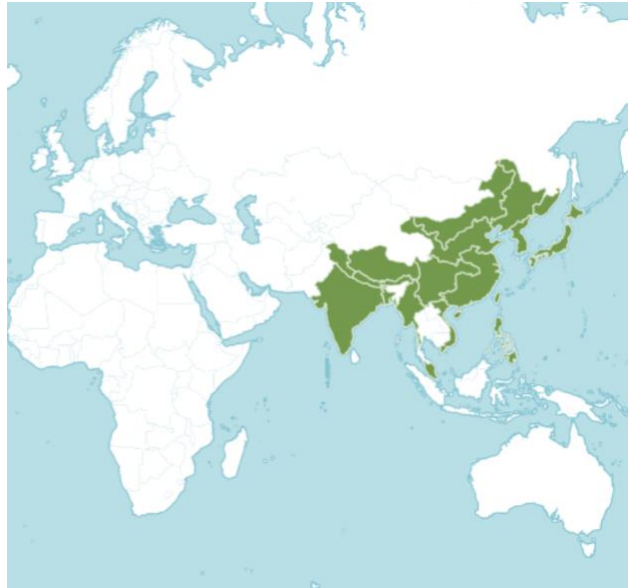
Slika 6. A) Cvijet i nezreli plodovi vrste *I. domestica*; B) Zreli plod vrste *I. domestica* (7)



Slika 7. Tipični cvijet vrsta roda *Iris* (vrsta *Iris tectorum* Maxim.), uočljivi su različiti ciklusi listova perigona te korolinični prašnici (12)

Stanište ove vrste su sjenovita i vlažna područja na nadmorskoj visini iznad 2200 m (3). Kao samonikla vrsta pojavljuje se u Sjeveroistočnoj, Jugoistočnoj i Južnoj Aziji (slika 8.), dok je u Sjevernoj Americi naturalizirana, a kultivira se diljem svijeta u ornamentalne svrhe (13). Biljna vrsta se kultivira kao izvor biljne droge u Kini, točnije pokrajinama Anhui, Guangdong, Guangxi, Henan, Jiangsu i Zhejiang, zatim

u Japanu i Koreji. Nakon skupljanja rizomi se čiste od ostataka zemlje, kratko natapaju te se zatim sijeku i u tom obliku suše (8).



Slika 8. Područje na kojem je vrsta samonikla označeno zelenom bojom (13)

U znanstvenoj literaturi često se kao naziv vrste upotrebljava *Belamcanda chinensis* (L.) DC., taj je naziv bio priznat dok u svjetlu molekularnih analiza nije uočeno da rod *Iris* nema monofiletsko podrijetlo, odnosno nemaju sve vrste istog pretka, ako se iz roda isključi vrsta *I. domestica*. Ipak, stručnjaci u taksonomiji biljaka smatraju da bi vrstu trebalo izdvojiti u monotipski rod *Belamcanda* zbog očiglednih razlika u morfologiji ove vrste u odnosu na ostale vrste roda *Iris*, primarno se to odnosi na morfologiju cvjetova i plodova. Rod *Iris* bi se trebalo smatrati tribusom, višom taksonomskom kategorijom od roda, u kojem bi se našlo dvadesetak rodova, uključujući i rod *Belamcanda* (7).



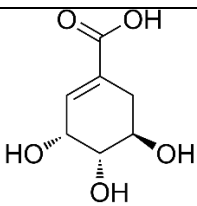
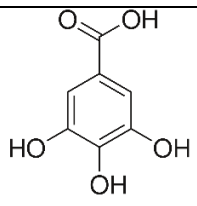
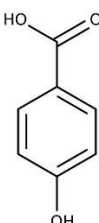
### 4.3. Fitokemija

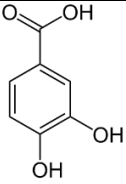
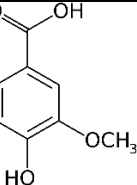
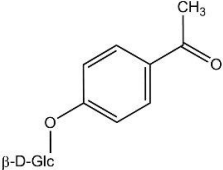
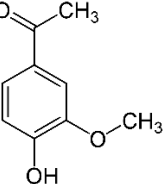
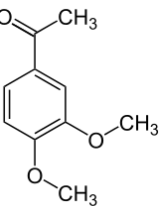
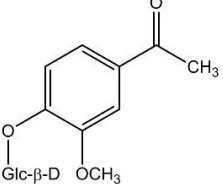
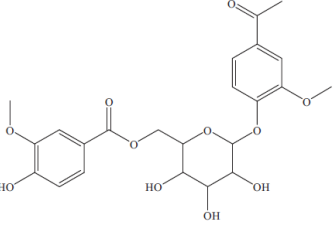
#### 4.3.1. Jednostavni fenoli

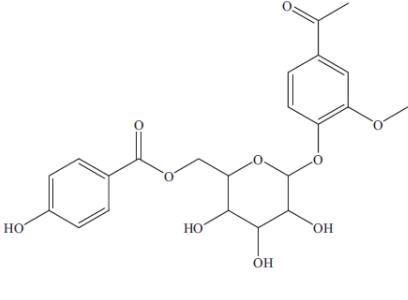
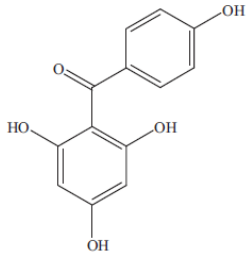
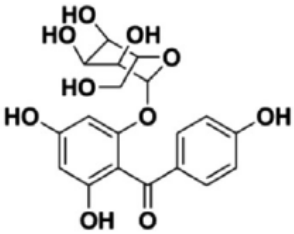
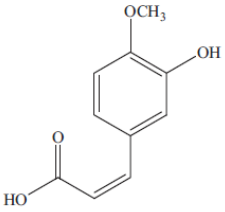
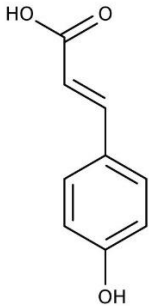
Jednostavni fenolni spojevi prisutni u she gan nastali su biosintezom putem šikiminske kiseline i/ili fenilpropana. Pretežito se radi o ketonima, benzofenonima, acetofenonima i njihovim glikozidima (tablica 1.) (3,5,8,14). Na primjer, belalozid A i B su specifični glikozidi *p*-hidroksibenzojeve kiseline ili vanilinske kiseline s glukozom modificiranom eterskom vezom s acetovanilonom (3). Uz tipične fenolne kiseline, podanci sadrže i stilbene – resveratrol i derivate, poput stilbenskog dimera shegansu B (5).

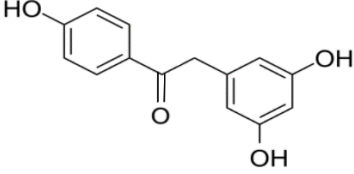
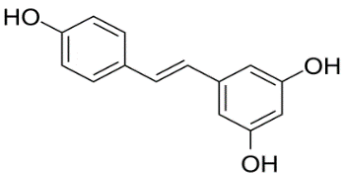
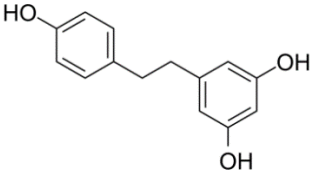
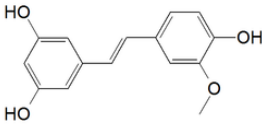
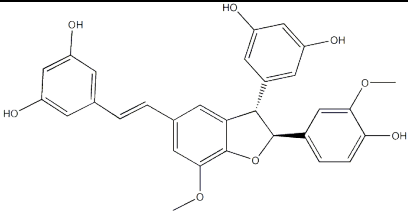
Tablica 1. Fenolni spojevi prisutni u ekstraktima droge she gan prikazani strukturnim formulama

(3,5,8,14)

Ima spoja	Struktura
Šikiminska kiselina	
Galna kiselina	
<i>P</i> - hidroksibenzojeva kiselina	

<p>Protokatehinska kiselina</p>	
<p>Vanilinska kiselina</p>	
<p>Picein</p>	
<p>Acetovanilon</p>	
<p>Acetoveratron</p>	
<p>Androsin</p>	
<p>Belalozid A</p>	

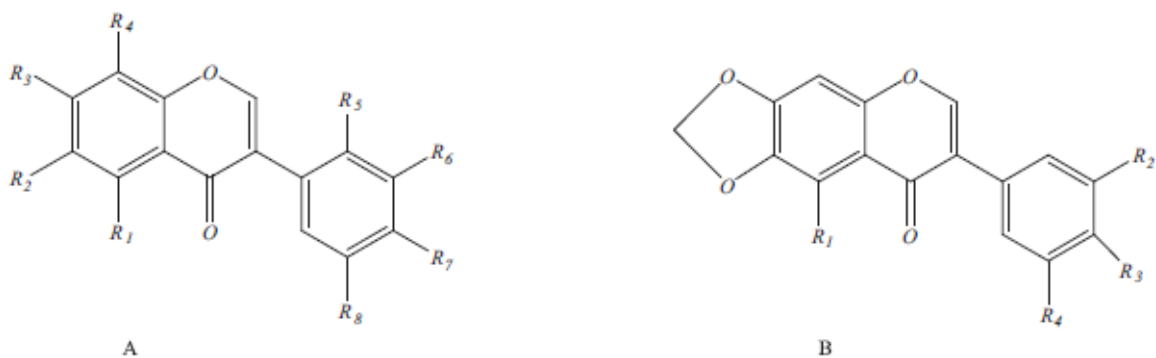
Belalozid B	
Iriflofenon	
Iriflofenon 2-O-glukozid	
Ferulična kiselina	
Kumarna kiselina	

Belamfenon	
Resveratrol	
Dihidroresveratrol	
Izorapontigentín	
Shegansu B	

#### 4.3.2. Flavonoidi

Izoflavoni su karakteristični flavonoidi za podzemne organe vrsta roda *Iris*, sukladno tome, dominantni flavonoidi u podancima leopardovog cvijeta su supstituirani izoflavoni i njihovi glikozidi (tablica 2.). Osnova ovih spojeva je skelet od 15 ugljikovih atoma, dva benzenska prstena (A i B) povezanih

piranskim heterociklom (5). Broj mjesta hidroksilacije skeleta je promjenljiv, kao i broj eterski vezanih metoksilnih skupina (-OCH<sub>3</sub>). Kod glikozidnih spojeva, glukoza je gotovo uvijek O - vezana na poziciji 7 prstena A (odgovara R<sub>3</sub> na prikazu A skeleta). Nadalje, izoflavoni se mogu podijeliti na one s višestruko supstituiranim prstenom A i one s dioksometilenskom skupinom kao dodatnim cikličkim elementom u strukturi u odnosu na osnovni skelet (slika 9.) (3).



Slika 9. Osnovni oblici skeleta izoflavona pronađenih u drogi she gan; legenda: A - izoflavoni s višestruko supstituiranim prstenom A; B - izoflavoni s dioksometilenskom skupinom

Tablica 2. Popis izoflavona i pripadajućih supstituenata izoliranih iz droge she gan (3)

naziv spoja	skelet izoflavona	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
Irigenin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
Iridin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OGlc	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
Iristektogenin A	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Iristektorigenin A	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H
Iristektorigenin B	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>
Iristektorin A	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OGlc	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH

Iristektorin B	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OGlc	H	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>
Irilin A	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H	H	H
Irilin D	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OH	OH
Izoirigenin	A	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
Tektorigenin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OH	H
Tektoridin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OGlc	H	H	H	OH	H
Tektorigenin-4-glukozid	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OGlc	H
Genistein	A	OH	H	OH	H	H	H	OH	H
Dimetil tektorigenin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
Psi-tektorigenin	A	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	OH	H
Belamcandin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
2,3-dihidroegnin	A	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
3',4',5,7-tetrahidroksi- 4'-metoksiizoflavon	A	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	H
3'-hidroksitektoridin	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OGlc	H	H	OH	OH	H
4'-metoksi-5,6- dihidroksiizoflavon-7-O- β-D-glukopiranozid	A	OH	OH	OGlc	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
5,6,7,3'-tetrahidroksi-4'- metoksiizoflavon	A	OH	OH	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H
5,6,7,3'-tetrahidroksi- 8,4', 5'- trimetoksiizoflavon	A	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

5,6,7,3'-tetrahidroksi-8-metoksiizoflavon	A	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H	H
6-methoksi-5,7,8,4'-tetrahidroksiizoflavon	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	H	H	OH	H
5,7,3'-trihidroksi-8,4'-dimetoksiizoflavon	A	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H
5,7,3'-trihidroksi-6,2',5'-trimetoksiizoflavon	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>
5,7,4'-trihidroksi-6,3',5'-trimetoksiizoflavon	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
5,7-dihidroksi-6,3',4',5'-tetrametoksiizoflavon	A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
4',5,6-trihidroksi-7-metoksiizoflavon	A	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OH	H
Izorigenin 7-O-β-D-glukozid	A	OH	H	OGlc	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
3',5'-dimetoksiirisolon-4'-O-β-D-glukozid	B	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OGlc	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	-
Irilon	B	OH	H	OH	H	-	-	-	-
Irisflorentin	B	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	-
Nonirisflorentin	B	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	-
Dihotomin	B	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	-
Irisolon	B	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H	-	-	-	-

Uz izoflavone, pronađeni su ostali i flavonoidi prisutni u manjim količinama poput apigenina, luteolina, svertisina, izoviteksina i drugih, ukupno 58 različitih flavonoida (3).

U literaturi su opisani brojni postupci ekstrakcije koji imaju različitu iskoristivost, stoga su rasponi udjela pojedine tvari u suhoj drogi šaroliki (tablica 3.). Irogenin i tektoridin su najzastupljeniji izoflavonoidi, slijede ih aglikoni tektorigenin i irisfloreantin. Manje su zastupljeni aglikoni iristektorigenin A i B te glikozid iridin (5).

Tablica 3. Sadržaj izoflavonoida u kilogramu suhe droge (5)

Izoflavonoid	Sadržaj
	mg / kg suhe droge
Irogenin	23 - 3200
Iridin	1,8 - 403
Tektorigenin	42 - 731
Tektoridin	4 - 2750
Irisfloreantin	22 - 1560
Iristektorigenin A	80 - 140
Iristektorigenin B	375

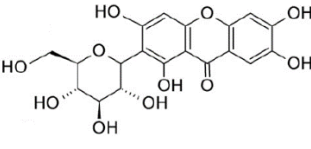
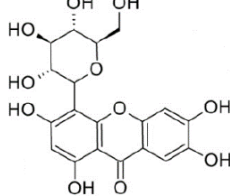
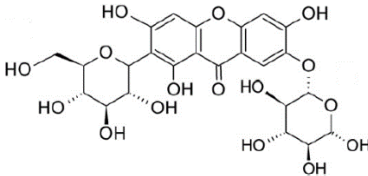
#### 4.3.3. Ksantoni

Ksantoni su fenolni spojevi čije je biosintetsko podrijetlo miješanih puteva, uključuje poliketidni put sinteze, a srodni su prethodno spomenutim fenolnim ketonima. Iz podanka leopardovog cvijeta izolirani su mangiferin, izomangiferin i neomangiferin - tetrahidroksantoni s glikozidno vezanom glukozom



preko ugljikova atoma, a neomangiferin dodatno i preko kisikovog atoma. Mangiferin je dominantni ksanton, kilogram suhe droge sadrži otprilike 900 mg mangiferina (tablica 4.) (3).

Tablica 4. Struktura ksantonskih derivata droge she gan (3)

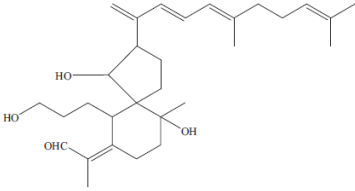
Ksantinski derivat	Struktura
Mangiferin	
Izomangiferin	
Neomangiferin	

#### 4.3.4. Terpeni

S obzirom na raznolikost mogućih struktura koje nastaju od izoprenskih jedinica, terpeni su kemotaksonski važna skupina prirodnih spojeva. Za rod *Iris* karakteristični su triterpeni iridalskog tipa. Iridali mogu biti esterificirani ili slobodni, te se mogu dalje podijeliti na monocikličke, cikloiridale, spiroiridale i oksaspiroiridale (3). Uz iridale opisane u tablici, u podancima leopardovog cvijeta nađeni su još i iridotektoral A i B, iriditektoral, belamkandal, iridobelmal B, 26-hidroksi-13-oksaspiroirid-16-enal, 13-oksaspiroirid-16-enal, 10-deoksiiridogermanal, belahinal, epianhidrobelahinal, kao i dimer dibelamkandal A (tablica 5.) (5).

Tablica 5. Primjeri i pripadajuće strukture monocikličkih iridala, cikloiridala, spiroiridala i oksaspiroiridala iz she gan (3,5)

Ima spoja	Struktura	R1	R2	R3
Iridobelamal A		CH <sub>3</sub>	CHO	H
Izoiridogermanal		CHO	CH <sub>3</sub>	Ac
16-O-acetil-izoiridogermanal		CHO	CH <sub>3</sub>	H
Anhidrobelahinal		CHO	CH <sub>3</sub>	-
Izoanhidrobelahinal		CH <sub>3</sub>	CHO	-
Iristektoren B		CO(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> CH <sub>3</sub>	H	-
3-O-tetradekanoil-16-O-acetil izoiridogermanal		CO(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> CH <sub>3</sub>	Ac	-
3-O-dekanoil-16-O-acetil-izoiridogermanal		CO(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>3</sub>	Ac	-
28-deacetilbelamkandal		-	-	-
(6R,10S,11R) 26-hidroksi-(13R)-oksaspiroirid-16-enal		-	-	-

<p>(6R,10S,11S,14S,26R) 26- hidroksi-15-metiliden- spiroirid-16-enal</p>		-	-	-
--	---	---	---	---

#### 4.4. Farmakološka istraživanja

##### 4.4.1. Farmakokinetička ispitivanja

Sudbina izoflavonoida iz ekstrakta she gan unutar organizma proučavana je kod štakora po oralnoj primjeni ekstrakta u dozi od 50 mg/kg. Iridin i tektoridin nisu dokazani u plazmi ispitivanih životinja, ovi glikozidi su prolijekovi koje intestinalna flora u ljudi i životinja prevodi u pripadajuće aglikone, irigenin i tektorigenin. Maksimalna koncentracija tektorigenina, irigenina i irisflorentina u plazmi je postignuta unutar pola sata od oralne primjene što upućuje na brzu apsorpciju već u želucu. Javljaju se i kasniji porasti koncentracije koji su posljedica hidrolize glikozida u debelom crijevu i/ili enterohepatičke cirkulacije izoflavonoida (15). Ostala istraživanja farmakokinetike temeljena su na pojedinačnim izoflavonoidima, tektorigenin se primarno metabolizira enzimima druge faze pa su u urinu i žuči štakora pronađeni sulfati i glukuronidi koji se izlučuju putem urina (16). Irisflorentin nema slobodnih hidroksilnih skupina pa se metabolizira enzimima prve faze u mikrosomima jetre štakora, dolazi do demetilacije i razgrađuje se dioksmetilenski prsten (17).

##### 4.4.2. Kemoprotektivni učinak

Za kemoprotektivni učinak biljnih ekstrakata odgovorni su spojevi s antioksidacijskim djelovanjem. Spojevi koji se ističu antioksidacijskim učinkom u she gan su izoflavoni i njihovi heterozidi, ksantoni i ostali fenolni spojevi (9). Frakcija hidroalkoholnog ekstrakta topljiva u etil-acetatu uzrokuje značajno smanjenje reaktivnih kisikovih spojeva kod stanica HaCaT linije izloženih UVB zračenju. Nadalje, u dvosatnom tretmanu istih stanica s etil-acetatnom frakcijom, prethodno izlaganju vodikovom peroksidu, pokazuje zaštitu u vidu povećane vijabilnosti stanica nakon tretmana s prooksidansom. Najučinkovitija ispitana koncentracija je 8 µg/ml, a istovremeno je dokazana o dozi ovisna citotoksičnost etil-acetatne frakcije za HaCaT staničnu liniju (18).

Antimutageno djelovanje također je značajno za kemoprotektivni učinak ekstrakta biljnih vrsta, očituje se sprječavanjem promjene genetskog materijala sojeva bakterije *Salmonella typhimurium* u prisutnosti mutagena. Ekstrakt she gan obogaćen izoflavonima spriječio je izravnu mutagenezu nitrokinolin-*N*-oksidom u određenoj mjeri, a gotovo u potpunosti u slučaju 2-aminofluorena za koji je potrebna metabolička aktivacija. Smatra se da su izoflavoni inhibitori CYP1A1 obitelji citokromskih enzima, kataliziraju toksifikaciju 2-aminofluorena, kao i drugih promutagena, u ovom slučaju u mikrosomalnoj frakciji jetre štakora, ali isto potencijalno vrijedi za CYP1A1 enzime u enterocitima i hepatocitima čovjeka (19).

Tektorigenin i tektoridin pročišćeni iz ekstrakta she gan sprječavaju hepatotoksičnost uzrokovanu tetraklormetanom kod štakora. Primijećena je značajno manja aktivnost serumskih transaminaza kod životinja koje su predtretirane spomenutim izoflavonima, što ukazuje na smanjenu nekrozu jetrenog tkiva. Nadalje, predtretirane jedinke su imale veću vrijednost katalitičke aktivnosti antioksidacijskih enzima poput glutation peroksidaze i katalaze, a smatra se da tektorigenin i tektoridin aktiviranjem ekspresije spomenutih enzima pokazuju kemoprotektivni i antitumorski učinak. Na *ex vivo* modelima, mikrosomima jetre i mitohondrijima mozga sinaptosoma štakora, pokazan je značaj stilbena – isorapontigentina u sprječavanju lipidne peroksidacije, isto je dokazano i za tektoridin i tektorigenin u prethodno navedenom istraživanju (20).

#### 4.4.3. Protuupalni učinak

U literaturi je pronađen zapis o protuupalnom djelovanju ekstrakta she gan na animalnim modelima, oteknuće uške miša i šapice štakora, no objava istraživanja nije dostupna (21). Više izoflavonoida iz she gan pokazuju protuupalni učinak u *in vitro* uvjetima, dok su tektorigenin primijenjen peroralno, a irisfloreantin topikalno, ispitani i na životinjskim modelima. Tektorigenin djeluje analgetički u dozama od 50 do 100 mg/kg kod miševa, a u modelu upale kod štakora doza od 60 mg/kg značajno

smanjuje oteknuće. Učinci su usporedivi s 240 mg/kg acetilsalicilne kiseline kod miševa i 10 mg/kg indometacina kod štakora. Pritom nije primijećena subakutna ni akutna toksičnost tektorigenina ispod 1 g/kg te je utvrđeno je doza od 300 mg/kg sigurna za miševе (22). Peroralno primijenjen tektorigenin, u dozama od 5 do 10 mg/kg, ispitan je na modelu akutne upale mozga miša izazvane sistemskom primjenom lipopolisaharida (LPS). Tektorigenin je uzrokovao značajno smanjenje aktivacije mikroglija stanica te koncentracije faktora tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) i interleukina-6 (IL-6) u serumu ispitivanih životinja (23). Irisflorentin je ispitan na životinjskom modelu odgođene preosjetljivosti, djeluje imunosupresivno na dendritičke stanice - ključne za prezentaciju antigena i inicijaciju imunog odgovora. Topikalnom primjenom u kombinaciji s haptenom, dinitrofluorobenzenom, ne dolazi do reakcija odgođene preosjetljivosti kod miševa (24).

U ostalim istraživanjima korišteni su RAW264.7 makrofagi stimulirani na imuni odgovor bakterijskim lipopolisaharidima. Primjerice, 17 spojeva koji inhibiraju aktivaciju makrofaga izolirano je bioaktivnošću vođenom fraksinacijom ekstrakta she gan, a izoflavonoidi iristektorigenin B, tektorigenin, irisflorentin i irigenin su učinkoviti primijenjeni u mikromolarnim koncentracijama (IC<sub>50</sub> = 26-52,6  $\mu$ M) (25). Uvid u mehanizam protuupalnog učinka je dan u istraživanju u kojem su primijenjene različite doze irigenina i tektorigenina na RAW264.7 makrofagima. Praćeni su sljedeći medijatori upale: prostaglandin E2 (PGE2), IL-6 i TNF $\alpha$ , kao i ekspresija gena za ciklooksigenazu 2 (COX2) i inducibilnu sintazu dušikovog oksida (iNOS). Irogenin i tektorigenin izazivaju o dozi ovisnu inhibiciju otpuštanja istraživanih upalnih medijatora te umanjuju ekspresiju COX2 i iNOS pri aktivaciji makrofaga lipopolisaharidima. Korišteni koncentracijski raspon spojeva nije bio citotoksičan za makrofage (21). Prilikom istraživanja aktivacije makrofaga s kombinacijom LPS-a i interferona- $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) utvrđeno je da predtretman tektorigeninom uzrokuje o dozi ovisno smanjenje ekspresije COX2 i iNOS, stvaranje i otpuštanje PGE2, NO i interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Tektorigenin umanjuje aktivacijom potaknutu razgradnju inhibitor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) proteina, zaslužnih za vezivanje nuklearnog faktora  $\kappa$ B (NF-  $\kappa$ B) unutar citosola, što za posljedicu ima sprječavanje

translokacije u jezgru i poticanja proupalne kaskade. Tektoridin i genistein nisu pokazali učinak na degradaciju I $\kappa$ B proteina (26). Još jedan izoflavonoid - irigenin o dozi ovisno sprječava translokaciju NF- $\kappa$ B u jezgru te najučinkovitije suzbija nastanak NO od šest ispitivanih izoflavonoida u koncentracijama do 30  $\mu$ M, bez znakova citotoksičnosti za makrofage. Učinkovitost je veća kod aglikona jer heterozidi vjerojatno ne mogu penetrirati kroz membrane makrofaga zbog hidrofilnosti i prostornog ometanja ugljikohidratnog dijela molekule (27). Ustanovljeno je da zbog malih razlika u strukturi irisfloreantin djeluje različitim mehanizmom, ne utječe na NF- $\kappa$ B, ali utječe na nuklearnu aktivnost aktivator proteina 1 kod makrofaga, te stoga uzrokuje o dozi ovisno umanjivanje glasničkih ribonukleinskih kiselina za TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6, kao i njihovo otpuštanje (28).

#### 4.4.4. Učinak kod metaboličkih poremećaja

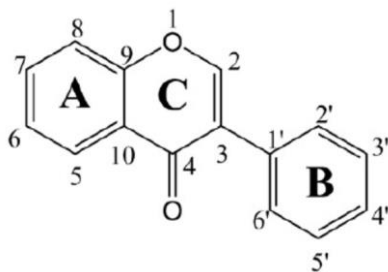
Tektoridin i tektorigenin su ispitani na životinjskom modelu dijabetesa, streptozocinom uzrokovanom hiperglikemijom kod štakora. U parenteralno primijenjenim dozama od 5 do 10 mg/kg tektorigenin umanjuje streptozocinom uzrokovanu hiperglikemiju i hiperkolesterolemiju, preko 50% u odnosu na kontrolu. Učinak je usporediv s primjenom 5 mg/kg glibenklamida, sulfonilureje koja se upotrebljava u liječenju bolesti dijabetes melitus kod čovjeka. Tektoridin nije pokazao značajan učinak na hiperglikemiju i hiperkolesterolemiju, kao ni na tjelesnu masu ispitivanih životinja (29). Premda listovi vrste *I. domestica* ne spadaju u opseg ovog rada, vrijedno je spomena da je ekstrakt listova pokazao hipoglikemijski učinak na normoglikemijske i streptozocinom tretirane štakore. Djelovanje je nastupilo nakon tri sata i potrajalo od pet do 24 sata, uočena je povećana sekrecija inzulina, a djelovanje je bilo jače nakon izazivanja postprandijalne hiperglikemije kompleksnim ugljikohidratima, što ukazuje na mogućnost inhibicije glikozidaza. Primijećeno je da je jedna intraperitonealna doza ekstrakta od 250 mg/kg učinkovitija od ponovljenih doza od 1600 mg/kg primijenjenih peroralnim putem pa se pretpostavlja da prolaskom kroz jetru dolazi do eliminacije farmakološki aktivnih tvari. Tektorigenin i tektoridin se smatraju jednim od djelatnih tvari u ekstraktu lista vrste *I. domestica* (30). Iz ekstrakta she gan izolirano je četiri

izoflavonoida koji inhibiraju  $\alpha$ -glukozidazu, irigenin, iristektorigenin A i tektorigenin imaju jednake afinitete, a irisfloreantin se ističe kao najučinkovitiji inhibitor (31). Drugi enzim značajan za komplikacije dijabetesa – aldoza reduktaza, irigenin, tektorigenin i njihovi heterozidi inhibiraju u mikromolarnim koncentracijama. Oralno primijenjeni tektorigenin ili tektoridin u dozi od 100 mg/kg u trajanju od 10 dana dovode do smanjenja nakupljanja produkta ovog enzima – sorbitola u ishijadičnom živcu, leći oka i eritrocitima štakora tretiranih streptozocinom (16,32).

#### 4.4.5. Estrogenu nalik učinak

Prilikom pregleda droga koje se upotrebljavaju u tradicionalnoj kineskoj medicini za menopauzalne simptome otkriveno je da 70 %-tni etanolni ekstrakt she gan djeluje nalik estrogenu na modelu genetski modificiranih kvasaca koji proizvode humani receptor estrogena (33). Četiri izoflavonoida izolirana iz she gan: tektorigenin, tektoridin, irigenin i iristektorigenin A, pokazuju učinak nalik estrogenu na stanicama adenokarcinoma endometrija (Ishikawa stanice), pritom je zabilježen snažan učinak svih ispitivanih izoflavonoida, osim iristektorigenina A koji pokazuje slabi učinak nalik estrogenu (34). Izoflavonoidi she gan su istraživani putem poticanja proliferacije tumorskih linija karcinoma dojke MCF-7 i T47D. Učinkovitost pojedinih spojeva je analizirana računalnim metodama te je uspostavljen model za kvantitativno utvrđivanje povezanosti strukture i biološkog djelovanja (QSAR). Vjerojatnost da će izoflavonoid djelovati nalik estrogenu ovisi o udaljenosti hidroksilnih skupina na položajima sedam prstena A i položaju četiri prstena B, kao i odsutnosti hidroksilnih skupina na položajima tri i pet prstena B (slika 10.). To je u skladu s estrogen nalik učinku izoflavonoida soje jer takve strukture pokazuju najveće preklapanje s prirodnim ligandom receptora –  $17\beta$ -estradiolom (35).





Slika 10. Osnovni skelet izoflavonoida s naznačenim numeriranjem ugljikovih atoma i oznakama prstena

(35)

Drugo istraživanje je provedeno na modelu proliferacije stanične linije MCF-7. Uspoređen je učinak tektoridina s referentnim fitoestrogenom soje – genisteinom. Uočeno je kako se tektoridin vezuje na  $\alpha$ -estrogenski receptor sa slabim afinitetom u usporedbi s  $17\beta$ -estradiolom i genisteinom, no ipak pokazuje značajan estrogenu nalik učinak, odnosno potiče proliferaciju stanične linije karcinoma dojke. Učinak tektoridina je posredovan G-proteinima (GPR30) na membranama stanica, smatra se da je to put kojim prirodni ligand uzrokuje ubrzano djelovanje na ciljane stanice, koje nije posljedica vezanja liganda za odgovarajuće transkripcijske faktore (36,37). Genistein, za razliku od tektoridina, djeluje na razini transkripcije gena i GPR30 posredovanim putem (36). S druge strane, tektorigenin iz obogaćenog ekstrakta she gan se veže na receptore estrogena tipa alfa i beta rekombinantnih humanih receptora. U pokusima sa životinjama primijećeno je da bi tektorigeninom obogaćeni ekstrakt mogao selektivno modulirati receptore za estrogen, nije došlo do hipertrofije uterusa ili proliferacije tkiva dojki kao kod genisteina ili estradiola, a istovjetna doza je pokazala estrogenu sličan učinak u sprječavanju demineralizacije kostiju i inhibiciji lučenja luteinizirajućeg hormona u hipotalamusu. Autori ističu kako bi se takva modulacija receptora mogla klinički upotrijebiti za terapiju tegoba povezanih s menopauzom, posebice onih vezanih za termoregulaciju i koštani sustav, za što se she gan i tradicionalno koristi (38)

#### 4.5. Fitoterapija

##### 4.5.1. Tradicionalna upotreba

Prema sustavu klasifikacije tradicionalne kineske medicine she gan je gorka i hladna droga koja podupire meridijane jetra i pluća (2,4). Tipično gorke droge umanjuju toplinu dok hladne pomažu sa simptomima topline, ta svojstva zajedno rastjeruju toplinu i uklanjaju vlažnost u unutrašnjosti organizma. Detaljnije, she gan smanjuje pretjerano aktivni plućni Qi, vitalnu životnu energiju, što je dovelo do disbalansa koji se očituje kao toplina u predjelu pluća i grla. Sukladno tome, she gan se koristila kod upale grla, gdje eliminira toplinu, toksine i sluz. Zatim kod olakšavanja kašlja i dispneje jer pomaže ukloniti toplinu iz pluća, a sluz otapa. Navedena upotreba, opisana terminologijom TKM, zabilježena je u narodima Kine, Koreje, Tajlanda, Vijetnama, Filipina i Japana (5). Nadalje, she gan se u Tajlandu i Vijetnamu primjenjivala za menstrualne poremećaje poput nepravilnosti ciklusa, amenoreje i dismenoreje, za probleme s jetrom u Nepal, a u Sjevernoj Koreji za liječenje kožnih oboljenja. Početkom 20. stoljeća vijeće za tadašnju kinesku farmakopeju je kao indikacije za upotrebu she gan uvrstilo amenoreju i tumore dojke, ali je to u suvremenim monografijama TKM izostavljeno, a navodi se da se droga primjenjuje kao analgoantipiretik, antiflogistik, ekspektorans i antidot. Monopripravci droga su neuobičajeni u TKM, she gan se miješala s drugim drogama i primjenjivala kao dekokt smjese droga (Tablica 6.) (2,3,5).

Tablica 6. Tradicionalne recepture sa she gan, indikacije za upotrebu i podrijetlo zapisa (3)

Pripravak	Biljna droga prema farmakopeji Narodne Republike Kine	Masa u pripravku	Izvorno opisana indikacija	Podrijetlo zapisa
<b>Shegan</b> Mahuang dekokt	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	9 g	Moždani udar, hiperhidroza i suhoća grla.	Shanghan Lun (dinastija Han, 219. godina)
	Asari Radix Et Rhizoma ( <i>Asarum sieboldii</i> Miq)	12 g		
	Ephedrae Herba ( <i>Ephedra sinica</i> Stapf)	12 g		
	Asteris Radix et Rhizoma ( <i>Aster tataricus</i> L.)	12 g		

	Farfarae Flos ( <i>Tussilago farfara</i> L.)	9 g		
	Zingiberis Rhizoma ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.)	9 g		
	Schisandrae Chinensis Fructus ( <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.)	3 g		
Shegan dekokt	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	3 g	Liječenje bolesti s oticanjem grla.	Waitai Miyao (dinastija Tang, 752. godina)
	Angelicae Sinensis Radix ( <i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels)	6 g		
	Cimicifugae Rhizoma ( <i>Cimicifuga foetida</i> L.)	9 g		
	Angelicae Dahuricae Radix ( <i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f.)	3 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.)	3 g		
	Armeniaca Semen Amarum ( <i>Prunus armeniaca</i> L.)	3 g		
Huangqi Shegan dekokt	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	6 g	Liječenje bolesti s oticanjem grla.	Shengji Zonglu (dinastija Song, 1117. godina)
	Radix Scutellariae ( <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi)	3 g		
	Pinellia Rhizoma ( <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breit)	3 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.)	3 g		
	Cimicifugae Rhizoma ( <i>Cimicifuga foetida</i> L.)	3 g		
	Cinnamomi Cortex ( <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J.Presl)	3 g		
Luoshi Shegan dekokt	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	30 g	Liječenje bolesti s oticanjem grla.	Shengji Zonglu (dinastija Song, 1117. godina)
	Trachelospermi Caulis et Folium ( <i>Trachelospermum jasminoides</i> (Lindl.) Lem)	3 g		
	Paeoniae Radix Alba ( <i>Paeonia lactiflora</i> Pall)	30 g		

	Cimicifugae Rhizoma ( <i>Cimicifuga foetida</i> L.)	30 g		
	Tribuli Fructus ( <i>Tribulus terrestris</i> L.)	30 g		
<b>Shegan</b> Shunianzi dekoka	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	3 g	Liječenje ospica, vrućice, bolesti s oticanjem grla i bolovima u ustima i na jeziku.	Xiaoer Douzheng Fanglun (dinastija Song, 1254. godina)
	Fructus Arctii ( <i>Arctium lappa</i> L.)	1,5 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza</i> <i>uralensis</i> Fisch.)	3 g		
	Cimicifugae Rhizoma ( <i>Cimicifuga foetida</i> L.)	1,5 g		
<b>Shegan</b> dekoka (II)	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	3 g	Nadutost, oticanje, odvođenje topline i uklanjanje toksina.	Shiyi Dexiao Fang (dinastija Yuan, 1345. godina)
	Fructus Arctii ( <i>Arctium lappa</i> L.)	1,5 g		
	Platycodonis Radix ( <i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.)	1,5 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza</i> <i>uralensis</i> Fisch.)	1,5 g		
<b>Shegan</b> Lianqiao dekoka	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	90 g	Liječenje pretjerane vatre u jetra-žuč sustavu, stagnacija flegme i plinova.	Zhengzhi Zhunsheng (dinastija Ming, 1602. godina)
	Forsythiae Fructus ( <i>Forsythia</i> <i>suspensa</i> (Thunb.) Vahl)	90 g		
	Scrophulariae Radix ( <i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl.)	90 g		
	Prunellae Spica ( <i>Prunella</i> <i>vulgaris</i> L.)	60 g		
<b>Shegan</b> Douling dekoka	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	40 g	Prozračivanje pluća, odvođenje flegme, rastjerivanje vrućine i otrova iz tijela.	Shazhang Yuheng (dinastija Qing, 1675. godina)
	Aristolochiae Fructus ( <i>Aristolochia debilis</i> Sieb. et Zucc)	30 g		
	Radix Scutellariae ( <i>Scutellaria</i> <i>baicalensis</i> Georgi)	40 g		
	Mori Cortex ( <i>Morus alba</i> L.)	40 g		
Ganzhe <b>Shegan</b> dekoka	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	40 g	Nadutost, rastjerivanje vrućine,	Songya Zunsheng

	Platycodonis Radix ( <i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.)	30 g	detoksifikacija i liječenje upaljenog grla.	(dinastija Qing, 1695. godina)
	Forsythiae Fructus ( <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl)	40 g		
	Schizonepetae Herba ( <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq)	40 g		
	Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma ( <i>Sophora tonkinensis</i> Gagnep)	40 g		
	Fructus Arctii ( <i>Arctium lappa</i> L.)	40 g		
	Saposhnikoviae Radix ( <i>Saposhnikovia divaricata</i> (Trucz.) Schischk.)	30 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.)	40 g		
<b>Shegan</b> Xiaodu dekoka	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	60 g	Liječenje bolesti s oticanjem grla.	Zhangshi Yitong (dinastija Qing, 1695. godina)
	Scrophulariae Radix ( <i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl.)	60 g		
	Forsythiae Fructus ( <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl)	60 g		
	Schizonepetae Herba ( <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq)	60 g		
	Fructus Arctii ( <i>Arctium lappa</i> L.)	60 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.)	30 g		
Qingwei <b>Shegan</b> dekoka	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	7,5 g	Liječenje epigastralgije.	Yizong Jinjian (dinastija Qing, 1742. godina)
	Ophiopogonis Radix ( <i>Ophiopogon japonicus</i> (L. f) Ker Gawl)	7,5 g		
	Cimicifugae Rhizoma ( <i>Cimicifuga foetida</i> L.)	5 g		
	Rhei Radix et Rhizoma ( <i>Rheum palmatum</i> L.)	3,5 g		
	Radix Scutellariae ( <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi)	3,5 g		

	Gardeniae Fructus Praeparatus ( <i>Gardenia jasminoides</i> Ellis)	3,5 g		
Gancao Jiegeng <b>Shegan</b> dekoka	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	15 g	Liječenje bolesti s oticanjem grla.	Siheng Xinyuan (dinastija Qing, 1753. godina)
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.)	10 g		
	Platycodonis Radix ( <i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.)	15 g		
	Pinellia Rhizoma ( <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breit)	15 g		
Jiawei <b>Shegan</b> dekoka	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma (<i>Iris domestica</i> (L.) DC.)</b>	5 g	Liječenje bolesti s oticanjem grla.	Nangmi Houshu (dinastija Qing, 1902. godina)
	Rehmanniae Radix ( <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch)	5 g		
	Platycodonis Radix ( <i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.)	3,5 g		
	Forsythiae Fructus ( <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl)	3,5 g		
	Radix Scutellariae ( <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi)	3,5 g		
	Scrophulariae Radix ( <i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl.)	3,5 g		
	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.)	3,5 g		
	Schizonepetae Herba ( <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq)	3,5 g		
	Fructus Arctii ( <i>Arctium lappa</i> L.)	2,5 g		

#### 4.5.2. Suvremena upotreba

Premda učinak she gan u liječenju nije klinički ispitan, she gan se smatra najvažnijom kineskom drogom za liječenje faringitisa jer smanjuje otok i bol u grlu (odvodi toplinu). Primjenjuje se u pripravcima za liječenje respiratornih bolesti poput infekcija gornjih dišnih puteva, akutnog i kroničnog

faringitisa, tonzilitisa, kroničnog sinusitisa, bronhitisa, dispneje, astme, plućnog emfizema i drugih bolesti plućne cirkulacije. Uobičajene doze su od 6 do 10 grama. Indikacije za primjenu she gan u pripravku su produktivni kašalj, bol u grlu, promuklost te oticanje desni i grla. She gan se smatra blago toksičnom drogom pa se primjena ne preporuča kod trudnica. Pripravci u kojima je droga she gan jedan od glavnih sastojaka, a primjenjuju se u kliničkoj praksi, prikazani su u tablici 7. (2,39).

Tablica 7. Recepture koje sadrže she gan i njihova upotreba

Pripravak	Sastav pripravka prema farmakopeji Narodne Republike Kine	Klinička upotreba
Xiao Er Yan Bian Ke Li	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma</b> , Lonicerae Flos, Radix Tinosporae, Radix Platycodonis, Radix Scrophulariae, Radix Ophiopogonis, Calculus Bovis, Borneol	Uklanjanje topline i boli iz grla, detoksifikacija; olakšavanje simptoma kod akutnog tonzilitisa, faringitisa, oticanja grla i produktivnog kašlja.
Xiao Er Qing Fei Zhi Ke Pian	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma</b> , Folium Perillae, Flos Chrysanthemi, Radix Puerariae, Bulbus Fritillariae Cirrhosae, Amygdalae Amarae Fructus Praeparatus, Folium Eriobotryae, Fructus Perillae Praeparatus, Mori cortex, Radix Peucedani, Gardeniae Fructus Praeparatus, Radix Scutellariae, Rhizoma Anemarrhenae, Radix Isatidis, Calculus Bovis, Borneol	Hlađenje površinskih dijelova, ublažavanje kašlja i smanjivanje sluzi; liječenje djece kod stanja vjetar - toplina, produktivnog kašlja, žeđi i tvrde stolice.
Gan lu Xiao du Wan	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma</b> , Talcum, Artemisiae capillaris herba, Acorus tatarinowii rhizoma, Caulis Akebiae, Amomi Semen, Fructus Forsythiae, Radix	Liječenje ljetne topline - vlage, vrućice, bolova u udovima, napetosti u prsima, nadutosti, tamnog urina i žutice.

	Scutellariae, Bulbus Fritillariae Cirrhosae, Herba Agastaches Rugosus, Menthae herba	
Jin Bei Tan Ke Qing Ke Li	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma</b> , Bulbus Fritillariae Thunbergii, Lonicerae Flos, Radix Peucedani, Amygdalae Amarae Fructus Praeparatus, Mori cortex, Radix Platycodonis, Herba Ephedrae, Radices Ligustici Sinensis, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	Liječenje kašlja karakteriziranog obilnom žutom sluzi i akutnih napadaja kroničnog bronhitisa.
Gui Lin Xi Gua Shuang	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma</b> , Mirabilitum Praeparatum, Borax, Cortex Phellodendri, Coptidis Rhizoma, Radix Sophorae Subprostratae, Bulbus Fritillariae Thunbergii, Indigo Naturalis, Borneol, Rhei Radix et Rhizoma, Radix Scutellariae, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Mentha-camphor	Uklanjanje topline i detoksifikacija; smanjivanje otoka i boli desni i grla kod akutnog i kroničnog faringitisa; liječenje afti.
Qing Yan Li Ge Wan	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma</b> , Fructus Forsythiae, Gardeniae Fructus Praeparatus, Radix Scutellariae, Rhei Radix et Rhizoma, Fructus Arctii, Menthe Herba, Radix Trichosanthis, Radix Scrophulariae, Schizonepetae Spica, Radix Sileris, Radix Platycodonis, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	Otklanjanje topline iz grla, smanjivanje otoka i boli; kod osjećaja napetosti u prsnom košu i inhibirane dijafragme; kod tvrde stolice i tamnog urina.
Qin Yan Run HouWan	<b>Belamcandae Chinensis</b> <b>Rhizoma</b> , Radix Sophorae Subprostratae, Radix Platycodonis, Bombyx Batryticatus, Gardeniae Fructus Praeparatus, Moutan Radicis Cortex, Fructus Canarii, Radix Tinosporae, Radix Ophiopogonis, Radix Scrophulariae, Rhizoma Anemarrhenae, Radix Rehmanniae, Radix Paeoniae Alba, Bulbus Fritillariae	Otklanjanje topline iz grla, smanjivanje otoka i boli; liječenje žeđi, promuklosti i produktivnog kašlja.



	Thunbergii, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Borneol, Pulvis Cornus Bubali Concentratus	
Qing Ge Wan	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma</b> , Coptidis Rhizoma, Fructus Forsythiae, Radix Scrophulariae, Radix Sophorae Subprostratae, Lonicerae Flos, Radix Rehmanniae Praeparata, Radix Gentianae, Gypsum, Natrii Sulfas, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Radix Platycodonis, Radix Ophiopogonis, Menthe Herba, Radices Rehmanniae, Borax, Calculus Bovis, Borneol, Pulvis Cornus Bubali Concentratus	Otklanjanje topline iz grla, smanjivanje otoka i boli; liječenje suhoće grla, žeđi i promuklosti; kod tvrde stolice.
Lu Si Ge Wan	<b>Belamcandae Chinensis Rhizoma</b> , Herba Ephedrae, Amygdalae Amarae Fructus, Gypsum, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Herba Asari, Fructus Perillae, Semen Sinapis Albae, Fructus Arctii, Pericarpium Trichosanthis, Indigo Naturalis, Concha Cyclinae Sinensis, Radix Trichosanthis, Gardeniae Fructus Praeparatus, Calculus Bovis	Liječenje kašlja i promuklosti.

## 5. Zaključak

Racionalna fitoterapija teži dokazima poput randomiziranih kliničkih istraživanja koja bi opravdala primjenu biljnih vrsta za liječenje ljudi i životinja. Za she gan ne postoje dokazi o kliničkoj učinkovitosti, štoviše to nije za očekivati jer se droga ne upotrebljava samostalno kao dio TKM terapije. Pretpostavka ovog rada je da se she gan barem djelomično opravdano upotrebljava u fitoterapiji više od 2000 godina. Recepture iz tradicionalne kineske medicine koje se i dalje upotrebljavaju rezultat su brojnih pokušaja, vjerojatno i promašaja, te se takav pristup ne može u potpunosti odbaciti i proglasiti šarlatanstvom ili pseudoznanosti. Istovremeno, druge vrste roda *Iris* su upotrebljavane u europskoj fitoterapiji, najčešće u smjesama za iste ili slične indikacije, što je danas uglavnom zanemarena praksa. Ipak, prilikom usklađivanja s europskim zakonodavstvom onemogućeno stavljanje na tržište pripravka koje sadrže vrste roda *Iris* (*Iris* spp.) kao dodataka prehrani (NN 160/2013), a time i vrste *I. domestica*, odnosno droge she gan. Na europskom tržištu nisu pronađeni takvi pripravci za vrijeme izrade ovog rada, ali su na globalnom tržištu dostupni monopripravci droge she gan od strane američkih proizvođača. Ekstrakti su ponekad standardizirani na udio irisflorentina. Kada su dodaci prehrani u pitanju, farmakopejske monografije se smatraju smjernicama, a ne regulatornom obavezom kao što je to slučaj za biljne lijekove te se njihova kvaliteta ne ispituje sustavno. Prilikom upotrebe novih biljnih droga od stručnih zdravstvenih djelatnika se očekuje doza opreza, kao i informiranost o indikacijama, kontraindikacijama i mogućim nuspojavama. Uobičajena doza je 6 do 10 grama suhe droge pripravljeno kao dekoka za indikacije poput upale grla i produktivnog kašlja. Droga je blago toksična te se ne bi trebala primjenjivati kod trudnica, a u skladu s općevažnim pretpostavkama europske fitoterapije droge s izoflavonoidima treba izbjegavati kod pacijentica s tumorima koji su osjetljivi na estrogen.

## 6. Literatura

1. European Pharmacopoeia Online: *Belamcandae chinensis* rhizome. Available at: <http://online.phEur.org>. Accessed February 3, 2021.
2. Xin R, Zheng J, Cheng L, Peng W, Luo Y. *Belamcanda chinensis* (L.) DC: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2015;12:39-70.
3. Zhang L, Wei K, Xu J, Yang D, Zhang C. *Belamcanda chinensis* (L.) DC-An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. *J Ethnopharmacol*. 2016;186:1-13.
4. Leon C, Lin YL. ur. *Chinese Medicinal Plants, Herbal Drugs and Substitutes: An Identification Guide*; Kew Publishing, Royal Botanic Gardens Kew; 2017, str. 272-275.
5. Woźniak D, Matkowski A. *Belamcandae chinensis* rhizome--a review of phytochemistry and bioactivity. *Fitoterapia*. 2015;107:1-14.
6. Duke JA, Ayensu ES. ur. *Medicinal Plants of China*. WHO Regional Office for the Western Pacific; 1989, str. 55-56.
7. Crespo MB, Martínez-Azorín M, Mavrodiev EV. Can a rainbow consist of a single colour? A new comprehensive generic arrangement of the 'Iris sensu latissimo' clade (Iridaceae), congruent with morphology and molecular data. *Phytotaxa*. 2015;232:1-78.
8. Wagner H, Bauer R, Melchart D, Xiao PG, Staudinger A. *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines: Thin-Layer and High Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs*. Springer Vienna; 2011, str. 127-139.
9. Xie GY, Zhu Y, Shu P, Qin XY, Wu G, Wang Q, Qin MJ. Phenolic metabolite profiles and antioxidants assay of three Iridaceae medicinal plants for traditional Chinese medicine "She-gan" by on-line HPLC-DAD coupled with chemiluminescence (CL) and ESI-Q-TOF-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal*. 2014;98:40-51.

10. European directorate for the quality of medicines: *Belamcanda chinensis* rhizome HRS. Available at <https://crs.edqm.eu/db/4DCGI/View=Y0001607>. Accessed February 3, 2021.
11. Mathew B. *The Iris*. B. T. Batsford Ltd; 1989, str. 186.
12. Wikipedia: *Japanese\_Roof\_Iris\_Iris\_tectorum\_2299px.jpg*. Available at: [https://en.wikipedia.org/wiki/Iris\\_tectorum#/media/File:Japanese\\_Roof\\_Iris\\_Iris\\_tectorum\\_2299px.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Iris_tectorum#/media/File:Japanese_Roof_Iris_Iris_tectorum_2299px.jpg). Accessed February 3, 2021.
13. Kew Science, *Plants of the World online: Iris domestica*. Available at: <http://powo.science.kew.org/taxon/60438342-2#source-KBD>. Accessed February 3, 2021.
14. Chen YJ, Liang ZT, Zhu Y, Xie GY, Tian M, Zhao ZZ, Qin MJ. Tissue-specific metabolites profiling and quantitative analyses of flavonoids in the rhizome of *Belamcanda chinensis* by combining laser-microdissection with UHPLC-Q/TOF-MS and UHPLC-QqQ-MS. *Talanta*. 2014;130:585-597.
15. Zhang WD, Yang WJ, Wang XJ, Gu Y, Wang R. Simultaneous determination of tectorigenin, irigenin and irisflorentin in rat plasma and urine by UHPLC-MS/MS: application to pharmacokinetics. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011;879:3735-3741.
16. Qu J, Wu Z, Gao J, Wen H, Wang T, Yuan D. Excretion of tectoridin metabolites in rat urine and bile orally administrated at different dosages and their inhibitory activity against aldose reductase. *Fitoterapia*. 2014;99:99-108.
17. Jia YW, Zeng ZQ, Shi HL, Liang J, Liu YM, Tang YX, Liao X. Characterization of in vitro metabolites of irisflorentin by rat liver microsomes using high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2016;30:1363-1370.
18. Song BR, Lee SL, Lee YJ, Shin HS, Park SN. Antioxidant, Antimicrobial and Cytoprotective Effects of the Extract and Its Fraction Obtained from Rhizomes of *Belamcanda chinensis* (L.) DC. *J Ind Eng Chem*. 2018;29:772-781.

19. Wozniak D, Janda B, Kapusta I, Oleszek W, Matkowski A. Antimutagenic and anti-oxidant activities of isoflavonoids from *Belamcanda chinensis* (L.) DC. *Mutat Res.* 2010;696:148-153.
20. Jung SH, Lee YS, Lim SS, Lee S, Shin KH, Kim YS. Antioxidant activities of isoflavones from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in rats. *Arch Pharm Res.* 2004;27:184-188.
21. Wang G, Zou G, You X, Zhang Y, Jiang H, Li F, Li G. (2017). Tectorigenin and irigenin inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase expression in murine macrophages. *Biomed. Res.* 2017;28:5412-5417.
22. Ha le M, Que do TN, Huyen do TT, Long PQ, Dat NT. Toxicity, analgesic and anti-inflammatory activities of tectorigenin. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2013;35:336-340.
23. Lim HS, Kim YJ, Kim BY, Park G, Jeong SJ. The Anti-neuroinflammatory Activity of Tectorigenin Pretreatment via Downregulated NF- $\kappa$ B and ERK/JNK Pathways in BV-2 Microglial and Microglia Inactivation in Mice With Lipopolysaccharide. *Front Pharmacol.* 2018;9:462.
24. Fu RH, Tsai CW, Tsai RT, Liu SP, Chan TM, Ho YC, Lin HL, Chen YM, Hung HS, Chiu SC, Tsai CH, Wang YC, Shyu WC, Lin SZ. Irisflorentin modifies properties of mouse bone marrow-derived dendritic cells and reduces the allergic contact hypersensitivity responses. *Cell Transplant.* 2015;24:573-588.
25. Lee JW, Lee C, Jin Q, Lee MS, Kim Y, Hong JT, Lee MK, Hwang BY. Chemical constituents from *Belamcanda chinensis* and their inhibitory effects on nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells. *Arch Pharm Res.* 2015;38:991-997.
26. Pan CH, Kim ES, Jung SH, Nho CW, Lee JK. Tectorigenin inhibits IFN-gamma/LPS-induced inflammatory responses in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Arch Pharm Res.* 2008;31:1447-1456.

27. Ahn KS, Noh EJ, Cha KH, Kim YS, Lim SS, Shin KH, Jung SH. Inhibitory effects of Iridogenin from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on nitric oxide and prostaglandin E(2) production in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Life Sci.* 2006;78:2336-2342.
28. Gao Y, Fang L, Liu F, Zong C, Cai R, Chen X, Qi Y. Suppressive effects of irisfloreantin on LPS-induced inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *Exp Biol Med.* 2014;239:1018-1024.
29. Lee KT, Sohn IC, Kim DH, Choi JW, Kwon SH, Park HJ. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of tectorigenin and kaikasaponin III in the streptozotocin-Induced diabetic rat and their antioxidant activity in vitro. *Arch Pharm Res.* 2000;23:461-466.
30. Wu C, Li Y, Chen Y, Lao X, Sheng L, Dai R, Meng W, Deng Y. Hypoglycemic effect of *Belamcanda chinensis* leaf extract in normal and STZ-induced diabetic rats and its potential active fraction. *Phytomedicine.* 2011;18:292-297.
31. Li S, Li S, Huang Y, Liu C, Chen L, Zhang Y. Ionic-liquid-based ultrasound-assisted extraction of isoflavones from *Belamcanda chinensis* and subsequent screening and isolation of potential  $\alpha$ -glucosidase inhibitors by ultrafiltration and semipreparative high-performance liquid chromatography. *J Sep Sci.* 2017;40:2565-2574.
32. Jung SH, Lee YS, Lee S, Lim SS, Kim YS, Shin KH. Isoflavonoids from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* and their effects on aldose reductase and sorbitol accumulation in streptozotocin induced diabetic rat tissues. *Arch Pharm Res.* 2002;25:306-312.
33. Zhang CZ, Wang SX, Zhang Y, Chen JP, Liang XM. In vitro estrogenic activities of Chinese medicinal plants traditionally used for the management of menopausal symptoms. *J Ethnopharmacol.* 2005;98:295-300.
34. Yoo HH, Yongri J, Jin JL, Lee S. Evaluation of the estrogenic activity of isoflavones from the rhizome of *Belamcanda chinensis*. *Food Sci. Biotechnol.* 2005;14:39-41.

35. De-Eknamkul W, Umehara K, Monthakantirat O, Toth R, Frecer V, Knapic L, Braiuca P, Noguchi H, Miertus S. QSAR study of natural estrogen-like isoflavonoids and diphenolics from Thai medicinal plants. *J Mol Graph Model*. 2011;29:784-794.
36. Kang K, Lee SB, Jung SH, Cha KH, Park WD, Sohn YC, Nho CW. Tectoridin, a poor ligand of estrogen receptor alpha, exerts its estrogenic effects via an ERK-dependent pathway. *Mol Cells*. 2009;27:351-357.
37. Feldman RD, Limbird LE. GPER (GPR30): A Nongenomic Receptor (GPCR) for Steroid Hormones with Implications for Cardiovascular Disease and Cancer. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2017;57:567-584.
38. Seidlová-Wuttke D, Hesse O, Jarry H, Rimoldi G, Thelen P, Christoffel V, Wuttke W. Belamcanda chinensis and the thereof purified tectorigenin have selective estrogen receptor modulator activities. *Phytomedicine*. 2004;11:392-403.
39. Zeng D. *Materia Medica Essentials of Chinese Medicine*. Bridge Pub; 2003, str. 48-55.

## Znanstveni i pregledni radovi

-Duka, Ivan; Maleš, Željko; Bojić, Mirza; Hruševar, Dario; Mitić, Božena

Chemical fingerprinting, total phenolics and antioxidant activity of some *Iris* taxa. // *Croatica chemica acta*, 93 (2020), 1; 49-56 doi:10.5562/cca3673 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

-Maleš, Željko; Duka, Ivan; Bojić, Mirza; Vilović, Tihana; Mitić, Božena; Hruševar, Dario

Određivanje fenolnih spojeva i antioksidativnog učinka u dvjema invazivnim vrstama roda *Impatiens* L. // *Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva*, 76 (2020), 1; 1-8.

(<https://www.bib.irb.hr/1021199>) (domaća recenzija, članak, znanstveni)

-Duka, Ivan; Gerić, Marko; Gajski, Goran; Friščić, Maja; Maleš, Željko; Domijan, Ana- Marija; Turčić, Petra

Optimization of a fast screening method for the assessment of low molecular weight thiols in human blood and plasma suitable for biomonitoring studies. // *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 55 (2020), 3; 275-280

doi:10.1080/10934529.2019.1687236 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

-Babić, Ivana; Bojić, Mirza; Maleš, Željko; Zadro, Renata; Gojčeta, Koraljka; Duka, Ivan; Rimac, Hrvoje; Jukić, Irena

Influence of flavonoids' lipophilicity on platelet aggregation. // *Acta pharmaceutica*, 69 (2019), 4; 607-619 doi:10.2478/acph-2019-0040 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

-Maleš, Željko; Ledić Drvar, Daniela; Duka, Ivan; Žužul, Kristina

Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. // *Acta pharmaceutica*, 69 (2019), 4; 525-531 doi:10.2478/acph-2019-0045 (međunarodna recenzija, članak, pregledni)



-Ochensberger, Sandra; Alperth, Fabian; Mitić, Božena; Kunert, Olaf; Mayer, Stefanie; Ferreira Mourão, Maria; Turek, Ivana; Vlad Luca, Simon; Skalicka-Woźniak, Krystyna; Maleš, Željšan; Hruševar, Dario; Duka, Ivan; Bucar, Franz

Phenolic compounds of *Iris adriatica* and their antimycobacterial effects. // *Acta pharmaceutica*, 69 (2019), 4; 673-681 doi:10.2478/acph-2019-0037 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

-Maleš, Željšan; Friščić, Maja; Duka, Ivan; Mišković, Gjuro

Spirulina - ljekovita cijanobakterija. // *Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva*, 75 (2019), 4; 261-282. (<https://www.bib.irb.hr/963531>) (domaća recenzija, članak, pregledni)

#### **Stručni radovi**

-Maleš, Željšan; Herceg, Miroslav; Vilović, Tihana; Duka, Ivan

Guarana – popularni psihostimulans. // *Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva*, 75 (2019), 11; 819-827. (<https://www.bib.irb.hr/1009893>) (domaća recenzija, članak, stručni)

-Maleš, Željšan; Herceg, Miroslav; Bojić, Mirza; Duka, Ivan; Vilović, Tihana

Biljne droge s halucinogenim i psihostimulirajućim učincima. // *Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva*, 75 (2019), 6; 465-478. (<https://www.bib.irb.hr/986520>) (domaća recenzija, članak, stručni)

-Maleš, Željšan; Duka, Ivan; Vilović, Tihana; Mišković, Gjuro

Dodatak prehrani – vrsta *Moringa oleifera* Lam.. // *Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva*, 75 (2019), 7-8; 557-561. (<https://www.bib.irb.hr/1004563>) (domaća recenzija, članak, stručni)

-Maleš, Željko; Vilović, Tihana; Duka, Ivan; Mišković, Gijuro

Manuka med. // Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva, 75 (2019), 12; 899-905. (<https://www.bib.irb.hr/1016716>) (domaća recenzija, članak, stručni)

-Maleš, Željko; Vilović, Tihana; Duka, Ivan; Mišković, Gijuro

Chlorella – ljekovita zelena alga. // Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva, 75 (2019), 10; 713-721. (<https://www.bib.irb.hr/1004693>) (domaća recenzija, članak, stručni)

-Maleš, Željko; Marelja, Vida; Bojić, Mirza; Duka, Ivan

Pripravci ljekovitih biljaka u liječenju zubobolje. // Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva, 74 (2018), 12; 875-892. (<https://www.bib.irb.hr/948139>) (domaća recenzija, članak, stručni)