

# Nove kineske biljne droge (radices) u 9. izdanju Europske farmakopeje

---

**Dabo, Monika**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:545029>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-27**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Monika Dabo**

**Nove kineske biljne droge (radices) u  
9. izdanju Europske farmakopeje**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Biljane Blažeković, mag. pharm.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici Biljani Blažeković na pruženoj prilici, stručnom vodstvu, temeljitim smjernicama i savjetima prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada.*

*Hvala mojoj obitelji i prijateljima na podršci i strpljenju.*

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	3
3. MATERIJALI I METODE .....	4
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	5
4.1. Bupleuri radix (柴胡, Chai Hu) .....	5
4.1.1. Opis biljke .....	6
4.1.2. Fitokemijski sastav .....	6
4.1.3. Upotreba u TCM-u .....	7
4.1.4. Farmakološki učinci .....	7
4.1.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9 .....	10
4.2. Codonopsis radix (党参, Dang Shen) .....	13
4.2.1. Opis biljke .....	13
4.2.2. Fitokemijski sastav .....	14
4.2.3. Upotreba u TCM-u .....	15
4.2.4. Farmakološki učinci .....	15
4.2.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9 .....	17
4.3. Moutan cortex (牡丹皮, Mu dan pi) .....	19
4.3.1. Opis biljke .....	19
4.3.2. Fitokemijski sastav .....	20
4.3.3. Upotreba u TCM-u .....	21
4.3.4. Farmakološki učinci .....	21
4.3.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9 .....	24
4.4. Paeoniae radix alba (白芍, Bai Shao) .....	27
4.4.1. Opis biljke .....	27
4.4.2. Fitokemijski sastav .....	28
4.4.3. Upotreba u TCM-u .....	29
4.4.4. Farmakološki učinci .....	29
4.4.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9 .....	33
4.5. Paeoniae radix rubra (赤芍, Chi Shao) .....	35

4.5.1.	Opis biljke .....	35
4.5.2.	Fitokemijski sastav .....	35
4.5.3.	Upotreba u TCM-u .....	36
4.5.4.	Farmakološki učinci .....	36
4.5.5.	Monografija droge u Ph. Eur. 9.....	39
4.6.	Platycodonis radix (桔梗, Jie Geng).....	41
4.6.1.	Opis biljke .....	41
4.6.2.	Fitokemijski sastav .....	42
4.6.3.	Upotreba u TCM-u .....	43
4.6.4.	Farmakološki učinci .....	43
4.6.5.	Monografija droge u Ph. Eur. 9.....	47
4.7.	Polygoni cuspidati rhizoma et radix (虎杖, Hu zhang) .....	50
4.7.1.	Opis biljke .....	50
4.7.2.	Fitokemijski sastav .....	51
4.7.3.	Upotreba u TCM-u .....	51
4.7.4.	Farmakološki učinci .....	52
4.7.5.	Monografija droge u Ph. Eur. 9.....	55
5.	ZAKLJUČAK .....	59
6.	LITERATURA.....	60
7.	SAŽETAK/SUMMARY .....	74

Temeljna dokumentacijska kartica/ Basic documentation card

# 1. UVOD

Tradicionalna kineska medicina (TCM) važan je dio kineske kulturne baštine i jedinstven je izvor znanja za liječenje bolesti i održavanje zdravlja temeljen na stoljećima prikupljanom kliničkom iskustvu koje polazi od tradicionalne kineske filozofije. Tijekom povijesti imala je važnu ulogu u preživljavanju i rastu kineske populacije. S obzirom da u novije vrijeme prirodne metode liječenja stječu sve veću popularnost, širom svijeta jača i interes za TCM kao jedinstveni sustav liječenja koji se bitno razlikuje od suvremene zapadne medicine (Zhang, 2012).

Smatra se da se Tradicionalna kineska medicina prakticira već najmanje 2500 godina, dok je moderna zapadna medicina u Kinu uvedena tek prije stotinjak godina. U prvoj polovici 20. stoljeća službene kineske vlasti započele su s popularizacijom zapadne medicine, osobito u gradovima, a u ruralnim se područjima za sprječavanje i liječenje bolesti i dalje uglavnom koristila tradicionalna medicina. Nakon osnivanja Narodne Republike Kine 1949. godine, kineska je vlada donijela niz propisa važnih za tradicionalnu medicinu, uključujući poticanje ujedinjenja rada kineskih i zapadnih liječnika i uključivanje oba sustava liječenja u svakodnevnu praksu. U tom kontekstu potaknuto je osnivanje TCM bolnica, fakulteta i instituta te se na razne načine poticalo liječnike da usvoje znanja o tradicionalnoj medicini. Danas su sve brojnija znanstvena istraživanja o djelotvornosti i sigurnosti primjene tradicionalnih kineskih lijekova i metoda liječenja kao i o mogućnostima integracije TCM-a i suvremene medicine u liječenju velikog broja bolesti. Iz toga proizlazi da TCM nije samo sačuvana kroz tisućljetnu praksu, već je u novije vrijeme i uznapredovala zahvaljujući sve većem interesu znanstvene zajednice. Posljednjih godina međunarodni medicinski krugovi sve više pažnje posvećuju TCM-u, brojni pacijenti u drugim zemljama izvan Kine u liječenju koriste metode TCM-a, a pojedini liječnici u zapadnim zemljama također pokazuju zanimanje za učenje ovog jedinstvenog sustava liječenja, pa je u nekim zemljama TCM praksa već i službeno prepoznata (Zhufan, 2000).

Tradicionalna kineska medicina osnovana je na temeljnim konceptima povezanosti čovjeka i prirode, cjelovitosti ljudskog tijela i uma te održavanja dinamičke ravnoteže životnih aktivnosti pod utjecajem unutarnjih i vanjskih okruženja (Zhufan, 2000). Svemir se sastoji od različitih sila: komplementarne suprotnosti yina i yanga te pet faza. Ljudsko tijelo je mali svijet i predstavlja

ove sile u malome. U prirodi postoje zakoni i odnosi koji imaju univerzalnu vrijednost te se koriste i u tumačenju ljudske anatomije, fiziologije i patofiziologije (Bensky i sur., 2004). U svjetlu tih koncepata, tradicionalna kineska medicina započinje proučavanje ljudskog tijela iz funkcionalnog gledišta, te je razvijen jedinstveni teorijski sustav te različite tehnike i mjere za prevenciju i kontrolu bolesti te očuvanje zdravlja (Zhufan, 2000).

Fitoterapija ili liječenje kineskim ljekovitim biljkama predstavlja najvažniji način liječenja i prevencije bolesti u tradicionalnoj kineskoj medicini (Hempfen i Fischer, 2009). Broj ljekovitih tvari koje se koriste u tradicionalnoj kineskoj medicini tijekom proteklih dvije tisuće godina se neprestano povećavao, obuhvaćajući ne samo one koje potječu iz kineske narodne medicine, već i one koje se koriste u drugim dijelovima Azije, poput zemalja Jugoistočne Azija, Indije i Bliskog Istoka. Knjiga *Grand Materia Medica* djelo je jednog od najvećih kineskih herbalista, Li Shi-Zhena, i smatra se jednim od klasika TCM-a koje je prevedeno na više svjetskih jezika. Po prvi puta tiskana 1596., ova knjiga pruža opise 1892 ljekovite tvari, od kojih je glavnina biljnog podrijetla, njih 1173, dok je ostalih 444 životinjskog podrijetla i 275 minerala (Bensky i sur., 2004). U Kini je danas poznato oko 7000 ljekovitih biljnih vrsta, a kako se neke od njih mogu naći i u drugim dijelovima svijeta, tradicionalno prikupljeno znanje može biti korisno i šire. Za propisivanje kineskih biljnih droga potrebno je poznavanje tradicionalne kineske farmakologije temeljene na stoljećima dugim kliničkim promatranjima i praksi (WHO, 1989). Racionalno korištenje ljekovitog bilja podrazumijeva da je biljka jasno i sigurno kategorizirana prema svom energetske obrascu. Klasifikacija kineskih ljekovitih biljaka temeljena je na specifičnim paradigmatičkim svojstvima i daje nam podatke o njihovim svojstvima, kao što su temperature, okus, smjer djelovanja te odnos prema organima i kanalima (Benski i sur., 2004, Hempfen i Fischer, 2009).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Tradicionalna kineska medicina (*eng.* Traditional Chinese medicine, TCM) jedan je od najstarijih sustava liječenja na svijetu, a današnje globalno zanimanje za taj jedinstveni sustav liječenja sve više raste, kako među znanstvenicima, tako i među pacijentima. Poznato je da se TCM uvelike temelji na fitoterapiji i primjeni nekoliko stotina ljekovitih biljaka u liječenju različitih bolesti. S obzirom da je Europska agencija za lijekove prepoznala sve veću popularnost i prisutnost kineskih ljekovitih biljnih droga na europskom tržištu kao i potrebu za uvođenjem normi njihove kakvoće, do danas je izrađeno i u Europsku farmakopeju uvršteno više od pedeset monografija kineskih biljnih droga.

Cilj ovog rada bio je teorijski istražiti sedam odabranih ljekovitih biljnih droga koje se tradicionalno primjenjuju u kineskoj medicini. Istražene su droge koje se dobivaju od korijena kineskih biljaka, a za koje su uspostavljene norme kakvoće u monografijama u najnovijem devetom izdanju Europske farmakopeje. Svrha rada bila je dati uvid u biljne izvore droga, njihovu tradicionalnu primjenu, fitokemijski sastav te recentne znanstvene spoznaje o djelovanju i sigurnosti primjene. Monografije Europske farmakopeje koje sadrže opis droge i postupke za ispitivanje kakvoće istraživanih biljnih droga prevedene su na hrvatski jezik kako bi se olakšala njihova primjena u ljekarničkoj praksi.



### 3. MATERIJALI I METODE

U ovom radu provedeno je teorijsko istraživanje biljnih droga s dugom primjenom u tradicionalnoj kineskoj medicini. Odabrano je sedam ljekovitih droga koje se dobivaju od korijenja kineskih biljaka i za koje su utemeljene norme kakvoće u 9. izdanju Europske farmakopeje:

1. Bupleuri radix (Chai Hu)
2. Codonopsis radix (Dang Shen)
3. Moutan cortex (Mu Dan Pi)
4. Paeoniae radix alba (Bai Shao)
5. Paeoniae radix rubra (Chi Shao)
6. Platycodonis radix (Jie Geng)
7. Polygoni cuspidati rhizoma et radix (Hu zhang)

Rad je nastao pregledom stručne literature i pretraživanjem znanstvenih i drugih baza podataka (PubMed, ScienceDirect, Scopus, Lexicomp, Cochrane Library). Kao ključne riječi u pretraživanju su korišteni latinski nazivi biljnih droga i odgovarajućih biljnih vrsta: Bupleuri radix, *Bupleurum chinense*, Codonopsis radix, *Codonopsis pilosula*, Moutan cortex, *Paeonia x suffruticosa*, Paeoniae radix alba, *Paeonia lactiflora*, Paeoniae radix rubra, *Paeonia lactiflora*, Platycodonis radix, *Platycodon grandiflorus*, Polygoni cuspidati rhizoma et radix, *Polygonum cuspidatum*.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Biljne droge koje se u Kini već stoljećima tradicionalno koriste u liječenju različitih oboljenja postaju sve popularnije i dostupnije i u drugim dijelovima svijeta. Usvajanje novih znanja iz područja etnofarmakognozije nužno je kako bi se mogli pratiti suvremeni trendovi u fitofarmaciji. Sustavnim pretraživanjem i proučavanjem stručne i znanstvene literature, u nastavku se nalazi pregled biljnih izvora, tradicionalne primjene te rezultati dosadašnjih fitokemijskih istraživanja te nekliničkih i kliničkih studija za biljne droge *Bupleuri radix*, *Codonopsis radix*, *Moutan cortex*, *Paeoniae radix alba*, *Paeoniae radix rubra*, *Platycodonis radix* i *Polygoni cuspidati rhizoma et radix*.

### 4.1. *Bupleuri radix* (柴胡, Chai Hu)

*Bupleuri radix* (eng. *Bupleurum* root) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Bupleurum chinense* (Slika 1).



Slika 1. *Bupleuri radix*  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

### 4.1.1. Opis biljke

*Bupleurum chinense* DC. (Apiaceae) je višegodišnja biljka, visoka 45-85 cm (Slika 2). Korijen je čvrst, razgranat, dug 6-15 cm, promjera 3-8 cm, crno-smeđe boje. Stabljika je uspravna i savitljiva, s naizmjenično raspoređenim listovima. List je linearnog ili suličastog oblika i cijelog ruba, a vrh plojke je zašiljen. Cvat je štitast, sastavljen od brojnih žutih cvjetova. Plod je smeđi duguljasti kalavac, s istaknutim rebrima. Biljka raste u Kini i Sjevernoj Aziji na travnjacima, nasipima, na sunčanim padinama i uz putove (WHO, 1989; [www.efloras.org](http://www.efloras.org)).

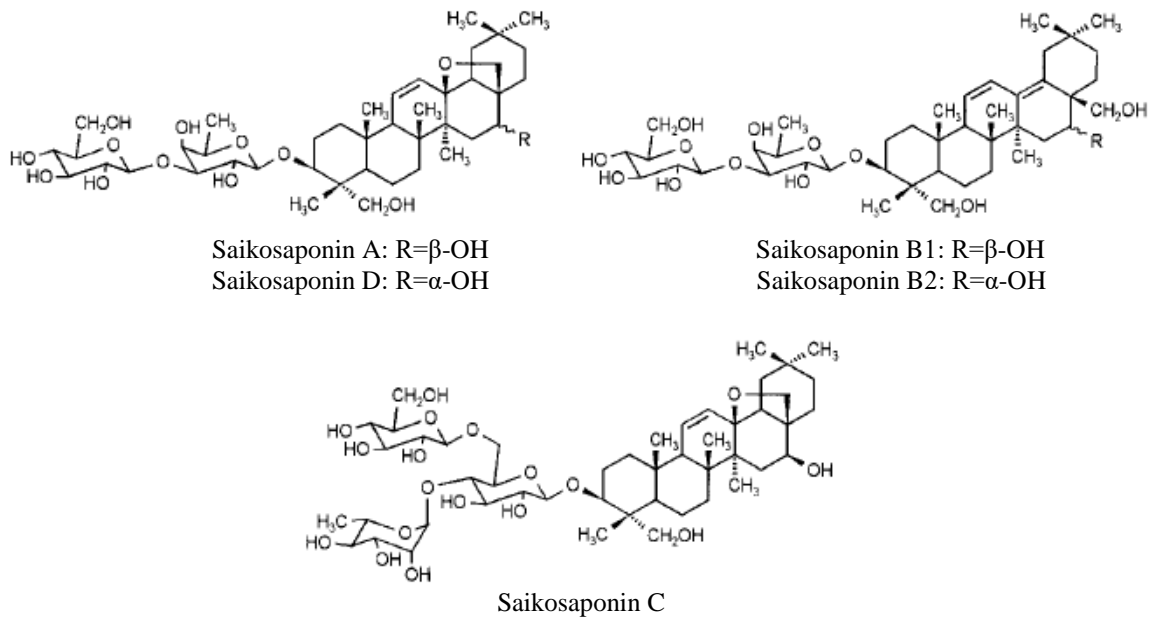


Slika 2. *Bupleurum chinense* DC.  
(preuzeto s <http://www.tipdisease.com>)

### 4.1.2. Fitokemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice biljne droge *Bupleuri radix* su (Wagner i sur., 2011):

- **triterpenski saponini:** saikosaponini A, B1-B4, C, D, E i F, monoacetilsaikosaponini i kiseli saponini
- **sapogenini:** saikogenini A, B, C, D, E, F i G
- **poliacetileni:** saikodiin A, B, C
- eterično ulje
- fitosteroli:  $\alpha$ -spinasterol i stigmasterol
- masne kiseline: palmitinska, oleinska, linolna i stearinska kiselina
- ostale sastavnice: lignan saikokrom A, aminokiseline, šećeri



Slika 3. Bioaktivne sastavnice droge Bupleuri radix

### 4.1.3. Upotreba u TCM-u

U tradicionalnoj kineskoj medicini biljna droga Bupleuri radix snižava tjelesnu temperaturu i djeluje protiv gorkog okusa u ustima, često u kombinaciji s drogom Scutellariae radix i Pinelliae rhizoma. Koristi se i protiv umora, iscrpljenosti, vrtoglavice, emocionalne nestabilnosti i tinitusa, također i u kombinaciji s drogama Angelicae sinensis radix, Paeoniae radix alba ili Chuanxiong rhizoma. Ako se koristi u kombinaciji s drogom Aurantii fructus, smanjuje bol u prsima, bol u trbuhu i povećava apetit. Koristi se i kod hepatitisa u kombinaciji s drogom Glycyrrhizae radix (Hempen i Fischer, 2009, Bensky i sur., 2004).

### 4.1.4. Farmakološki učinci

Bupleuri radix jedna je od često korištenih droga u tradicionalnoj kineskoj medicini te je pregledom dosad provedenih znanstvenih istraživanja pronađen veći broj predkliničkih rezultata

koji ukazuju na različite biološke i farmakološke učinke. Kontrolirane kliničke studije nisu dosad provedene.

### Protuupalno djelovanje

Droga Bupleuri radix široko je korištena za liječenje nekoliko tipova upalnih bolesti. Sirovi polisaharidi (80 mg/kg), izolirani iz droge, značajno umanjuju oštećenje pluća smanjenjem razine mijeloperoksidaze, TNF- $\alpha$  i serumskog NO (Xie i sur., 2012). Niz istraživanja pokazalo je da saikosaponini izolirani iz droge Bupleuri radix na različite načine utječu na upalni proces, uključujući kočenje upalne sekrecije, kapilarnu permeabilnost, oslobađanje medijatora upale, migraciju leukocita, hiperplaziju vezivnog tkiva i dr. (Yang i sur., 2017). Saikosaponin A, koji se nalazi u drogi, inhibira proinflamatorne citokine u LPS-stimuliranim makrofagima. Mehanizam ovih učinaka uključuje regulaciju MAPK i NF- $\kappa$ B signalnih puteva (Zhu i sur., 2013). Štoviše, saikosaponin A inhibira produkciju ROS, TNF- $\alpha$ , IL-8, COX-2 i iNOS u LPS-stimuliranim humanim endotelnim stanicama umbilikalne vene (Fu i sur., 2015). Također, smanjuje koncentracije TNF- $\alpha$  i IL-6 u crijevima štakora inhibicijom NOD2/NF- $\kappa$ B signalnog puta (Zhao i sur., 2015). Saikosaponin D inhibira produkciju PGE2 i koncentraciju unutarstaničnog kalcija u C6 štakorskim glioma stanicama (Kodama i sur., 2003). Nekoliko in vitro i in vivo studija pokazuje da kombinirani pripravci koji sadrže drogu Bupleuri radix također djeluju protuupalno (Yang i sur., 2017).

### Protutumorski učinak

Saponini izolirani iz droge Bupleuri radix značajno pojačavaju anti-proliferativnu aktivnost u ljudskim stanicama raka pluća (Hsu i sur., 2004). Vodeni ekstrakt droge može pojačati citotoksičnost induciranu 5-fluorouracilom u HepG2 stanicama jetre kod hepatocelularnog karcinoma (Kang i sur., 2008). Mehanizam citotoksičnosti se pripisuje aktivaciji kaspaze-3 i kaspaze-7, što posljedično rezultira raspadom poli-ADP-riboza polimeraze (Chiang i sur., 2003). Saikosaponin D inducira autofagiju u HeLa i MCF-7 stanicama raka direktnom inhibicijom Ca<sup>2+</sup> ATPaze sarkoplazmatskog/endoplazmatskog retikuluma, što vodi do disbalansa homeostaze kalcija. Također je dokazano da djeluje citotoksično na stanice rezistentne na apoptozu (Wong i sur., 2013).

### Antidepresivno djelovanje

Rezultati prekliničkih istraživanja ukazuju na antidepresivni učinak droge *Bupleuri radix*. Vodeni ekstrakt droge (900 mg/kg) značajno je povećao fosforilaciju CREB proteina (prema engl. cAMP response element binding protein), koji regulira ekspresiju brojnih gena uključenih u patofiziologiju depresije, i povisio razine moždanog neurotrofnog BDNF čimbenika u SH-SY5Y stanicama. Time se povećala fosforilacija Akt i kinaze glikogen-sintaze-3 $\beta$ , što je kod štakora rezultiralo pojačanjem signalnog puta PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  (Seo i sur., 2012).

Wang i suradnici (2016) su na animalnim modelima pomoću testa prisilnog plivanja i testa vješanja repova ispitivali antidepresivni učinak droge *Bupleuri radix* u kombinaciji s drogom *Paeoniae radix alba*. Utvrđeno je da ispitivana kombinacija droga smanjuje vrijeme nepokretljivosti životinja djelujući tako da regulira transmisiju adrenalina i serotonina u području hipokampusa i korteksa miševa.

### Hepatoprotektivni učinak

Na animalnom modelu provedena su istraživanja hepatoprotektivnog učinka sirove droge *Bupleuri radix*, kao i droge obrađene octom. Životinje su tijekom 14 dana dobivale drogu u dozi od 5 g/kg/dan. Protektivno djelovanje na jetru pokazale su i neobrađena i obrađena droga, s tim da je snažniji učinak pokazala obrađena droga (Li i sur., 2015).

Utvrđeno je da saikosaponini izolirani iz droge mogu spriječiti oštećenje jetre regulacijom intracelularne razine kalcija (Han i sur., 2006). Također, saikosaponin D smanjuje odlaganje kolagena I u jetri i razinu alanin-aminotransferaze u serumu u štakora s fibrozom jetre. Smanjuje i razinu transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) u jetri štakora koja je znatno povećana nakon oštećenja dimetilnitrozaminom. Povoljan utjecaj saikosaponina D na fibrozu jetre može biti povezan s njegovom sposobnošću smanjenja oksidativnog stresa (Fan i sur., 2007).

### Antiviralni učinak

Znanstvena istraživanja pokazuju značajni antiviralni učinak droge na akutne H1N1 infekcije respiratornog trakta. Tretiranje inficiranih A549 stanica acetonskim ekstraktom droge dovodi do smanjenja virusom inducirane RANTES sekrecije, što upućuje na to da droga može biti korisna kod liječenja kroničnih upalnih stanja popraćenih virusnim infekcijama (Wen i sur., 2011). Od

svih saikosaponina koji su pokazali učinak na ljudski koronavirus-229E, najsnažnije je djelovao saikosaponin b2, utječući na rane stadije viralne replikacije (Yang i sur., 2017).

#### Antipiretsko djelovanje

Vodeni ekstrakt droge *Bupleuri radix* pokazao je antipiretički učinak u ispitivanju provedenom na štakorima. Mehanizam je povezan s regulacijom sinteze i eksudacije cAMP-a i arginin vazopresina (Jin i sur., 2013). *In situ* gel eteričnog ulja droge primijenjen nazalno bio je učinkovitiji nego vodena otopina u liječenju povišene temperature (Cao i sur., 2007).

#### Antibakterijski učinak

Etanolni ekstrakt droge *Bupleurum chinense* DC. pokazao je izvanredan bakteriostatski učinak na Gram-negativnu bakteriju *Helicobacter pylori*, s minimalnom inhibitornom koncentracijom od 60 mM (Li i sur., 2005). Antibakterijski učinak droge može se pripisati sadržaju saikosaponina koji su spriječili rast i razvoj bakterija, posebice sojeva *Pseudomonas aeruginosa* i *Listeria monocytogenes*. Saikosaponini primijenjeni intraperitonealno dan prije infekcije miševa bakterijom *P. aeruginosa* u dozi od 10 µg/miš su djelovali protektivno, a sam mehanizam djelovanja povezuje se s imunomodulacijskim svojstvima (Kumuzawa i sur., 1990).

### **4.1.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9**

04/2018:2562

## **KORIJEN AZIJSKOG ZVINČACA**

### **Bupleuri radix**

#### DEFINICIJA

Osušeni, cjelovit ili usitnjen korijen vrste *Bupleurum chinense* DC. ili *Bupleurum scorzonerifolium* Willd.

*Sadržaj*: najmanje 0,16 posto saikosaponina A (C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>O<sub>13</sub>; M<sub>r</sub> 781) (suha droga).

#### IDENTIFIKACIJA

A. Makroskopska obilježja

- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

## ISPITIVANJA

***Bupleurum longiradiatum* Turcz.** Tankoslojna kromatografija visoke djelotvornosti (2.8.25).

*Ispitivana otopina.* U 1,0 g praška biljne droge (355) (2.9.12) doda se 10,0 mL *metanola R* i sonicira 10 minuta. Centrifugira se i dalje se koristi supernatant.

*Poredbena otopina (a).* Otopi se 1,0 mg *saikosaponina A R* i 1,0 mg *saikosaponina D R* u *metanolu R* i razrijedi do 5,0 mL istim otapalom.

*Poredbena otopina (b).* Razrijedi se 2,5 mL poredbene otopine (a) do 10,0 mL *metanolom R*.

*Marker inteziteta:* saikosaponin D.

*Ploča:* TLC silikagel F<sub>254</sub> ploča R (2-10 µm).

*Mobilna faza:* voda R, 2-propanol R, etilacetat R (10:30:80 V/V/V).

*Nanošenje:* 5 µL u linijama od 8 mm.

*Razvijanje:* 70 mm od donjeg ruba ploče.

*Sušenje:* na zraku.

*Detekcija:* poprska se otopinom *anisaldehida R*, zagrije 3 minute na 100 °C i ispituje na dnevnom svjetlu.

*Prikladnost sustava:* poredbena otopina (a):

- kromatogram pokazuje 2 udaljene zone u donjem dijelu srednje trećine ploče; donja zona (saikosaponin A) je sive boje, a gornja zona (saikosaponin D) je narančasto-smeđe boje.

*Rezultati:* Na kromatogramu ispitivane otopine, prisutstvo sive zone neposredno iznad zone koja odgovara saikosaponinu H (koji putuje zajedno sa saikosaponinom C) dokazuje prisutstvo vrste *B. longiradiatum*.

**Gubitak sušenjem** (2.2.32): najviše 5,0 posto, određeno na 1,000 g praška biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo** (2.4.16): najviše 9,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini** (2.8.1): najviše 3,5 posto.

## ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

*Ispitivana otopina.* Dispregira se 0,250 g praška biljne droge (355) (2.9.12) u smjesi od 3 mL *koncentriranog amonijaka R* i 12 mL *metanola R1*. Sonicira se 30 minuta i centrifugira 10 minuta. Ekstrakcija se ponavlja 2 puta, supernatanti se sjedine i upare do suha pod sniženim tlakom. Ostatak se otopi u *metanolu R1* i razrijedi do 5,0 mL istim otapalom. Otopina se filtrira kroz membranski filter (nominalne veličine pora 0,45 µm).

*Poredbena otopina (a).* Otopi se 10,0 mg *saikosaponina A CRS* u *metanolu R1* i razrijedi do 10,0 mL istim otapalom.



*Poredbena otopina (b).* Otopi se 1 mg *propilparahidroksibenzoata R* u 1 mL *poredbene otopine (a)* i razrijedi do 10,0 mL s *metanolom R1*.

*Kolona:*

- *veličina:*  $l=0,25$  m,  $\varnothing=4,6$  mm;

- *nepokretna faza:* *modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R* (5  $\mu$ m).

*Pokretna faza:* *acetontril R1*, *voda za kromatografiju R* (36:64 V/V).

*Brzina protoka:* 1,0 mL/min.

*Detekcija:* spektrofotometar na 210 nm.

*Injektiranje:* 20  $\mu$ L.

*Vrijeme trajanja analize:* 4 puta duže od vremena zadržavanja *saikosaponina A*.

*Relativno vrijeme zadržavanja* u odnosu na *saikosaponin A* (*vrijeme zadržavanja* = oko 16 minuta): *propilparahidroksibenzoat* = oko 0,9.

*Prikladnost sustava:* *poredbena otopina (b):*

- *razlučivanje:* najmanje 3,0 između pikova *propilparahidroksibenzoata* i *saikosaponina A*.

Izračuna se postotak *saikosaponina A* prema izrazu:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 0,5}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = površina pika *saikosaponina A* u kromatogramu ispitivane otopine;

$A_2$  = površina pika *saikosaponina A* u kromatogramu *poredbene otopine (a)*;

$m_1$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

$m_2$  = masa *saikosaponina A CRS* korištenog za pripremu *poredbene otopine (a)*, u gramima;

$p$  = postotni udio *saikosaponina A* u *saikosaponinu A CRS* (EDQM, 2018).

## 4.2. *Codonopsis radix* (党参, Dang Shen)

*Codonopsis radix* (eng. Codonopsis root) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Codonopsis pilosula* (Slika 4).



Slika 4. *Codonopsis radix*  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

### 4.2.1. Opis biljke

*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. (Campanulaceae) je višegodišnja biljka penjačica koja naraste u visinu 1-2 m (Slika 5). Stabljika je vitičasta, gola i razgranata, dok su mladi dijelovi dlakavi. Listovi su naizmjenično ili nasuprotno raspoređeni, jajastog oblika. Cvjetovi su terminalni ili pazušasti, zvonastog oblika, blage žuto-zelene boje s ljubičastim prugama. Korijen je izdužen, koničnog ili cilindričnog oblika, dug 10-25 cm. Žuto-smeđe je boje, često razrgranat, naboran te slatkog okusa. Plod je tobolac koji sadrži mnogobrojne male sjemenke. Biljka raste u šikarama, uz rubove šuma ili u planinskim šumama, a rasprostranjena je u Kini, Koreji, Mongoliji i Rusiji (WHO, 1989; [www.efloras.org](http://www.efloras.org)).

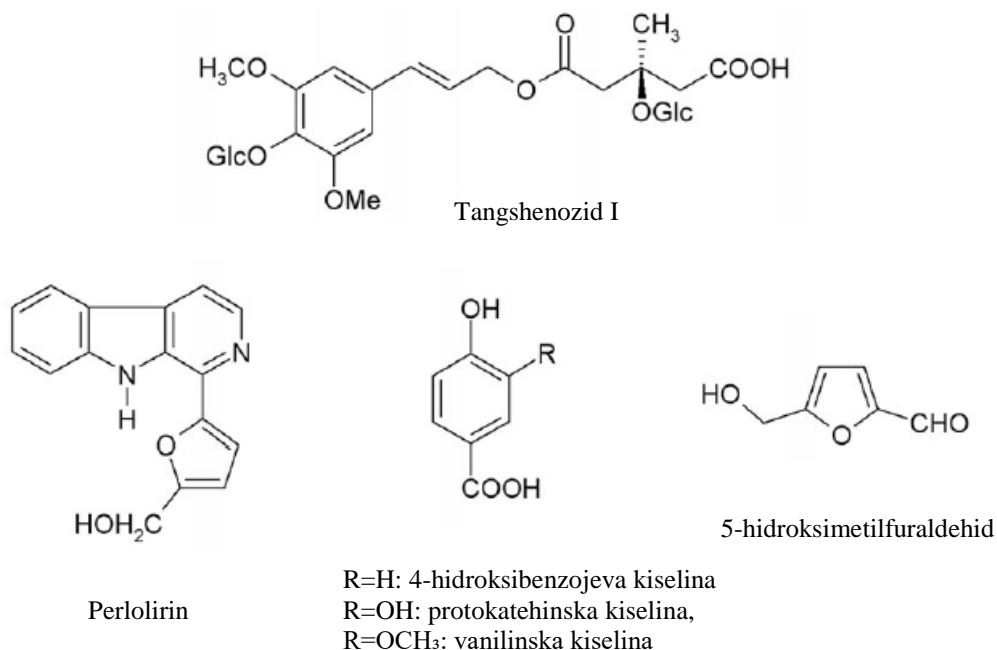


Slika 5. *Codonopsis pilosula* (Franch.)  
Nannf. (preuzeto s  
<http://www.cfgphoto.com/>)

## 4.2.2. Fitokemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice biljne droge *Codonopsis radix* su (Wagner i sur., 2011):

- **fenilpropanoidi:** tangshenozid I i II, siringin, siringaldehid, koniferil alkohol, dihidrokoniferil alkohol, pinorezinol
- **derivati furana:** furan-2-karboksilna kiselina, 5-hidroksimetil-2-furaldehid
- **poliacetilenski alkanil- i alkenil- glikozidi:** etil- $\alpha$ -D-fruktofuranozid, n-heksil- $\beta$ -D-glukopiranozid, (Z)-3-heksenil- $\beta$ -D-glukopiranozid
- steroidi i triterpeni:  $\alpha$ -spinasterol,  $\delta$ -stigmasterol, tarakserol, tarakseril-acetat i fridelin
- alkaloidi: kodonopsin, perlolirin
- ostale sastavnice: šećeri i polisaharidi (glukoza, fruktoza, galaktoza, arabinoza, manoza, , fruktoza i dr., inulin i heteroglikani) i organske kiseline (protokatehinska kiselina, 4-hidroksibenzojeva kiselina, vanilinska kiselina)



Slika 6. Bioaktivne sastavnice droge *Codonopsis radix*

### 4.2.3. Upotreba u TCM-u

Biljna droga *Codonopsis radix* se u kineskoj tradicionalnoj medicini upotrebljava za poboljšanje apetita te protiv dijareje, mučnine, povraćanja, umora i slabosti. Primjenjuje se kod nekih plućnih bolesti kao kroničnog kašlja, kratkoće daha i povećanog sputuma. U kombinaciji se može koristiti s drogom *Atractylodis rhizoma* kod nedostatka apetita i mučnine, a s drogom *Astragali radix* se upotrebljava kod umora, dijareje i nedostatka apetita. Zajedno s drogom *Rehmanniae radix* djeluje povoljno kod slabokrvnosti (Hempen i Fischer, 2009).

### 4.2.4. Farmakološki učinci

Pregledom dosad objavljenih radova ustanovljen je veći broj pretkliničkih dokaza, najčešće dobivenih na eksperimentalnim životinjama. Kliničkih studija nedostaje te bi ih trebalo dodatno provesti kako bi se potvrdio učinak kod ljudi.

#### Imunomodulatorni učinak

U *in vitro* i *in vivo* studijama, istraživano je djelovanje polisaharidima obogaćene frakcije dobivene iz vodenog ekstrakta droge *Codonopsis radix*. Nakon 4-erotjedne oralne primjene u dozi od 10 mg/L u miševa je uočeno da splenociti imaju slabiji mitogeni odgovor na konkavalin A i lipopolisaharid, a makrofagi smanjeno izlučuju reaktivne dušikove spojeve. Međutim, nakon što je primjena produljena na 8 tjedana, splenociti su pokazali pojačani odgovor na mitogene ConA i LPS, dok je odgovor makrofaga ostao isti. U *in vitro* studiji, odgovor splenocita također je bio povećan, ali pinocitička aktivnost makrofaga je ostala nepromijenjena (Wang i sur., 1996).

#### Antioksidativno djelovanje

U *in vitro* studiji istraživano je antioksidativno djelovanje nekoliko droga, uključujući i drogu *Codonopsis radix*. Dokazano je da organski ekstrakt droge slabije inhibira lipidnu peroksidaciju od ekstrakta droge *Panax quinquefolium*, ali je djelotvorniji od vodenog ekstrakta. Vodeni ekstrakt droge učinkovitije inhibira hemolizu eritrocita od ekstrakta droge *Panax quinquefolium* (Ng i sur., 2004).

U drugoj studiji istraživalo se *in vivo* i *in vitro* djelovanje polisaharida izoliranog iz droge *Codonopsis radix* i istog polisaharida obrađenog klorosulfonskim kiselinom tako da je dobiven sulfatirani polisaharid. Dokazano je da su se serumske razine ALT, AST i TNF- $\alpha$  značajno smanjile kod primjenjivanih visokih i srednjih doza sulfatiranog i nesulfatiranog polisaharida. Aktivnost SOD i GSH-Px u homogenizatu jetre je bila značajno veća. Rezultati ukazuju da i sulfatirani i nesulfatirani polisaharid imaju antioksidativno djelovanje *in vitro* i *in vivo*, ali je aktivnost sulfatiranog polisaharida veća (Liu i sur., 2015).

#### Učinak na probavni sustav

U *in vivo* studiji na psima je istražen utjecaj dekokta droge *Codonopsis radix* na razine želučane kiseline, serumskog gastrina i plazmatskog somatostatina. Dekokt je bio primjenjivan oralno, u dozama od 10 g, 20 g, i 40 g. Ustanovljeno je da dekokt droge ne utječe na lučenje HCl u želucu niti na koncentracije somatostatina u plazmi, ali je došlo do značajnog povećanja razine gastrina u serumu (Chen i sur., 1998).

Drugo istraživanje na animalnom modelu pokazalo je da inulinski tip fruktana CP-A, izoliran iz droge *Codonopsis radix*, može spriječiti etanolom potaknut akutni čir na želucu štakora. CP-A je značajno povećao aktivnost endogenih SOD i GSH-Px, dok su aktivnosti markera oksidativnog stresa, MDA i NO, bile smanjene, kao i aktivnost MPO u tkivu želuca. Time je dokazano da je CP-A potencijalna sastavnica koja se može koristiti u prevenciji i liječenju čira na želucu (Li i sur., 2017).

#### Antidijabetičko djelovanje

U studiji provedenoj na eksperimentalnim životinjama s dijabetesom dokazano je da droga može usporiti napredovanje bolesti snižavanjem razine glukoze u krvi i sprječavanjem povećanja aktivnosti serumske aldoza reduktaze. Na taj način droga djeluje pozitivno na dijabetes i dijabetičke komplikacije (He i sur., 2011).

Chan i suradnici (2009) istražili su antioksidativna i antihiperглиkemijska svojstva kombinacije droga *Astragali radix*, *Codonopsis radix* i *Lycii cortex* na animalnom modelu. Ustanovili su da kombinacija droga u kroničnoj terapiji značajno snižava razinu glukoze u krvi poboljšanjem

funkcije  $\beta$ -stanica gušterače. Također se povećala i aktivnost antioksidativnih enzima, kao što su katalaza i superoksid dismutaza. Terapija nije uzrokovala nikakve neželjene učinke.

#### Protutumorsko djelovanje

Kiseli polisaharid (CPPA) izoliran iz droge *Codonopsis radix* *in vitro* snažno je inhibirao invazijski i migracijski potencijal HO-8910 stanica humanog epitelnog raka ovarija te pokazao snažan antiproliferacijski učinak na tumorske stanice. Tretman polisaharidom rezultirao je i smanjenjem CD44 ekspresije u HO-8910 stanica. Autori su zaključili da bi CPPA mogao biti potencijalni kandidat za prevenciju metastaze tumora, inhibicijom invazije, migracije i adhezije tumorskih stanica, kao i CD44 ekspresije (Xin i sur., 2012).

#### Kardiotonično djelovanje

Ekstrakti droge *Codonopsis radix* inhibiraju aktivnost fosfodiesteraze u stanicama miokarda štakora, a posljedica toga je povišena razina nehidroliziranog cAMP-a (Qin i sur., 1994).

### **4.2.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9**

01/2017:2714

## **KODONOPSOV KORIJEN**

### **Codonopsis radix**

#### DEFINICIJA

Cjelovit ili usitnjen, osušen korijen vrste *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., sakupljen u jesen.

#### IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

## ISPITIVANJA

***Platycodon grandiflorus***. Tankoslojna kromatografija (2.2.27).

*Ispitivana otopina*. U 0,500 g praška biljne droge (355) (2.9.12) doda se 5,0 mL *etanola* (70 postotni V/V) R. Sonicira se 10 minuta, a potom centrifugira ili filtrira. Supernatant ili filtrat se upari do suha pod sniženim tlakom. Ostatak se otopi u 1,0 mL *vode* R. Kolona za ekstrakciju na čvrstoj fazi koja sadržava 50 mg oktadecilsilil silikagela (55 µm) ispere se s 3 mL *metanola* R i 3 mL *vode* R i na vrh kolone se nanese 1,0 mL ispitivane otopine. Kolona se ispere s 3 mL *vode* R i sakupe se eluati. Eluati se upare do suha pod sniženim tlakom i ostatak se otopi u 1 mL *metanola* R.

*Poredbena otopina*: Otopi se 1 mg *glukoze* R i 1 mg *ksiloze* R u 2 mL *metanola* R.

*Ploča*: TLC silikagel ploča R (2-10 µm).

*Pokretna faza*: *voda* R, *metanol* R, *ledena octena kiselina* R, *metilenklorid* R (2:3:8:15 V/V/V/V).

*Nanošenje*: 10 µL u linijama od 8 mm.

*Razvijanje*: u visini od 6 cm.

*Sušenje*: na zraku.

*Detekcija*: poprska se *otopinom anisaldehyda* R, zagrije 3 minute na 100 °C i ispituje na dnevnom svjetlu.

*Rezultati*: u kromatogramu ispitivane otopine, prisutstvo žuto-smeđe zone neposredno iznad ili ispod zone koja odgovara *glukozi* u kromatogramu poredbene otopine dokazuje prisustvo vrste *Platycodon grandiflorus*.

**Gubitak sušenjem** (2.2.32): najviše 12,0 posto, određeno na 1,000 g praška biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo** (2.4.16): najviše 6,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini** (2.8.1): najviše 2,5 posto.

**Ekstraktibilne tvari**: najmanje 21,0 posto.

U 4,00 g praška biljne droge (710) (2.9.12) doda se 100 g *etanola* (70 postotni V/V) R i ostavi macerirati 6 sati, uz često miješanje. Nakon stajanja 18 sati, otopina se filtrira. Uzme se 20 g filtrata, upari do suha na vodenoj kupelji i suši u sušioniku 3 sata na 105 °C. Ostatak teži najmanje 0,168 g (EDQM, 2018).

### 4.3. Moutan cortex (牡丹皮, Mu dan pi)

Moutan cortex (*eng.* Moutan bark) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Paeonia x suffruticosa* (Slika 7).



Slika 7. Moutan cortex  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

#### 4.3.1. Opis biljke

*Paeonia x suffruticosa* Andrews (Paeoniaceae) je višegodišnja biljka, visoka do 1,5 m (Slika 8). Stabljika je sivo-smeđe boje. Listovi su dvostruko sastavljeni, a liske su jajastog oblika te su prema vrhu plojke perasto usječene i sa šiljastim krajevima. Cvjetovi su pojedinačni ili (u kultiviranim biljkama) dvostruki, široki 10-17 cm. Latice mogu biti bijele, roze, crvene ili crveno-ljubičaste boje. Divlje vrste su endemske u Kini gdje raste na obroncima litica u provincijama Anhui i Henan (Leon i Yu-Lin, 2017, [www.efloras.org](http://www.efloras.org)).



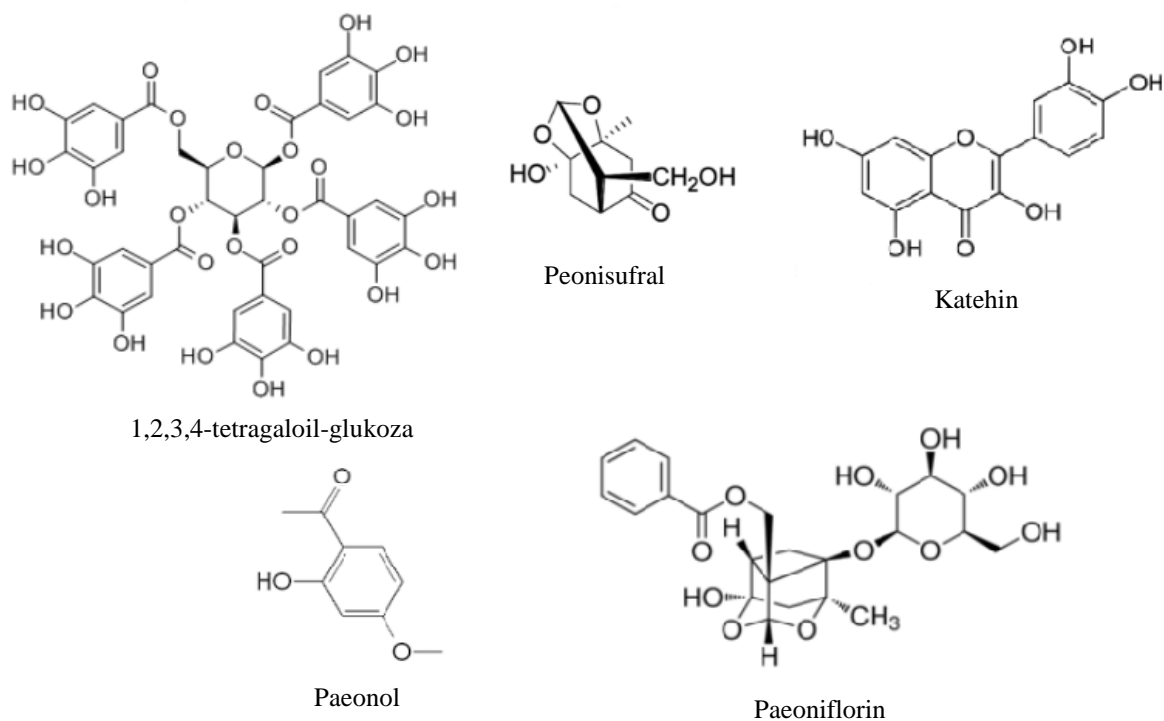
Slika 8. *Paeonia x suffruticosa* Andrews  
(preuzeto s <http://www.uniprot.org>)



### 4.3.2. Fitokemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice biljne droge Moutan cortex su (Wagner i sur., 2011, Zhibi i sur., 2013):

- **fenolni spojevi i glikozidi:** peonol, peonizid, peonolid, peoniflorigenon, sufrutikozid A-E
- **monoterpenski spojevi:** peoniflorin, oksipeoniflorin, benzoil-peoniflorin, galoil-peoniflorin, galoiloksi-peoniflorin, peoniflorigenon, peonisuftral, peonisuftron, peonizotujon
- flavonoidi: kampferol, kvercetin, katehin
- trjeslovine: 1,2,3,4-tetragaloil-glukoza, 1,2,3,4,6-pentagaloil-glukoza
- organske kiseline: benzojeva kiselina, p-hidroksibenzojeva kiselina, galna kiselina



Slika 9. Bioaktivne sastavnice droge Moutan cortex

### 4.3.3. Upotreba u TCM-u

Moutan cortex se u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi za snižavanje temperature kao i kod brojnih stranja koji uključuju krvarenje kao simptom, kao npr. kod subkutanog krvarenja, krvarenja iz nosa, hematurije i krvavog iskašljaja. Zanimljivo je da se također koristi i kod hormonskih poremećaja gdje krvarenje izostaje, tj. kod amenoreje, ali i kod menstrualnih tegoba, tegoba u menopauzi i iritabilnosti. Koristi se u kombinaciji s mnogim biljkama kao npr. s drogom *Paeoniae radix rubra*, *Cinnamomi cassiae*, *Chrysanthemi flos* i *Persicae semen*. Upotreba droge tijekom trudnoće je kontraindicirana (Hempen i Fischer, 2009).

### 4.3.4. Farmakološki učinci

Moutan cortex često je korištena droga u tradicionalnoj kineskoj medicini, a zbog toga su provedena i brojna preklinička istraživanja kako bi se detaljnije objasnio mehanizam njezinog djelovanja. Kliničkih studija nedostaje te bi ih trebalo dodatno provesti.

#### Antioksidativno djelovanje

U *in vitro* istraživanju dokazano je da etanolni ekstrakt droge Moutan cortex inhibira produkciju reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) u stanicama PC12 podvrgnutima oksidativnom stresu. Stanice su bile tretirane ekstraktom droge u dozi od 1 mg/mL, čime je obnovljena vitalnost stanica. Ekstrakt je povećao ekspresiju enzima hem oksigenaze te katehol-O-metiltransferaze, što upućuje da droga inhibira produkciju ROS (Rho i sur., 2005). Fenoli koji se nalaze u metanolnom ekstraktu droge posjeduju antioksidativna svojstva pa je droga potencijalan bogati izvor prirodnih antioksidansa. Ustanovljena je korelacija između antioksidativnog kapaciteta i količine ukupnih fenola, što ukazuje da su fenoli većinski doprinositelj antioksidativnoj aktivnosti droge (Li i sur., 2008).

Peoniflorin izoliran iz droge Moutan cortex pokazao je citoprotektivni učinak u endotelnim stanicama djelujući protiv oksidativnog oštećenja uzrokovanog gama zračenjem. Dokazano je da štiti EA.hy926 stanice od radijacijskog oštećenja putem Nrf2/HO-1 signalnog puta, smanjuje produkciju ROS, razine malonaldehida i laktat dehidrogenaze, a pojačava produkciju glutaciona i

superoksid dismutaze, što sve ukazuje da je peoniflorin potentan antioksidans i potencijalni lijek za liječenje radijacijskih ozljeda (Yu i sur., 2013).

### Protuupalno djelovanje

U nekoliko je studija proučavano antioksidativno djelovanje droge Moutan cortex na *in vitro* i *in vivo* modelima stimuliranim lipopolisaharidima. Dokazano je da droga svojim protuupalnim svojstvima može poboljšati stanje akutnog plućnog oštećenja uzrokovanog lipopolisaharidima u štakora (Fu i sur., 2012). Protuupalno djelovanje ispoljava putem inhibicije iNOS i COX-2 ekspresije supresijom fosforilacije I- $\kappa$ B $\alpha$  i aktivacijom NF- $\kappa$ B u makrofagima aktiviranih pomoću LPS (Chun i sur., 2007). Dokazano je da peoniflorin inhibira LPS-induciranu upalu u humanim endotelnim stanicama umbilikalne vene istodobnim smanjenjem ekspresije povećane mobilne skupine box-1 (HMGB1), količine mRNA i proteinske ekspresije RAGE, TLR-2 i TLR-4 te utišavanjem signalnog puta NF- $\kappa$ B (Li i sur., 2013).

### Protutumorsko djelovanje

U zadnjih nekoliko godina više skupina znanstvenika bavilo se istraživanjem protutumorskog djelovanja droge Moutan cortex i njezinih sastavnica. Dokazano je antiproliferativno djelovanje droge na staničnim linijama humanog karcinoma mogu se primijetiti kod nekoliko malignih stanja kao npr. kod karcinoma želuca i jednjaka (Li i sur., 2010, Sun i sur., 2008). Znanstvenici smatraju da droga može poslužiti kao kandidat za razvoj novog angiogenog agensa. Istraživanja su također pokazala da droga pokazuje visoku selektivnost u inhibiranju rasta stanica karcinoma mokraćnog mjehura i smanjuje ekspresiju faktora koji stimuliraju angiogenezu, uključujući VEGF (Lin i sur., 2014).

Studije su pokazale da peonol smanjuje otpornost humanih stanica karcinoma dojke na paklitaksel, regulirajući ekspresiju transgelina 2 (Cai i sur., 2014) te da u ljudskim stanicama raka debelog crijeva inhibira sintezu PGE2 i ekspresiju COX-2 (Li i sur., 2014). Također, peoniflorin inhibira proliferaciju i inducira apoptozu humanih glioma stanica putem regulacije mikroRNA-16 i metaloproteinaze-9 (Li i sur., 2015). Wang i suradnici (2017) su zaključili da bi peonol i peoniflorin, s obzirom da ne pokazuju značajno citotoksično djelovanje na normalne stanične linije, mogli biti potencijalne pomoćne tvari ili tvari korištene u komplementarnoj medicini tijekom sistemske kemoterapije u liječenju karcinoma (Wang i sur., 2017).

### Učinak na kardiovaskularni sustav

Droga Moutan cortex pokazala se kao korisna u zaštiti miokarda kod ishemije i reperfuzijskog oštećenja obnavljanjem antioksidacijskog obrambenog sustava i povećanjem ekspresije antiapoptičkog gena Bcl-2 (Dan i sur., 2015). Također su istraživani mehanizmi na kojima se temelji vazodilacijski učinak peonola te je dokazano kako unutarstanični regulacijski mehanizam  $Ca^{2+}$  može biti odgovoran za učinak (Li i sur., 2010). Nadalje, peonol djeluje preventivno na razvoj ateroskleroze inhibiranjem adhezije monocita izazvane oksidacijom lipoproteina niske gustoće na vaskularni endotel inhibiranjem puta mitogen aktivirane protein kinaze (Wang i sur., 2012). Peoniflorin ublažava akutni infarkt miokarda štakora inhibiranjem upale i iNOS i supresijom vaskularnog oštećenja i ekspresije E-selektina te ICAM-1 na animalnom modelu Arthusove kožne reakcije (Chen i sur., 2013). Ukratko, dokazano je da su peonol, peoniflorin, benzoil-peoniflorin i  $\alpha$ -benzoiloksi-peoniflorin glavne sastavnice koje zajednički pridonose poboljšanju cirkulacije krvi putem svojih inhibitorских učinaka na agregaciju trombocita i koagulaciju krvi. Pored toga, galati, katehini, peoniflorigenon, galiolpeoniflorin i daukosterol također mogu doprinostiti blagotvornom djelovanju droge na kardiovaskularni sustav (Koo i sur., 2010). Potrebno je provesti daljnje, sveobuhvatnije pretkliničke i kliničke studije kako bi se bolje objasnili terapijski mehanizmi droge kod kardiovaskularnih bolesti (Wang i sur., 2017).

### Neuroprotektivno djelovanje

Niz farmakoloških istraživanja koja su se bavila neuroprotektivnim učinkom droge Moutan cortex upućuje na djelotvornost droge u ublažavanju neurodegenerativnih bolesti, kao što je Parkinsonova bolest (Kim sur., 2014). Peonol štiti neurone od oštećenja uzrokovanih vodikovim peroksidom (Su i sur., 2010). Štoviše, još jedna studija je pokazala da su inhibicija NF- $\kappa$ B translokacije u jezgri stanice i supresija mitogenom-aktivirane protein kinaze povezane s neuroprotektivnim djelovanjem peonola (Himaya i sur., 2012). Peonol značajno poboljšava kognitivnu funkciju i neuropatološku leziju induciranu D-galaktozom u miševa (Zhong i sur., 2009). Nakon toksičnosti uzrokovane 6-hidroksidopaminom u neuronima, peonol povećava vitalnost stanica inhibiranjem proizvodnje ROS-a te povećanjem aktivnosti superoksid dismutaze i ekspresije Bcl-2 gena (Tseng i sur., 2012). Tretiranje peonolom može zaštititi stanice od mnogih

promjena, uključujući morfološke, biokemijske, ali i bihevioralne promjene koje su rezultat primjene amiloid  $\beta$  1-42 peptida na modelu štakora s Alzheimerovom bolesti (Zhou i sur., 2011).

#### Hepatoprotektivno djelovanje

Dosadašnji dokazi upućuju na to da droga Moutan cortex djeluje hepatoprotektivno. Ekstrakt droge smanjuje citotoksičnost induciranu paracetamolom umanjivanjem GSH iscrpljivanja te smanjenjem aktivnosti citokroma P4502E1 i oštećenja hepatičkog DNA *in vivo* (Shon i Nam., 2004). Peonol ublažava hepatotoksičnost induciranu epirubicinom kod miševa koji imaju 4T1 tumor, inhibirajući signalni put PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B (Wu i sur., 2016). Prethodno tretiranje peoniflorinom štiti miševu od hepatitisa induciranog konkavalinom A putem inhibicije nekoliko upalnih medijatora i smanjenjem aktivnosti NF- $\kappa$ B signalnog puta (Chen i sur., 2015). Osim toga, peoniflorin djeluje i protiv fibroze jetre inhibiranjem HIF-1 $\alpha$  signalnog puta putem mTOR-ovisnog puta (Zhao i sur., 2014).

### **4.3.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9**

04/2018:2474

## **KORA DRVENASTOG BOŽURA**

### **Moutan cortex**

#### DEFINICIJA

Osušena, cjelovita ili usitnjena, ostrugana ili neostrugana kora korijena vrste *Paeonia x suffruticosa* Andrews, sakupljena u jesen.

#### *Sadržaj:*

- peonol ( $C_9H_{10}O_3$ ;  $M_r$  166,2): najmanje 2,2 posto (suha droga);
- peoniflorin ( $C_{23}H_{28}O_{11}$ ;  $M_r$  480,5): najmanje 1,1 posto (suha droga).

#### IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

#### ISPITIVANJA

**Strane primjese (2.8.2):** najviše 1,0 posto.

**Gubitak sušenjem (2.2.32):** najviše 11,0 posto, određeno na 1,000 g praška biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo (2.4.16):** najviše 5,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini (2.8.1):** najviše 1,0 posto.

#### ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

*Ispitivana otopina.* U 0,200 g praška biljne droge (355) (2.9.12) doda se 3,0 mL *metanola R1* i sonicira 30 minuta. Otopina se razrijedi do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom *natrijevog dihidrogenfosfata R* i filtrira kroz membranski filter (nominalne veličine pora 0,45 µm).

*Poredbena otopina (a).* Otopi se 5,0 mg *peoniflorina CRS* u *metanolu R1* i razrijedi do 5,0 mL istim otapalom.

*Poredbena otopina (b):* Otopi se 7,0 mg *peonola CRS* u *metanolu R1* i razrijedi do 10,0 mL istim otapalom. Razrijedi se 3,0 mL otopine do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom *natrijevog dihidrogenfosfata R*.

*Poredbena otopina (c).* Otopi se 2,5 mg *4'-hidroksiacetofenona R* u 2,5 mL poredbene otopine (a), doda se 12,5 mL *metanola R1* i razrijedi do 50,0 mL s 6,8 g/L otopinom *natrijevog dihidrogenfosfata R*.

*Poredbena otopina (d).* Razrijedi se 2,5 mL poredbene otopine (a) do 7,5 mL s *metanolom R1*. Otopina se razrijedi do 25,0 mL s 6,8 g/L otopinom *natrijevog dihidrogenfosfata R*.

*Kolona:*

- *veličina:*  $l=0,15$  m,  $\varnothing=4,6$  mm;

- *nepokretna faza:* modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm).

*Pokretna faza:*

- *pokretna faza A:* 6,8 g/L otopina *natrijevog dihidrogenfosfata R*;

- *pokretna faza B:* *metanol R*;

<i>Vrijeme (min)</i>	<i>Pokretna faza A (posto V/V)</i>	<i>Pokretna faza B (posto V/V)</i>
0-15	70	30
15-18	70→40	30→60
18-25	40	60

*Brzina protoka:* 1,0 mL/min.

*Detekcija:* spektrofotometar na 230 nm.

*Injektiranje:* 10 µL ispitivane otopine i poredbene otopine (b), (c) i (d).

*Vrijeme zadržavanja:* *peoniflorin* = oko 9,5 min; *4'-hidroksiacetofenon* = oko 10,5 min; *peonol* = oko 23 min.

*Prikladnost sustava:* poredbena otopina (c):

- *razlučivanje:* najmanje 1,5 između pikova *peoniflorina* i *4'-hidroksiacetofenona*.

Izračuna se postotak peoniflorina prema izrazu:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p_1}{A_2 \times m_1 \times 5}$$

$A_1$  = površina pika peoniflorina u kromatogramu ispitivane otopine;

$A_2$  = površina pika peoniflorina u kromatogramu poredbene otopine (d);

$m_1$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

$m_2$  = masa *peoniflorina CRS* korištenog za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

$p$  = postotni udio peoniflorina u *peoniflorinu CRS* (EDQM, 2018).

#### 4.4. *Paeoniae radix alba* (白芍, Bai Shao)

*Paeoniae radix alba* (eng. Peony root, white) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Paeonia lactiflora* (Slika 10).



Slika 10. *Paeoniae radix alba*  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

##### 4.4.1. Opis biljke

*Paeonia lactiflora* Pall. (Paeoniaceae) je višegodišnja biljka koja naraste od 50-80 cm (Slika 11). Korijen je razgranat, debeo i sužava se prema krajevima. Stabljika je gola. Listovi su dvostruko sastavljeni, liske su jajasto-suličastog oblika, a vrh plojke je šiljast. Cvjetovi su veliki, pojedinačni, bijele, roze, crvene ili ljubičaste boje. Plod je mješur koji sadrži nekoliko velikih sjemenki. Biljka prirodno raste na područjima Kine, Indije i Japana (WHO, 1989; [www.efloras.org](http://www.efloras.org)).



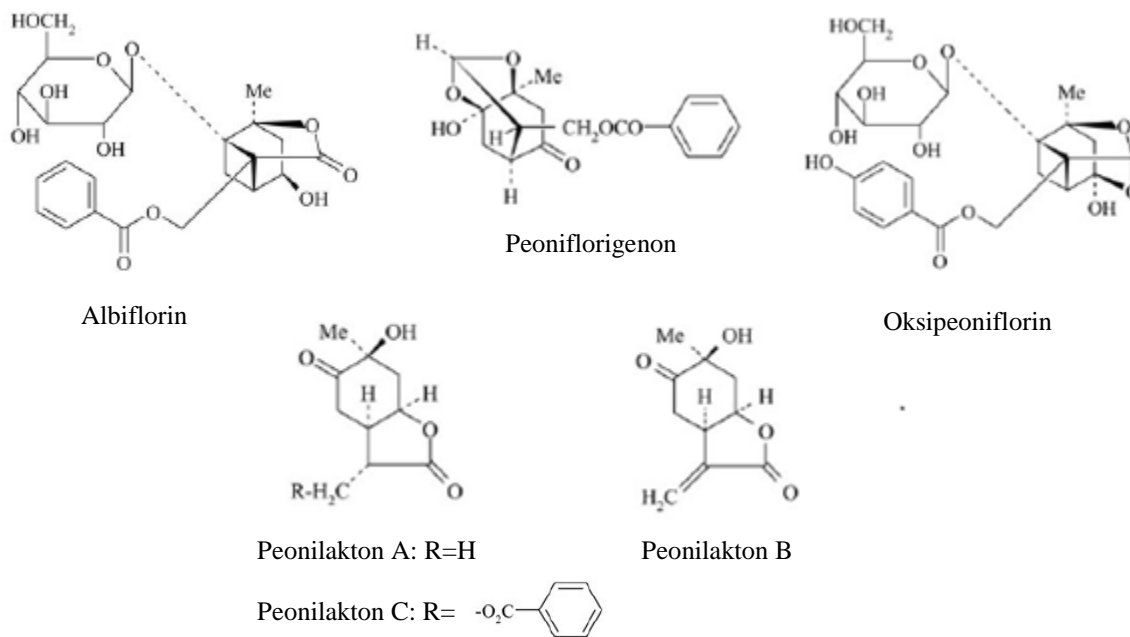
Slika 11. *Paeonia lactiflora* Pall.  
(preuzeto s <http://efloras.org>)



#### 4.4.2. Fitokemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice biljne droge *Paeoniae radix alba* su (Zhibi i sur., 2013, Wagner i sur., 2011):

- **monoterpenski glikozidi:** peoniflorin, albiflorin, oksipeoniflorin, benzoilpeoniflorin, benzoiloksipeoniflorin, laktiflorin
- **monoterpeni:** peoniflorigenon, peonilaktoni A,B i C
- organske kiseline (p-hidroksibenzojeva kiselina, galna kiselina)
- ostale sastavnice: trjeslovine (1,2,3,6-tetra-galoil-glukoza, 1,2,3,4,6,-penta-galoil-glukoza), triterpeni, kiseli polisaharidi



Slika 12. Bioaktivne sastavnice droge *Paeoniae radix alba*

### 4.4.3. Upotreba u TCM-u

Biljna droga *Paeoniae radix alba* se u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi kod problema vezanih za probavni sustav, primjerice bolova u trbuhu, grčeva i dijareje, također u kombinaciji s drogama *Bupleuri radix*, *Glycyrrhizae radix* i *Saposhnikoviae radix*. Upotrebljava se za glavobolje i vrtoglavice, a može i u kombinaciji s drogom *Uncariae ramulus cum uncis*. Droga se često koristi kod ženskih hormonskih poremećaja kao npr. kod menstrualnih tegobi i jakog krverjenja u menstruaciji, a može smiriti i simptome predmenstrualnog sindroma. Snižava tlak pa djeluje povoljno i kod hipertenzije i glaukoma (Zhang, 2012, Hempen i Fischer, 2009).

### 4.4.4. Farmakološki učinci

*Paeoniae radix alba* je biljna droga s dugom tradicionalnom uporabom u kineskoj medicini te je vrlo popularna i u ostalim dijelovima svijeta. Dokazi pronađeni pretraživanjem znanstvenih baza podataka dobiveni su *in vitro* i *in vivo* istraživanjima na životinjama te su neophodna daljnja klinička ispitivanja kako bi se potvrdila djelotvornost droge kod ljudi.

#### Protuupalni učinak

U *in vitro* studiji istraživana je protuupalni učinak devet monoterpenoida, izoliranih iz droge *Paeoniae radix alba*. Ekspresija i proizvodnja proupalnih citokina u stanicama RAW 264.7, stimuliranim pomoću lipopolisaharida, mjereni su ELISA testom, a oslobađanje dušikovog oksida mjereno je Griess testom. Rezultati su pokazali da je većina monoterpenoida potisnula LPS-induciranu produkciju NO, interleukina-6 i TNF- $\alpha$ . Protuupalne aktivnosti ovih monoterpenoida bile su usko povezane s njihovim strukturnim karakteristikama. Peoniflorini i peonidanini pokazali su snažnije protuupalne aktivnosti od derivata albiflorina. Nadalje, djelotvorni mehanizmi ispitani su pomoću RT-PCR i Western-blot tehnikom. Rezultati su pokazali da monoterpenoidi mogu smanjiti razinu ekspresije mRNA i proteina iNOS u LPS-stimuliranim RAW 264.7 stanicama. Signalni putevi MAPK, PI3K/AKT i NF- $\kappa$ B uključeni su u suzbijanje ekspresije i produkcije proinflamatornih citokina u stanicama (Bi i sur., 2017).

### Protutumorsko djelovanje

U studiji na animalnom modelu istraživana je inhibicijski učinak droge na proliferaciju stanica ljudskog raka mokraćnog mjehura, ovisno o koncentraciji droge i izloženom vremenu. Droga i cisplatin sinergistički su inhibirali rast tumora kod miševa koji nose tumor RT4, a pronađeno je da droga inducira apoptozu stanica i povećava aktivnost kaspaza-3, -8 i -9. Otkriveno je da su u organizmima liječenim drogom bile smanjene razine p-STAT3, signalnog transduktora i aktivatora transkripcije. Količina B-stanica limfoma-2 bila je također smanjena. Dokazano je da droga sprječava translokaciju STAT3 u jezgru RT4 stanica, te na taj način inhibira rast raka mokraćnog mjehura (Yang i sur., 2018).

Rezultati pretkliničkih studija pokazuju da peoniflorin, izoliran iz droge *Paeoniae radix alba*, učinkovito inhibira rast glioblastoma i suprimira razine TLR4 proteina, kao i njegove efekte. Također je otkriveno da peoniflorin smanjuje razinu TLR4 proteina kroz proteasomsku degradaciju posredovanu ubikvitinom u stanicama glioblastoma. Peoniflorin je potaknuo Triad3A da se konjugira s TLR4, što je rezultiralo degradacijom. Dodatno, Triad3A-shRNA ukinuo je degradaciju TLR4 posredovanu ubikvitinom. Dokazano je da se peoniflorin može i izravno vezati s TLR4 proteinom, što je dokazano MST testom (Wang i sur., 2018).

### Antidepresivni učinak

Na animalnim modelima korištenjem testa prisilnog plivanja i testa vješanja repova istražen je antidepresivni učinak droge *Paeoniae radix alba* u kombinaciji s drogom *Bupleuri radix* (Wang i sur., 2016). Utvrđeno je da ova kombinacija droga smanjuje vrijeme nepokretnosti životinja djelujući tako da regulira transmisiju adrenalina i serotonina u području hipokampusu i korteksa miševa.

Učinak albiflorina izoliranog iz droge *Paeoniae radix alba* na depresiju istražen je *in vivo*. Utvrđeno je da se nakon 7-dnevne primjene albiflorina u dozama od 3,5, 7,0 i 14,0 mg/kg, značajno smanjuje vrijeme nepokretnosti miševa u testovima prisilnog plivanja i vješanja repova, bez učinka na njihov lokomotorni sustav. Osim toga, Western-blot analiza pokazala je da albiflorin može povećati ekspresiju neutrotrfnog faktora iz mozga (engl. BDNF) u hipokampusu. Također je istraživana učinak albiflorina na štakorima nakon što su izloženi kroničnom nepredvidljivom stresu u razdoblju od 35 dana. Utvrđeno je da duža primjena albiflorina u

dozama od 7 i 14 mg (jednom dnevno tijekom 35 dana) u štakora obnovlja želju za saharozom. Također, kronična primjena albiflorina je povećala razine neurotransmitora noradrenalina i serotonina te njegovog metabolita 5-hidroksiindol octene kiseline, u hipokampusu (Wang i sur., 2016).

### Antihipertenzivni učinak

Su-Hong i suradnici (2015) su na animalnom modelu proučavali protektivni učinak droge *Paeoniae radix alba* kod hipertenzije. Štakorima sa spontanom i induciranom hipertenzijom je primjenjivan ekstrakt droge u dozi od 25 i 75 mg/kg, dok je kontrolnoj grupi primjenjivan kaptopril u dozi od 15 mg/kg. Rezultati su pokazali da ekstrakt može značajno smanjiti sistolički tlak terapijom u trajanju od 9 i 4 tjedana kod štakora sa spontanom i induciranom hipertenzijom. Kod štakora s induciranom hipertenzijom, čiji je lipidni profil bio pogoršan, kao i razine jetrenih enzima, ekstrakt je djelovao pozitivno na te parametre, čime se može zaključiti da droga može ublažiti oštećenje jetre. Kod štakora sa spontanom hipertenzijom pokazalo se da bi antihipertenzivni učinak droge mogao biti povezan s njezinim učinkom na regulaciju razine serumskog NO i endotelina.

U drugoj studiji na modelu štakora sa spontanom hipertenzijom primjenjivan je ekstrakt droge (30 mg/kg) u kombinaciji s metoprololom (6 mg/kg), dok su kontrolnim grupama davani zasebno ekstrakt (30 i 90 mg/kg), metoprolol (6 i 20 mg/kg) i destilirana voda. Nakon 6-ero tjedne primjene, ustanovljeno je da kombinacija ekstrakta droge i metoprolola može značajno smanjiti povišeni krvni tlak, poboljšati mikrocirkulaciju, vaskularnu funkciju te patološke promjene i pojačati ekspresiju eNOS. Također je dokazano da metoprolol povećava koncentraciju peoniflorina u krvi (Li i sur., 2018).

### Nefroprotektivno djelovanje

Protektivni učinak peoniflorina, izoliranog iz droge *Paeoniae radix alba*, istražen je *in vitro* te *in vivo* na animalnom modelu sa adriamicinom-induciranim nefrotičkim sindromom. Peoniflorin je kod štakora smanjio razine ureje u krvi, serumski kreatinin te ukupni kolesterol i trigliceride, ali je povećao razine proteina i albumina. Također su smanjene lezije na bubrezima, a povećan je broj podocita u bubrežnom tkivu. Nadalje, dokazano je da peoniflorin aktivira PPAR $\gamma$  i deaktivira ANGPTL4 u bubregu. *In vitro* je utvrđeno da peoniflorin smanjuje razine kaspaze-3 i Bax, a

povećava Bcl-2, što ukazuje da se smanjila brzina apoptoze podocita. Dosadašnji rezultati upućuju na dobar terapijski učinak peoniflorina koji se temelji na aktiviranju PPAR $\gamma$ , a zatim inhibiranju ANGPTL4 (Lu i sur., 2017).

### Neuroprotektivno djelovanje

*In vitro* istraživanja su pokazala da peoniflorin izoliran iz droge *Paeoniae radix alba* djeluje neuroprotektivno protiv MPP $^{+}$ -inducirano oštećenja i apoptoze u PC12 stanicama djelujući putem Bcl-2/Bax/kaspaza-3 puta. Istraživanje je provedeno i *in vivo*, na 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinom (MPTP) tretiranog mišjeg modela Parkinsonove bolesti. Rezultati su pokazali da liječenje peoniflorinom, ovisno o dozi, poboljšava bihevioralni deficit i smanjuje gubitak dopaminergičkih stanica uzrokovanog MPTP-om. Nadalje, ustanovljeno je da peoniflorin štiti dopaminergičke neurone sprječavanjem gubitaka razina proteina dopaminergičkog transportera i tirozin-hidroksilaze u strijatalnom putu i supstanciji nigri, mijenjanjem katabolizma dopamina i inhibicijom ponovne pohrane dopamina. Učinak se također povezuje s povećanjem omjera Bcl-2/BAD i s inhibicijom aktivacije kaspaze-9 i -3. Rezultati upućuju da peoniflorin povećava preživljavanje dopaminergičkih neurona *in vivo* pomoću MAO-B inhibicije, kao i pomoću signalnog puta PI3K/Akt (Zheng i sur., 2017).

U studiji provedenoj na animalnom modelu Alzheimerove bolesti dokazano je da peoniflorin može ublažiti oštećenja PC12 stanica inducirana pomoću amiloid  $\beta$  25-35 sprječavanjem mitohondrijske disfunkcije, uključujući smanjeni mitohondrijski membranski potencijal, zatim smanjenjem povećanog oslobađanja citrokroma c te aktivnosti kaspaze-3 i -9. Može se zaključiti da peoniflorin djeluje zaštitno učinak na PC12 stanice protiv A $\beta$ 25-35-potaknute neurotoksičnosti (Li i sur., 2014).

### BIJELI BOŽUROV KORIJEN

#### *Paeoniae radix alba*

##### DEFINICIJA

Cjelovit ili usitnjen, oguljeni korijen vrste *Paeonia lactiflora* Pall. s uklonjenim podankom i korjenčićima, obrađen kipućom vodom i osušen.

*Sadržaj*: peoniflorin (C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>11</sub>; M<sub>r</sub> 480.5): najmanje 1,6 posto (suha droga).

##### IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

##### ISPITIVANJA

**Gubitak sušenjem** (2.2.32): najviše 12,0 posto, određeno na 1,000 g praška biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo** (2.4.16): najviše 4,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini** (2.8.1): najviše 0,5 posto.

##### ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

*Ispitivana otopina*. U 30,0 mg praška biljne droge (355) (2.9.12) doda se 3,0 mL metanola R i sonicira 30 minuta. Otopina se razrijedi do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom natrijevog dihidrogenfosfata R i filtrira kroz membranski filter (nominalne veličine pora 0,45 µm).

*Poredbena otopina (a)*. Otopi se 5,0 mg peoniflorina CRS u metanolu R i razrijedi do 25,0 mL istim otapalom.

*Poredbena otopina (b)*. Otopi se 1,0 mg 4'-hidroksiacetofenona R u 6,0 mL poredbene otopine (a). Razrijedi se 3,0 mL otopine do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom natrijevog dihidrogenfosfata R.

*Poredbena otopina (c)*. Razrijedi se 2,5 mL poredbene otopine (a) do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom natrijevog dihidrogenfosfata R.

*Kolona*:

- veličina: l=0,15 m, Ø=4,6 mm;

- nepokretna faza: modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm).

*Pokretna faza*: metanol R, 6,8 g/L otopina natrijevog dihidrogenfosfata R (30:70 V/V).

*Brzina protoka*: 1,0 mL/min.

*Detekcija:* spektrofotometar na 230 nm.

*Injektiranje:* 10 µL ispitivane otopine i poredbene otopine (b) i (c).

*Vrijeme trajanja analize:* 18 min.

*Vrijeme zadržavanja:* peoniflorin = oko 8 min; 4'-hidroksiacetofenon = oko 9 min.

*Prikladnost sustava:* poredbena otopina (b):

- *razlučivanje:* najmanje 1,5 između pikova peoniflorina i 4'-hidroksiacetofenona.

Izračuna se postotak peoniflorina prema izrazu:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 10}$$

$A_1$  = površina pika peoniflorina u kromatogramu ispitivane otopine;

$A_2$  = površina pika peoniflorina u kromatogramu poredbene otopine (c);

$m_1$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

$m_2$  = masa *peoniflorina CRS* korištenog za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

$p$  = postotni udio peoniflorina u *peoniflorinu CRS* (EDQM, 2018).

## 4.5. *Paoniae radix rubra* (赤芍, Chi Shao)

*Paoniae radix rubra* (eng. Paeony root, red) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Paeonia lactiflora* (Slika 13).



Slika 13. *Paoniae radix rubra*  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

### 4.5.1. Opis biljke

Biljna vrsta *Paeonia lactiflora* Pall. (Paeoniaceae) je obrađena u poglavlju 4.4.1., s obzirom da su *Paoniae radix alba* i *Paoniae radix rubra* dvije različite droge tradicionalne kineske medicine koje se dobivaju od iste biljne vrste.

### 4.5.2. Fitokemijski sastav

Biljna droga *Paoniae radix rubra* je bogata sadržajem monoterpenskih glikozida i ostalih monoterpena. Kvalitativni sastav glavnih bioaktivnih sastavnica je veoma sličan/identičan sastavu droge *Paoniae radix alba*, no kvantitavni omjeri tih sastavnica su kod dviju droga različiti (Slika 12). Usporedne fitokemijske studije većeg broja komercijalno dostupnih droga pokazale su da bijeli božurov korijen sadrži visok udio p-hidroksibenzojeve kiseline i albiflorina, dok se crveni



božurov korijen odlikuje visokim udjelom peoniflorina i benzojeve kiseline (Chunnian i sur., 2012).

### **4.5.3. Upotreba u TCM-u**

Biljna droga *Paeoniae radix rubra* u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi se kod glavobolja i vrtoglavice. Pomaže kod problema s gastro-intestinalnim sustavom kao npr. kod bolova u truhu, grčeva i proljeva. Droga služi za jačanje krvi pa se primjenjuje kod poremećaja u menstruaciji, kao npr. kod amenoreje, dismenoreje i metroragije, a također i kod angine pectoris. Može se koristiti u kombinaciji s drogama *Chuanxiong rhizoma*, *Persicae semen* i *Paeoniae radix alba* (Bensky i sur., 2004, Zhufan, 2000).

### **4.5.4. Farmakološki učinci**

#### Protutumorski učinak

U *in vitro* i *in vivo* studiji istraživana je učinkovitost ekstrakta droge *Paeoniae radix rubra* na rak mokraćnog mjehura. Dokazano je da ekstrakt smanjuje vijabilnost stanica raka (1-3 mg/mL), a ujedno pokazuje izrazito nisku toksičnost na normalne stanice. Ekstrakt je smanjio populaciju određenih faza staničnog ciklusa, najviše stanice G1 faze. Na mišjem modelu raka mokraćnog mjehura ekstrakt je smanjio veličinu tumora, bez učinka na biokemijske parametre u krvi. Navedeni rezultati upućuju na zaključak da droga ima antiproliferativna svojstva i protutumorsko djelovanje na stanice raka mokraćnog mjehura (Lin i sur., 2016).

U drugom istraživanju na mišjem modelu tumora S-180 dokazano je da glikozidi izolirani iz droge imaju ulogu u njezinom antitumorskom djelovanju. S obzirom da *in vitro* studije nisu ukazale na izravno citotoksično djelovanje glikozida na stanice tumora, pretpostavlja se da se antitumorski učinak temelji na regulaciji imunskog sustava. Dokazano je da glikozidi iz droge mogu poništiti imunosnu supresiju T-stanica koja je nastala tumorskim antigenima te na taj način posjedovati imunoregulatornu ulogu u liječenju tumora (Xu i sur., 2013).

### Antitrombotski učinak

In vitro studija u kojoj je ispitan antitrombotski učinak ekstrakta droge *Paeoniae radix rubra* ukazala je na antikoagulativno djelovanje. Potom je iz ekstrakta izolirano šest spojeva od kojih su četiri njih pokazivala antikoagulativnu aktivnost – peoniflorin, albiflorin, pentagaloilglukoza te protokatehinska kiselina. Na eksperimentalnim životinjama dokazano je da te sastavnice droge poboljšavaju krvni protok, antikoagulativnu aktivnost, reguliraju vazodilataciju vaskularnog endotela te pokazuju antitrombotska svojstva i in vivo (Xie i sur., 2017).

### Imunomodulatorno djelovanje

U in vitro istraživanju ispitivana su imunoregulatorna svojstva ekstrakta droge na humane makrofage tijekom mikobakterijske infekcije. Rezultati su pokazali da droga inhibira produkciju IL-10 te pojačava ekspresiju IL-8, dok nema učinka na ekspresiju IL-6 i TNF- $\alpha$ . Ekstrakt nije utjecao na fosforilaciju staničnih protein kinaza, uključujući MAPK, Akt i GSK3 $\beta$ , ali je potisnuo degradaciju I $\kappa$ B $\alpha$  u citoplazmi te inhibirao translokaciju transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B1 p50 u jezgru. Inhibitorni učinak droge na ekspresiju IL-10 može biti posljedica smanjene translokacije NF- $\kappa$ B1 p50 čime su potvrđena imunomodulatorna svojstva droge *Paeoniae radix rubra* (Wang i sur., 2011).

### Kardioprotektivno djelovanje

U *in vivo* istraživanju na animalnom modelu štakora ispitan je protektivni učinak terpenkih glikozida, izoliranih iz droge *Paeoniae radix rubra*, na ishemiju miokarda. Glikozidi u dozi od 300 mg/kg/dan značajno su smanjili serumske razine kreatin kinaze i laktat dehidrogenaze kod štakora te također ublažili oštećenje miokarda. Značajno je bila povišena ekspresija p-AKT i p-mTOR, dok su razine kaspaze-3 i Bax/Bcl-2 bile smanjene. Na temelju dobivenih obećavajućih rezultata, Ke i suradnici (2017) sugeriraju da bi terpenki glikozidi iz droge mogli biti potencijalni lijek za liječenje ishemije miokarda.

Na animalnom modelu istraživana je i protektivna svojstva ekstrakta droge na akutni infarkt miokarda. U usporedbi s kontrolom zabilježeno je povećanje količine glutaminske-oksaloacetatne transaminaze, kreatin kinaze, laktat dehidrogenaze,  $\alpha$ -hidroksibutirat dehidrogenaze te razine IL-10, TNF- $\alpha$  i lipidne peroksidacije u štakora. Aktivnost superoksid dismutaze, trombinsko vrijeme

te aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme značajno su se smanjili. U kardiomiocitima bile su povećane razine kaspaze-3 te ekspresija Bax i Bcl-2, dok je omjer Bcl-2/Bax bio smanjen. Ovi rezultati upućuju na zaštitno djelovanje ekstrakta droge kod akutnog infarkta miokarda, a mogući mehanizam uključuje regulaciju srčanih markera, citokina, oksidativnog stresa i apoptoze (Mo i sur., 2011).

### Hepatoprotektivno djelovanje

Li i suradnici (2011) se na animalnom modelu ispitivali učinkovitost vodenog ekstrakta droge *Paeoniae radix rubra* na hepatotoksičnost izazvanu ugljikovim tetrakloridom. Životinjama je davan vodeni ekstrakt droge u dozi od 100, 200 i 300 mg/kg, a kontrolnoj grupi je istodobno davan bifendat u dozi od 100 mg/kg, tijekom 28 dana. Dokazano je da ispitivani ekstrakt ima istu učinkovitost kao i bifendat. Hepatoprotektivna svojstva droge povezuju se s njezinom antioksidativnom sposobnošću hvatanja slobodnih radikala.

### Antidijabetički učinak

Učinak etanolnog ekstrakta droge i njezina moguća inzulotropna svojstva kod dijabetesa tipa 2 ispitana su u *in vivo* studiji na animalnom modelu (Chang i sur., 2016). Kod štakora koji su primali etanolni ekstrakt u dozi od 200 mg/kg tijekom 30 dana zabilježeno je postepeno smanjenje razine glukoze u krvi. Također je dokazano da etanolni ekstrakt ima višestruka hipoglikemijska svojstva, uključujući i sposobnost pojačanja sekrecije inzulina. Pentagaloilglukoza i frakcija bogata polifenolima isticale su se po inzulotropnim svojstvima (Chang i sur., 2016).

### Protektivno djelovanje na pluća

Na animalnom modelu istražen je protektivni učinak droge na akutno oštećenje pluća štakora inducirano ishemijskom/reperfuzijom. Ispitivana je ekspresija hem oksigenaze-1 u plućnom tkivu štakora, kao i količina malonaldehida te superoksid dismutaze. Utvrđeno je da droga povećava ekspresiju hem oksidaze kod štakora, u odnosu na kontrolnu netretiranu skupinu. Također su povećane koncentracije superoksid dismutaze, a smanjene koncentracije malonaldehida što govori u prilog *in vivo* antioksidativnom djelovanju droge. Studija sugerira da predtretman drogom *Paeoniae radix rubra* može ublažiti akutno plućno oštećenje (Chen i sur., 2008).

### CRVENI BOŽUROV KORIJEN

#### *Paeoniae radix rubra*

#### DEFINICIJA

Osušeni, cijeloviti ili usitnjeni korijen vrste *Paeonia lactiflora* Pall. ili *Paeonia veitchii* Lynch ili njih obje, s uklonjenim podankom i korjenčićima.

*Sadržaj*: najmanje 1,8 posto peoniflorina ( $C_{23}H_{28}O_{11}$ ;  $M_r$  480.5) (suha droga).

#### IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

#### ISPITIVANJA

**Gubitak sušenjem** (2.2.32): najviše 12,0 posto, određeno na 1,000 g praška biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo** (2.4.16): najviše 8,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini** (2.8.1): najviše 1,0 posto.

#### ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

*Ispitivana otopina*. U 30,0 mg praška biljne droge (355) (2.9.12) doda se 3,0 mL metanola R i sonicira 30 minuta. Otopina se razrijedi do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom natrijevog dihidrogenfosfata R i filtrira kroz membranski filter (nominalne veličine pora 0,45 µm).

*Poredbena otopina (a)*. Otopi se 5,0 mg peoniflorina CRS u metanolu R i razrijedi do 25,0 mL istim otapalom.

*Poredbena otopina (b)*. Otopi se 1,0 mg 4'-hidroksiacetofenona R u 6,0 mL poredbene otopine (a). Razrijedi se 3,0 mL otopine do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom natrijevog dihidrogenfosfata R.

*Poredbena otopina (c)*. Razrijedi se 2,5 mL poredbene otopine (a) do 10,0 mL s 6,8 g/L otopinom natrijevog dihidrogenfosfata R.

*Kolona*:

- veličina:  $l=0,15$  m,  $\varnothing=4,6$  mm;

- nepokretna faza: modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm).

*Pokretna faza*: metanol R, 6,8 g/L otopina natrijevog dihidrogenfosfata R (30:70 V/V).

*Brzina protoka*: 1,0 mL/min.

*Detekcija:* spektrofotometar na 230 nm.

*Injektiranje:* 10 µL ispitivane otopine i poredbene otopine (b) i (c).

*Vrijeme trajanja analize:* 18 min.

*Vrijeme zadržavanja:* peoniflorin = oko 8 min; 4'-hidroksiacetofenon = oko 9 min.

*Prikladnost sustava:* poredbena otopina (b):

- *razlučivanje:* najmanje 1,5 između pikova peoniflorina i 4'-hidroksiacetofenona.

Izračuna se postotak peoniflorina prema izrazu:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 10}$$

$A_1$  = površina pika peoniflorina u kromatogramu ispitivane otopine;

$A_2$  = površina pika peoniflorina u kromatogramu poredbene otopine (c);

$m_1$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

$m_2$  = masa *peoniflorina CRS* korištenog za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

$p$  = postotni udio peoniflorina u *peoniflorinu CRS* (EDQM, 2018).

## 4.6. *Platycodonis radix* (桔梗, Jie Geng)

*Platycodonis radix* (eng. Platycodon root) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Platycodon grandiflorum* (Slika 14).



Slika 14. *Platycodonis radix*  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

### 4.6.1. Opis biljke

*Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.DC. (Campanulaceae) je višegodišnja uspravna biljka, visoka 30-100 cm (Slika 15). Stabljika je zeleno-plave boje, gola i sadrži obilni mliječni sok. Listovi su gotovo sjedeći, naizmjenično ili nasuprotno raspoređeni, jajastog ili jajasto-suličastog oblika sa zašiljenim vrhom plojke. Cvjetovi su pojedinačni, plave ili ljubičaste boje i zvonastog oblika. Plod je jajasti tobolac, raspuknut pri vrhu. Sjemenke su eliptičnog



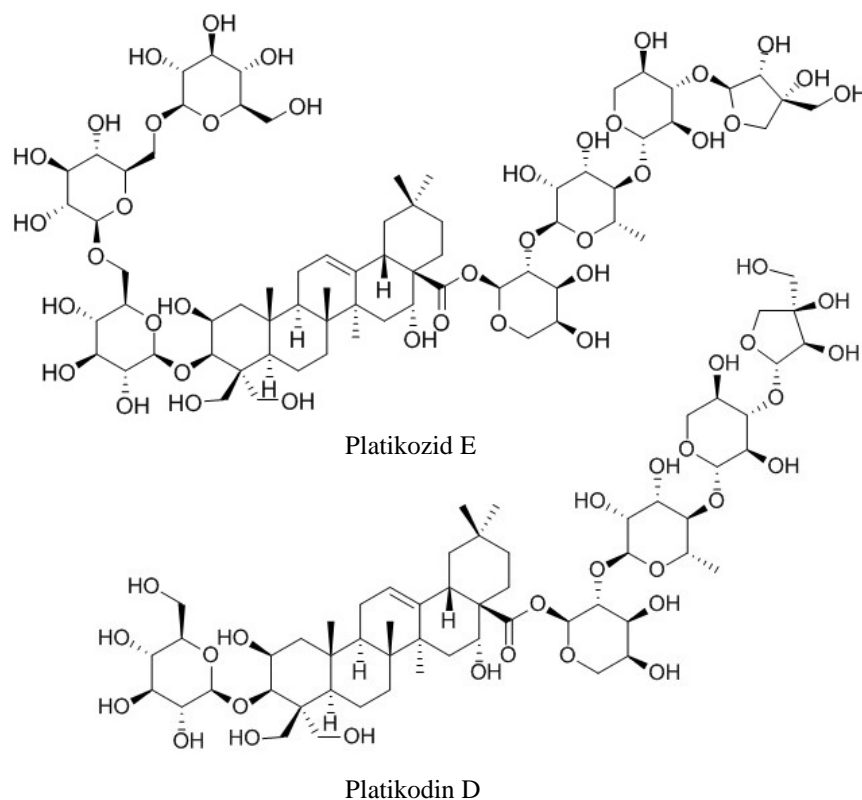
Slika 15. *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) DC.  
(preuzeto s <https://www.rhs.org.uk>)

oblika, sabijene i glatke, prvo ljubičaste, a onda smeđe boje. Korijen je cilindričnog oblika, ponekad razgranat, najčešće izvinut te slatko-gorkog okusa. Površina korijena je žuto-bijele boje i s dubokim uzdužnim brazdama. Biljka prirodno raste u istočnoj Aziji (WHO, 1989; www.efloras.org).

#### 4.6.2. Fitokemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice biljne droge *Platycodonis radix* su (Lee i sur., 2015, He i sur., 2013, Zhang, 2012):

- **tripterpenski saponini:** platikodini A, C i D, poligalacin D, platikozidi D, E i G
- ostale sastavnice: organske kiseline (poligalna kiselina, platikogenska kiselina), masne kiseline (linolenska kiselina, linolna kiselina, oleinska kiselina), eterično ulje (aldehidi heksanal, heptanal, nonanal, seskviterpen cedrol)



Slika 16. Bioaktivne sastavnice droge *Platycodonis radix*

### 4.6.3. Upotreba u TCM-u

Platycodonis radix se u tradicionalnoj kineskoj medicini najviše koristi u liječenju prehlada gdje je prisutno upaljeno, bolno grlo i kašalj. Pomože na način da razrjeđuje sluz i potiče iskašljavanje, a također djeluje blagotvorno na nadraženo i promuklo grlo. Kod prethodnih simptoma može se kombinirati s drogom Glycyrrhizae radix i Scutellariae radix, a ukoliko je također prisutna povišena temperatura, nazalna kongestija i glavobolja kombinira se s drogama Perrilae folium i Armeniacae semen (Hempfen i Fischer, 2009, Bensky i sur., 2004).

### 4.6.4. Farmakološki učinci

Uvidom u literaturu nađen je veći broj pretkliničkih studija koje potvrđuju djelovanje droge Platycodonis radix. Uzevši u obzir širok spektar njezinog djelovanja, može se zaključiti kako je droga dobar kandidat za daljnja klinička istraživanja kojih još uvijek nedostaje.

#### Protuupalni učinci

U studiji na animalnom modelu istraženo je protuupalno djelovanje platikodina D na masnu jetru uzrokovanu alkoholom. Liječenje platikodinom D značajno je smanjilo razine serumskih enzima ALT, AST i TBIL. Uočeno je smanjenje razine endotoksina u serumu, kao i endotoksinom posredovanih upalnih čimbenika kao što su TNF- $\alpha$  i IL-6. Također je bila smanjena ekspresija mRNA, TLR4 i TRAF-6 što upućuje na potiskivanje aktivnosti NF- $\kappa$ B. Može se zaključiti da platikodin D djeluje protuupalno na masnu jetru uzrokovanu alkoholom (Wu i sur., 2016).

U daljnjoj studiji su istraživane protuupalne aktivnosti prosapogenina D i prosapogenin D metilnog estera platikodina D. Rezultati su pokazali da metilni ester ovisno o koncentraciji inhibira lipopolisaharidom induciranu proizvodnju NO i prostaglandina E2 u makrofagima, međutim sami prosapogenin D nije pokazao isti učinak. Nadalje, metilni ester je inhibirao ekspresiju iNOS i COX-2 bez značajnih citotoksičnih učinaka. U transfektatnim RAW 264.7 stanicama primijećeno je da metilni ester smanjuje aktivnost NF- $\kappa$ B faktora. Metilni ester također inhibira degradaciju inhibitorskog proteina nazvanog inhibitor- $\kappa$ B. Stoga je predloženo da metilni ester inhibira ekspresiju LPS-induciranih iNOS i COX-2 gena suprimiranjem NF- $\kappa$ B aktivacije



na razini transkripcije. Može se zaključiti da prosapogenin D metilni ester platikodina D ima protuupalni učinak posredovan regulacijom NF- $\kappa$ B signalnog puta (Chung i sur., 2008).

### Antialergijski učinak

U studiji na animalnom modelu dokazano je da primjena droge inhibira sistemsku anafilaktičku reakciju induciranu dinitrofenil-IgE protutijelom kod miševa. Droga je smanjila razinu  $\beta$ -heksozaminidaze i otpuštanje histamina iz RBL-2H3 stanica osjetljivih na DNP-IgE. Osim toga, droga je inhibirala povećanje produkcije IL-4 i TNF- $\alpha$  te njihovu ekspresiju u RBL-2H3 stanicama. Također je istražen inhibitorski mehanizam na degranulaciju mast stanica. Droga je spriječila Syk fosforilaciju induciranu DNP-IgE protutijelima, kao i fosforilaciju Akt i MAP kinaza. Može se zaključiti da droga može imati antialergijsko djelovanje inhibicijom upalnih citokina i Syk-ovisnih signalnih puteva (Han i sur., 2009).

### Hepatoprotektivno djelovanje

Istraživan je *in vivo* protektivni učinak droge *Platycodonis radix* na miševima kojima je inducirana hepatotoksičnost pomoću CCl<sub>4</sub>. Predtretman drogom prije primjene CCl<sub>4</sub> značajno je spriječio povećanje aktivnosti serumskih enzima ALP i AST, ovisno o primjenjenoj dozi. Osim toga, prethodni tretman drogom smanjio je stvaranje malondialdehida u jetri i iscrpljivanje smanjene razine glutationa. Međutim, smanjene razine glutationa i glutation S-trasferazne aktivnosti nisu bile pod direktnim utjecajem primjene droge. Isto tako, predtretman drogom rezultirao je značajnim smanjenjem razine citokroma P4502E1. Droga je također pokazala sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije u jetri miševa i sposobnost uklanjanja superoksidnih radikala. Rezultati sugeriraju da zaštitni učinak droge na jetru može uključivati mehanizme povezane sa sposobnošću droge da blokira bioaktivnost CCl<sub>4</sub> posredovanu citokromom P4502E1 i efektima uklanjanja slobodnih radikala (Lee i Jeong, 2002).

U drugoj studiji na animalnom je modelu istražen utjecaj droge na masnu jetru induciranu alkoholom i mogući mehanizam uključen u zaštitu. Primjena droge značajno je spriječila povećanje razine lipida u serumu i lipida induciranih alkoholom. Nadalje, primjena droge ja normalizirala ekspresiju L-FABP i aktivnost citokroma P450 2E1. Rezultati upućuju na to da inhibicija citokroma i regulacije L-FAPB igraju važnu ulogu u hepatoprotektivnom učinku droge (Kim i sur., 2007).

### Protutumorsko djelovanje

U studiji je istraživana apoptozna učinka saponina izoliranih iz droge *Platycodonis radix* na humane HT-29 stanice debelog crijeva. Saponini su smanjili proliferaciju HT-29 stanica, ovisno o dozi i vremenskoj izloženosti induciranjem apoptoze putem fragmentacije DNA i cijepanja poli(ADP-ribozil) polimeraze. Izazvana apoptoza povezana je s aktivacijom inicijacijskih kaspaza-8 i -9, kao i efektorske kaspaze-3. Saponini stimuliraju cijepanje Bid proteina, što ukazuje da cijepanje Bid proteina posredovano kaspazom-8 dovodi do aktivacije kaspaze-9. Dokazano je da saponini također povećavaju ekspresiju proapoptotičkog proteina Bax i smanjuju ekspresiju faktora mitohondrijske apoptoze (AIF), neovisno o kaspazi, u HT-29 stanicama. Ti rezultati ukazuju da saponini izolirani iz droge inhibiraju proliferaciju stanica HT-29 induciranjem apoptoze koja može i ne mora biti posredovana putem kaspaza (Kim i sur., 2008).

U drugoj studiji istraženo je *in vivo* i *in vitro* protutumorsko djelovanje platikodina D, izoliranog iz droge *Platycodonis radix*, na stanice raka dojke. Dokazano je da platikodin D inhibira rast stanica, posjeduje antiproliferativna svojstva smanjenjem ekspresije proteina koji su bitni za G0/G1 fazu staničnog ciklusa i kofaktora p53 te povećanjem ekspresije kofaktora p21 i p27. Rezultati upućuju da platikodin D posjeduje antikancerogena svojstva i mogao bi biti potencijalni lijek u liječenju raka dojke (Kong i sur., 2016).

### Antidijabetičko djelovanje

U *in vivo* studiji istraživana je učinka droge *Platycodonis radix* na miševima kojima je davana hrana s velikim udjelom masti. Dokazano je da droga aktivira AMPK/ACC fosforilaciju u C2C12 miotubama mišića i također potiskuje diferencijaciju adipocita u stanicama 3T3-L1. Droga je spriječila dobitak težine kod miša, kao i inzulinsku rezistenciju uzrokovanu pretilošću. Također je smanjila povišene razine cirkulirajućih medijatora, kao npr. trigliceride, leptin, rezistin, MCP-1 i T-CHO. Ovi rezultati upućuju da droga poboljšava stanje organizma te smanjuje otpornost na inzulin kod pretilih miševa (Lee i sur., 2012).

U drugoj studiji na animalnom modelu dokazano je da platikonska kiselina izolirana iz droge povećava unos glukoze u stanice i na taj način poboljšava homeostazu glukoze u miševima koji imaju šećernu bolest tipa II, moguće kao aktivator PPAR- $\gamma$  receptora (Kwon i sur., 2012).

### Antihiperlipemijski učinak

U istraživanju na eksperimentalnim životinjama dokazano je da se hranjenjem masnom hranom koja sadrži 10 ili 30 g/kg saponina izoliranih iz droge *Platycodonis radix* sprječava porast tjelesne težine, mase masnog tkiva te jetrena steatoza u miševa u usporedbi s kontrolom. Nadalje, saponini (375 mg/kg) su inhibirali povišenje krvnog triacilglicerola u štakorima oralnom primjenom lipidne emulzije u usporedbi sa štakorima kojima je bila davana čista lipidna emulzija bez saponina. Također je ispitivana učinkovitost izoliranog platikodina D na aktivnost pankreasne lipaze i na povišenje triacilglicerola u krvi štakora. Platikodin D (0,5 i 1,0 g/štakor) je inhibirao aktivnost pankreasne lipaze *in vitro* i u dozi od 244 mg/kg je inhibirao povećanje krvnog triacilglicerola. Stoga se može zaključiti da antihiperlipemijski učinak saponina iz droge može biti posljedica inhibicije intestinalne apsorpcije masti pomoću platikodina D (Han i sur., 2002).

### Neuroprotektivno djelovanje

*In vitro* je utvrđeno da vodeni ekstrakt droge štiti primarne kultivirane kortikalne stanice štakora od glutatom-izazvane toksičnosti. Među izoliranim sastavnicama droge (platikodin A, C, i D te deapioplatikodin D), platikodin A je pokazao najsnažnije djelovanje, povećavajući vijabilnost stanica za 50 % pri koncentracijama od 0,1  $\mu$ M do 10  $\mu$ M. Može se zaključiti da su za neuroprotektivni učinak droge odgovorni saponini koji se nalaze u drogi (Son i sur., 2007).

### PLATIKODONOV KORIJEK

#### *Platycodonis radix*

#### DEFINICIJA

Osušeni, cijeli ili usitnjen korijen vrste *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.DC., oguljen ili neoguljen, s uklonjenim korjenčićima, sakupljen u proljeće ili jesen.

*Sadržaj*: najmanje 0,3 posto ukupnih saponina, izraženo kao platikodin D (C<sub>57</sub>H<sub>92</sub>O<sub>28</sub>; M<sub>r</sub> 1225) (suha droga).

#### IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

#### ISPITIVANJA

***Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.** Ispitaj biljnu drogu kako je opisano u B identifikaciji. Prisutstvo sklereida, izoliranih ili u grupi, i škrobnih zrnaca indicira na prisutstvo vrste *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.

**Gubitak sušenjem** (2.2.32): najviše 10,0 posto, određenih na 1,000 g praška biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo** (2.4.16): najviše 6,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini** (2.8.1): najviše 1,0 posto.

#### ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

*Smjesa otapala*: voda R, anhidridni etanol R (30:70 V/V)

*Ispitivana otopina*. U 2,00 g praška biljne droge (355) (2.9.12) doda se 50,0 mL smjese otapala i sonicira 45 minuta. Ohladi se i zatim filtrira. Filter se ispere s 10 mL smjese otapala. Filtrat i ispirak se sjedine i upare do suha pod sniženim tlakom. Ostatak se otopi u smjesi otapala, prenese u volumetrijsku tikvicu i razrijedi do 10,0 mL istim otapalom. Dobro se promiješa i filtrira kroz membranski filter (nominalne veličine pora 0,45 µm).

*Poredbena otopina* (a). Otopi se 8,0 mg platikodina D CRS u smjesi otapala i razrijedi do 10,0 mL istim otapalom.

*Poredbene otopine (b), (c), (d), (e), (f), (g).* Poredbena otopina (a) razrijedi se tako da se dobije 6 poredbenih otopina platikodina D, u rasponu koncentracija koje se očekuju u ispitivanoj otopini. *Poredbena otopina (h).* Otopi se 5,0 mg suhog ekstrakta platikodonovog korijena za prikladnost sustava HRS u 1,0 mL metanola R.

*Kolona:*

- veličina:  $l=0,15$  m,  $\varnothing=4,6$  mm;
- nepokretna faza: modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5  $\mu$ m);
- temperatura: 30 °C.

*Pokretna faza:*

- pokretna faza A: voda za kromatografiju R;
- pokretna faza B: acetonitril R1;

Vrijeme (min)	Pokretna faza A (posto V/V)	Pokretna faza B (posto V/V)
0-10	85 → 75	15 → 25
10-30	75	25

*Brzina protoka:* 1,0 mL/min.

*Detekcija:* detektor raspršenja svjetla u uparenom uzorku; prikladne su sljedeće postavke; ako detektor ima drukčije podešene parametre, treba ih podesiti tako da zadovoljavaju kriterije prikladnosti sustava za omjer signala i šuma:

- plin nosač: dušik R;
- tlak: 350 kPa;
- temperatura evaporatora: 45 °C.

*Injektiranje:* 10  $\mu$ L.

*Identifikacija pikova:* za identifikaciju pikova saponina 1, 2 (platikodin D), 3, 4 i 5 koristi se kromatogram suhog ekstrakta platikodonovog korijena HRS i kromatogram poredbene otopine (h); za identifikaciju pika platikodina D koristi se kromatogram poredbene otopine (a).

*Relativno vrijeme zadržavanja* u odnosu na platikodin D (vrijeme zadržavanja = oko 21 min): saponin 1 = oko 0,98; saponin 3 = 1,03; saponin 4 = oko 1,06; saponin 5 = oko 1,08. Dodatni pikovi mogu biti prisutni.

*Prikladnost sustava:*

- *razlučivanje:* najmanje 1,5 između pikova saponina 1 i platikodina D u kromatogramu poredbene otopine (h);
- *omjer signala i šuma:* najmanje 50 za glavni pik u kromatogramu poredbene otopine (a).

Napravi se kalibracijska krivulja s logaritmom koncentracija (u mg/10 mL) poredbenih otopina (a), (b), (c), (d), (e), (f) i (g) (korigirano prema navedenom sadržaju *platikodina D CRS*) na apscisi i logaritmom odgovarajućih površina pikova na ordinati.

Izračuna se postotak saponina 1, 2, 3, 4 i 5 koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{10^A}{m \times 10}$$

$A$  = logaritam koncentracije saponina u ispitivanoj otopini, određen iz kalibracijske krivulje;

$M$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima.

Izračuna se postotak ukupnih saponina, izraženo kao platikodin D, uzimajući zbroj postotaka saponina 1, 2, 3, 4 i 5 (EDQM, 2018).

## 4.7. *Polygoni cuspidati rhizoma et radix* (虎杖, Hu zhang)

*Polygoni cuspidati rhizoma et radix* (eng. *Polygonum cuspidatum* rhizome and root) je kineska ljekovita droga koja se dobiva od biljne vrste *Polygonum cuspidatum* (Slika 17).



Slika 17. *Polygoni cuspidati rhizoma et radix*  
(preuzeto s <https://tcmwiki.com>)

### 4.7.1. Opis biljke

*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. (sin. *Reynoutria japonica* Houtt.) (Polygonaceae) je višegodišnja uspravna biljka koja naraste od 1-2 m (Slika 18). Stabljike su čvrste, izbrazdane i granaju se prema vrhu, a podanak je zadebljan. Listovi su jajastog oblika i kožasti, s obje strane goli te sa zašiljenim vrhom plojke. Cvat je klas, a ocvijeće je žute ili zelene boje. Sjemenke su crno-smeđe boje, sjajne te jajastog oblika. Biljka samoniklo raste u dolinama, na rubovima polja i na obroncima planina, a nalazimo ju na području Kine, Japana, Koreje i Rusije ([www.efloras.org](http://nyflora.org)).

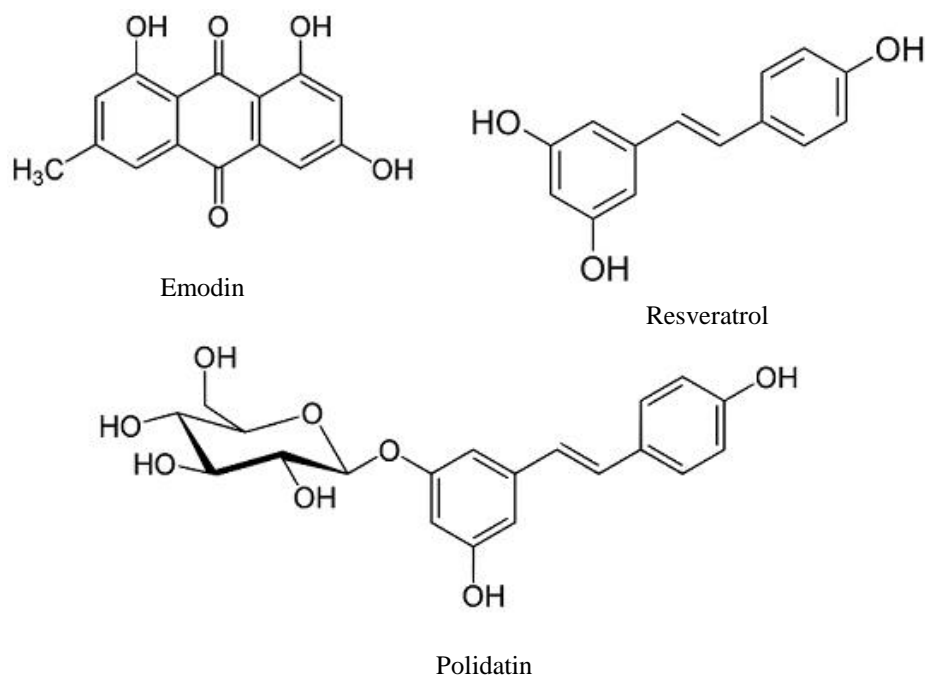


Slika 18. *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.  
(preuzeto s <http://nyflora.us>)

## 4.7.2. Fitokemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice biljne droge *Polygoni cuspidati rhizoma et radix* su (Fu i sur., 2015, Zhibi i sur., 2013):

- **antrakinoni:** emodin, hidroksil aloe-emodin, emodin-O-(sulfonil)-glukozid
- **stilbeni:** resveratrol, resveratrol-O-sulfat, piceatanol-O-glukozid, polidatin
- trjeslovine: galoil-glukoza, katehin, epikatehin, procijanidin B, katehin-galat
- ostale sastavnice: flavoni, polisaharidi, organske kiseline (galna kiselina, limunska kiselina), naftalenski derivati



Slika 19. Bioaktivne sastavnice droge *Polygoni cuspidati rhizoma et radix*

## 4.7.3. Upotreba u TCM-u

Biljna droga *Polygoni cuspidati rhizoma et radix* se u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi kod menstrualnih tegoba i amenoreje, a može se upotrebljavati i u kombinaciji s drogama Leonuri herba i *Salviae miltiorrhizae radix*. Droga pomaže kod traumatskih ili sportskih ozljeda, kao i kod



reumatskih bolova, jer ublažava bol na mjestu ozljede. U tom slučaju droga se upotrebljava topikalno, a može i u kombinaciji s drogama Carthami flos, Olibanum i Angelicae sinensis radix. Kod opekline, infektivnih kožnih oboljenja i zmijskih ugriza droga se upotrebljava interno i topikalno jer smanjuje toksičnost, ali se kod opekline droga topikalno koristi umočena u sezamovom ulju. Još se može koristiti kod bubrežnih i žučnih kamenaca, također i u kombinaciji s drogom Lysimachiae herba. Upotreba droge je kontraindicirana u trudnoći (Hempfen i Fischer, 2009, Bensky i sur., 2004).

#### **4.7.4. Farmakološki i klinički učinci**

Droga *Polygoni cuspidati rhizoma et radix* istražena je u nizu *in vitro* i *in vivo* studija. U istraživanjima je ispitivana cijela droga, njezin ekstrakt, ali isto tako i njezine pojedine sastavnice, kao npr. polidatin i resveratrol. Resveratrol je vrlo popularna i istraživana molekula jer je glavna sastavnica crnog grožđa i vina, zbog koje im se pripisuje niz blagotvornih učinaka na ljudsko zdravlje. Pretkliničke studije pokazuju da resveratrol ima antioksidativna i protuupalna svojstva, te protutumorski i „anti-aging“ učinak, dok su klinički dokazi o preventivnom djelovanju na ljudsko zdravlje (kardioprotektivno, prevencija dijabetesa i raka) ograničeni zbog njegove problematične biološke raspoloživosti (Vang i sur., 2011). S obzirom na brojnost znanstvenih radova koji se bave farmakološkim i kliničkim djelovanjem resveratrola, oni nisu proučavani u ovom radu.

##### Antibakterijski učinak

Metanolni ekstrakt droge *Polygoni cuspidati rhizoma et radix* je pokazao antibakterijsko djelovanje na bakterijske sojeve *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus* (minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) iznosila je 0,5-4 mg/mL), što ukazuje da bi droga mogla biti korisna u kontroli formiranja zubnog plaka i posljedičnog nastajanja zubnog karijesa (Song i sur., 2006). Kasnija studija potvrdila je značajni antibakterijski učinak metanolnog ekstrakta droge i njegove frakcije na sojeve *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*. Ekstrakt je inhibirao glukoziltransferazu i proizvodnju glikolne kiseline u tim bakterijama (Ban i sur., 2010).

Sirovi ekstrakt droge pokazao je antibakterijski učinak i na tri od pet bakterija koje su najčešći kontaminanti u hrani, inhibirajući rast sojeva *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* i *Staphylococcus aureus* s minimalnim koncentracijama u rasponu 156,3-312,5 µg/mL, dok su minimalne baktericidne koncentracije (MBC) iznosile 312,2-1250 µg/mL (Peng i sur., 2013).

#### Antiviralni učinak

U nekoliko studija proučavano je djelovanje ekstrakta droge na virus humane imunodeficijencije (HIV) (Peng i sur., 2013). Dokazano je da predtretman resveratrolom povećava intracelularne razine NAD<sup>+</sup> i ekspresiju proteina Sirtuins 1 nakon Tat plazmidne transfekcije i atenuirane Tat-inducirane HIV-1 transaktivacije u MAGI stanicama, što ukazuje da je resveratrol potencijalni kandidat za liječenje HIV-a (Zhang i sur., 2009).

Također je dokazano da doze manje od 1 µg/mL hipericina i emodina izoliranih iz droge mogu biti potencijalni lijek protiv virusa vezikularnog stomatitisa, herpes simplex virusa, virusa parainfluence te kravljih boginja (Andersen i sur., 1991, Wang i sur., 2003).

#### Antioksidativni učinak

Dokazano je da polidatin u dozama od 3,2, 6,4, 12,8 i 25,6 µmol/L inhibira rani stupanj respiratornog praska polimorfonuklearnih stanica leukocita, ovisno o dozi. Osim toga, polidatin ima snažnu sposobnost uklanjanja kisikovih slobodnih radikala (Jin i sur., 1993). Na animalnom modelu štakora kojima je primjenjivan polidatin, dokazano je povećanje aktivnosti superoksid dismutaze, katalaze i glutation peroksidaze moždanih ovojnica i hipokampusu. Optimalna doza smanjenja slobodnih radikala bila je 12 mg/kg (Leung i Mo, 1996). Osim toga, ekstrakt droge pokazao je dobru sposobnost uklanjanja DPPH radikala, a najbolje u koncentraciji od 100 µg/mL (Lin i sur., 2010). Klinički podaci potvrđuju da ekstrakt koji sadrži 20% resveratrola, primijenjen tijekom 6 tjedana u dozi od 200 mg/dan, može značajno smanjiti produkciju reaktivnih kisikovih intermedijera mononuklearnih stanica (Ghanim i sur., 2010).

#### Protuupalno djelovanje

Preklinička istraživanja ukazuju na protuupalna svojstva droge *Polygoni cuspidati rhizoma et radix*. Ekstrakt droge može inhibirati iNOS mRNA ekspresiju induciranu lipopolisaharidom kao i

produkciju NO. Ekstrakt droge (20 i 60  $\mu\text{mol/L}$ ) u kombinaciji s NOS inhibitorom značajno smanjuje COX-2 mRNA ekspresiju (Kim i sur., 2007).

Na animalnom modelu ispitana je sposobnost etanolnog ekstrakta droge da spriječi upalnu reakciju na uha miševa izazvanu topikalnom primjenom tetradekanoil forbol acetatom. Lokalno primijenjen ekstrakt droge značajno smanjuje ušni edem u dozama od 0,075, 0,15, 0,3, 1,25 i 2,5 mg/uho. Doze od 0,3, 1,25 i 2,5 mg/uho su se pokazale jednako učinkovite kao i indometacin u dozi od 0,5 mg/uho. Dodatno, prikazano je da ekstrakt droge može značajno smanjiti aktivnost mijeloperoksidaze u miševa, što znači da ekstrakt može inhibirati edem i infiltraciju neutrofila u ušima miševa (Bralley i sur., 2008).

Na animalnom modelu artritisa dokazano je da etil-acetatni ekstrakt droge (200 mg/kg) značajno smanjuje oteknuće zglobova u roku 3 dana od početka terapije te inhibira odgovor na C-reaktivni faktor i reumatoidni faktor (Han i sur., 2011).

Cilj jedinog kliničkog ispitivanja bio je vrjednovati djelovanje ekstrakta droge (koji sadrži 20% resveratrola) na oksidativni i upalni stres u zdravih pojedinaca. Dvadeset zdravih pojedinaca s normalnom težinom nasumično je podijeljeno u dvije skupine od kojih je jedna primala placebo, a druga svakodnevno tijekom 6 tjedana ekstrakt droge (koji sadrži 20% resveratrola) u dozi od 40 mg resveratrola dnevno. Utvrđeno je da, za razliku od placeba, ekstrakt droge značajno smanjuje stvaranje ROS, smanjuje mRNA ekspresiju TNF- $\alpha$ , IL-6, C-reaktivnog proteina i aktivaciju faktora NF- $\kappa$ B. Dobiveni rezultati ukazuju da *Polygonum cuspidatum* ekstrakt koji sadrži resveratrol sveobuhvatno suzbija oksidativni i upalni stres u ljudi (Ghanim i sur., 2010).

#### Hepatoprotektivno djelovanje

Dokazano je da vodeni ekstrakt droge *Polygoni cuspidati rhizoma et radix* (400 mg/dan, p.o., tijekom 7 dana) poboljšava mikrocirkulaciju oštećenog tkiva jetre i inhibira adheziju bijelih krvnih stanica i jetrenih endotelnih stanica. Pretpostavlja se da droga može potaknuti regeneraciju jetrenih stanica i funkciju jetre (Hong i sur., 2000). Dodatno, smatra se da bi polidatin, izoliran iz droge, mogao imati funkciju zaštite hepatocita od oksidativnog oštećenja uzrokovanog vodikovim peroksidom (Mo i Shao, 2000). Također je dokazano da polidatin (50, 100 mg/kg/dan, p.o., tijekom 5 dana) ima značajni hepatoprotektivni učinak u miševa sa akutnim oštećenjem jetre, induciranim pomoću  $\text{CCl}_4$  (Zhang i sur., 2012).

### Protutumorsko djelovanje

U *in vitro* istraživanju testirani su etanolni i etilacetatni ekstrakti droge (0,2, 0,4, 0,6 i 0,8 mg/mL) te su ekstrakti pokazali antiproliferativni učinak kod A549 i H1650 stanica ljudskog karcinoma pluća (Lin i sur., 2010).

Resveratrol (2,5, i 10 mg/kg, i.p., tijekom 5 dana) je značajno smanjio volumen i masu tumora pluća te prevenirao rast tumora i širenje metastaza u plućima inhibicijom sinteze DNA i tumorskih stanica, kao i neovaskularizacije kod miševa koji nose Lewis karcinom pluća (Kimura i Okuda, 2001). Resveratrol također ima ulogu u citotoksičnom učinku u MCF-7 stanica u dozama od 58,4 i 56,7 µg/mL (Feng i sur., 2006).

### Estrogeno djelovanje

Rezultati istraživanja učinka emodina i emodin-8-O-β-D-glukopiranozida izoliranih iz metanolnog ekstrakta droge (30 i 100 µg/mL) pokazali su da iste sastavnice mogu pojačati proliferaciju MCF-7 stanica osjetljivih na estrogen. Također je dokazano da emodin inhibira vezanje 17β-estradiola na humane estrogene receptore, što ukazuje da hidroksiantrakinoni, kao što je emodin, imaju fitoestrogeno djelovanje i posjeduju afinitet vezanja za humane estrogene receptore. Rezultati istraživanja pokazuju da je nekelatirana hidroksilna skupina antrakinona odgovorna za snažni estrogene učinak (Matsuda i sur., 2001).

## **4.7.5. Monografija droge u Ph. Eur. 9**

01/2017:2724

### **PODANAK I KORIJEN JAPANSKOG DVORNIKA**

#### **Polygoni cuspidati rhizoma et radix**

#### DEFINICIJA

Osušen, usitnjen podanak i korijen, s uklonjenim korjenčićima, vrste *Reynoutria japonica* Houtt. (syn. *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.), sakupljen u proljeće ili jesen.

#### *Sadržaj:*

- emodin (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>; M<sub>r</sub> 270,2): najmanje 1,0 posto (suha droga)

- polidatin (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>; M<sub>r</sub> 390,4): najmanje 1,5 posto (suha droga).

#### IDENTIFIKACIJA:

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

#### ISPITIVANJA

**Gubitak sušenjem** (2.2.32): najviše 12,0 posto, određeno na 1,000 g praška biljne droge (335) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 4 sata na 105 °C.

**Ukupni pepeo** (2.4.16): najviše 5,0 posto.

**Pepeo netopljiv u klorovodičnoj kiselini** (2.8.1): najviše 1,0 posto.

#### ODREĐIVANJE SADRŽAJA

**Emodin.** Tekućinska kromatografija (2.2.29).

*Ispitivana otopina.* U tikvicu okruglog dna stavi se 0,150 g praška biljne droge (355) (2.9.12). Doda se 150,0 mL 14 postotne V/V otopine *sulfatne kiseline R* i 150,0 mL *metilenklorida R*. Zagrije se na vodenoj kupelji uz povratno hladilo 2 sata na 60 °C, zatim ohladi i sadržaj se prenese u lijevak za odijeljivanje. Organski sloj se odbaci i ostatak se ekstrahira 3 puta sa po 15 mL *metilenklorida R*. Sjedinjeni metilenkloridni ekstrakti upare se do suha. Ostatak se otopi u *metanolu R* i razrijedi do 100,0 mL istim otapalom. Otopina se filtrira kroz membranski filter (nominalne veličine pora 0,45 μm).

*Poredbena otopina (a).* Otopi se 5,0 mg *emodina CRS* u *metanolu R* i razrijedi do 50,0 mL istim otapalom. Razrijedi se 5,0 mL otopine do 20,0 mL s *metanolom R*.

*Poredbena otopina (b).* Otopi se 2,5 mg *reina R* u *metanolu R* i razrijedi do 25,0 mL istim otapalom. Razrijedi se 1,0 mL otopine do 10,0 mL s poredbenom otopinom (a).

*Kolona:*

- *veličina:* l=0,25 m, Ø=4,0 mm;

- *nepokretna faza:* modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 μm);

- *temperatura:* 30 °C.

*Pokretna faza:*

- *pokretna faza A:* fosforna kiselina R, voda za kromatografiju R (0,1:99,9 V/V);

- *pokretna faza B:* metanol R;

Vrijeme (min)	Pokretna faza A (posto V/V)	Pokretna faza B (posto V/V)
0-11	15	85
11-11,1	15→5	85→95
11,1-22	5	95

Brzina protoka: 1,0 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar na 254 nm.

Injektiranje: 20 µL.

Vrijeme zadržavanja: rein = oko 4 min; emodin = oko 6 min.

Prikladnost sustava: poredbena otopina (b):

- razlučivanje: najmanje 5 između pikova reina i emodina.

Izračuna se postotak emodina prema izrazu:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 2}$$

$A_1$  = površina pika emodina u kromatogramu ispitivane otopine;

$A_2$  = površina pika emodina u kromatogramu poredbene otopine (a);

$m_1$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

$m_2$  = masa emodina CRS korištenog za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

$p$  = postotni udio emodina u emodinu CRS.

**Polidatin.** Tekućinska kromatografija (2.2.29). Izvodi se zaštićeno od sunčevog svjetla.

*Ispitivana otopina.* U tikvicu okruglog dna stavi se 0,200 g praška biljne droge (355) (2.9.12).

Doda se 50,0 mL etanola (50 postotni V/V) R i izvaže. Zagrije se na vodenoj kupelji uz povratno hladilo 30 minuta na 95 °C, zatim ohladi i ponovno izvaže. Gubitak otapala se nadomjesti dodatkom etanola (50 postotni V/V) R i dobro promiješa. Otopina se filtrira i 3,0 mL filtrata se razrijedi do 25,0 mL s 60 postotnom V/V otopinom metanola R.

*Poredbena otopina (a).* Otopi se 5,0 mg polidatina CRS u metanolu R i razrijedi do 50,0 mL istim otapalom. Razrijedi se 10,0 mL otopine do 50,0 mL s 60 postotnom V/V otopinom metanola R.

*Poredbena otopina (b).* Otopi se 5,0 mg resveratrola R u 60 postotnoj V/V otopini metanola R i razrijedi do 50,0 mL istim otapalom. Razrijedi se 3,0 mL otopine do 25,0 mL s poredbenom otopinom (a).

*Kolona:*

- veličina:  $l=0,25$  m,  $\varnothing=4,0$  mm;

- nepokretna faza: modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm);

- temperatura: 35 °C.

*Pokretna faza:*

- pokretna faza A: voda za kromatografiju R;

- pokretna faza B: acetonitril za kromatografiju R;

Vrijeme (min)	Pokretna faza A (posto V/V)	Pokretna faza B (posto V/V)
0-12	82	18
12-18	82→5	18→95
18-25	5	95

*Brzina protoka:* 1,0 mL/min.

*Detekcija:* spektrofotometar na 306 nm.

*Injektiranje:* 20 µL.

*Vrijeme zadržavanja:* polidatin = oko 10 min; resveratrol = oko 17 min.

*Prikladnost sustava:* poredbena otopina (b):

- *razlučivanje:* najmanje 5 između pikova polidatina i resveratrola.

Izračuna se postotak emodina prema izrazu:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 1,67}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = površina pika polidatina u kromatogramu ispitivane otopine;

$A_2$  = površina pika polidatina u kromatogramu poredbene otopine (a);

$m_1$  = masa biljne droge korištene za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

$m_2$  = masa *polidatina CRS* korištenog za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

$p$  = postotni udio polidatina u *polidatinu CRS* (EDQM, 2018).

## 5. ZAKLJUČAK

Zanimanje za ljekovite biljne droge koje se koriste u tradicionalnoj kineskoj medicini sve je izraženije u europskim zemljama, stoga se farmaceutima kao stručnjacima koji se bave izradom, kontrolom kvalitete i izdavanjem fitopreparata nameće potreba usvajanja novih znanja i praćenja trendova u fitofarmaciji. Ovaj rad pruža sveobuhvatan pregled recentnih znanstvenih i stručnih podataka za sedam kineskih ljekovitih droga za koje su utvrđene norme kakvoće u obliku monografija u aktualnom 9. izdanju Europske farmakopeje. Bupleuri radix, Codonopsis radix, Moutan cortex, Paeoniae radix alba, Paeoniae radix rubra, Platycodonis radix te Polygoni cuspidati rhizoma et radix su biljne droge koje se često koriste u liječenju u okviru sustava tradicionalne kineske medicine. Unatoč njihovoj dugoj i širokoj primjeni u narodu, kliničkih dokaza koji bi potvrdili djelotvornost i sigurnu primjenu u ljudi te pružili znanstvenu osnovu za njihovu tradicionalnu primjenu uglavnom nedostaje. Većina znanstvenih dokaza o djelotvornosti predmetnih biljnih droga dobivena je istraživanjima *in vitro* ili *in vivo* na životinjskim modelima, pa oni predstavljaju važan temelj za daljnja moguća klinička ispitivanja. Proučavane kineske biljne droge aktualne su i kao izvori potencijalnih novih lijekova (npr. peonola, peoniflorina, albiflorin, resveratrola i dr.) čija su farmakološka svojstva također dosta istraživana. Ovaj rad ukazuje na potrebu za daljnjim, kvalitetnim istraživanjima kineskih ljekovitih biljaka, bilo u svrhu razumijevanja i znanstvenog utvrđivanja opravdanosti tradicionalne primjene i/ili mogućeg otkrivanja novih lijekova.



## 6. LITERATURA

Andersen DO, Weber ND, Wood SG, Hughes BG, Murray BK, North JA. *In vitro* virucidal activity of selected anthraquinones and anthraquinone derivatives. *Antiviral Res*, 1991, 16 (2), 185–196.

Ban SH, Kwon YR, Pandit S, Lee YS, Yi HK, Jeon JG. Effects of a bioassay guided fraction from *Polygonum cuspidatum* root on the viability, acid production and glucosyltransferase of mutans streptococci. *Fitoterapia*, 2010, 81 (1), 30–34.

Bensky D, Clavey S, Stöger E. Chinese Herbal Medicine: Materia Medica. Seattle, Eastland Press, 2004, str. xiv-xv, 73-75, 429-430, 620-623.

Bi X, Han L, Qu T, Mu Y, Gaun P, Qu X, Wang Z, Huang X. Anti-inflammatory effects, SAR, and action mechanism of monoterpenoids from *Radix paeoniae alba* on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Molecules*, 2017, 22 (5), 715.

Bralley EE, Greenspan P, Hargrove JL, Wicker L, Hartle DK. Topical antiinflammatory activity of *Polygonum cuspidatum* extract in the TPA model of mouse ear inflammation. *J Inflamm*, 2008, 5, 1.

*Bupleurum chinense*, <http://www.tipdisease.com/2015/08/bupleurum-bupleurum-chinense-overview.html>, pristupljeno 14.05.2018.

Cai J, Chen S, Zhang W, Hu S, Lu J, Xing J, Dong Y. Paeonol reverses paclitaxel resistance in human breast cancer cells by regulating the expression of transgelin 2. *Phytomedicine*, 2014, 21 (7), 984-91.

Cao SL, Chen E, Zhang QZ, Jiang XG. A novel nasal delivery system of a Chinese traditional medicine, *Radix Bupleuri*, based on the concept of ion-activated in situ gel. *Arch Pharm Res*, 2007, 30 (8), 1014-9.

Chan JY, Lam FC, Leung PC, Che CT, Fung KP. Antihyperglycemic and antioxidative effects of a herbal formulation of *Radix Astragali*, *Radix Codonopsis* and *Cortex Lycii* in a mouse model of type 2 diabetes mellitus. *Phytother Res*, 2009, 23 (5), 658-665.

Chang CC, Yuan W, Lin YL, Liu RS, Juan YC, Sun WH, Tsay HJ, Huang HC, Lee YC, Liu HK. Evaluation of the *in vivo* therapeutic effects of radix paeoniae rubra ethanol extract with the hypoglycemic activities measured from multiple cell-based assays. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 3262790.

Chen C, Zhang F, Xia ZY, Lin H, Mo AS. Protective effects of pretreatment with Radix Paeoniae Rubra on acute lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Chin J Traumatol*, 2008, 11 (1), 37-41.

Chen M, Cao L, Luo Y, Feng X, Sun L, Wen M, Peng S. Paeoniflorin protects against concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Int Immunopharmacol*, 2015, 24 (1), 42-49.

Chen S, Zhou Z, Sun S, Li Y, Li X. The effect of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. on gastric acid, serum gastrin and plasma somatostatin concentration in dogs. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 1998, 23 (5), 299-301, 320.

Chen T, Guo ZP, Wang L, Qin S, Cao N, Li MM, Jia RZ, Wang TT. Paeoniflorin suppresses vascular damage and the expression of E-selectin and ICAM-1 in a mouse model of cutaneous Arthus reaction. *Exp Dermatol*, 2013, 22 (7), 453-7.

Chiang LC, Ng LT, Liu LT, Shieh DE, Lin CC. Cytotoxicity and anti-hepatitis B virus activities of saikosaponins from *Bupleurum* species. *Planta Med*, 2003, 69 (8), 705-9.

Chun SC, Jee SY, Lee SG, Park SJ, Lee JR, Kim SC. Anti-inflammatory activity of the methanol extract of moutan cortex in LPS-activated Raw264.7 cells. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2007, 4 (3), 327-33.

Chung JW, Noh EJ, Zhao HL, Sim JS, Ha YW, Shin EM, Lee EB, Cheong CS, Kim YS. Anti-inflammatory activity of prosapogenin methyl ester of platycodin D via nuclear factor-kappaB pathway inhibition. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31 (11), 2114-20.

Chunnian H, Yong P, Yuxiong F, Bing P, Zhe W, Peigen X. Quick comparison of Radix Paeonia Alba, Radix Paeonia Rubra, and Cortex Moutan by high performance liquid chromatography coupled with monolithic columns and their chemical pattern recognition. *Pharmacogn Mag*, 2012, 8(31), 237-43.

*Codonopsis pilosula*, <http://www.cfgphoto.com/photo-codonopsis-tangshen-70813.htm>, pristupljeno 14.05.2018.

Cortex Moutan, <https://tcmwiki.com/wiki/cortex-moutan>, pristupljeno 30.03.2018.

Dan H, Zhang L, Qin X, Peng X, Wong M, Tan X, Yu S, Fang N. Moutan cortex extract exerts protective effects in a rat model of cardiac ischemia/reperfusion. *Can J Physiol Pharmacol*, 2015, 94 (3), 245-250.

EDQM, European Pharmacopoeia. The Ninth Edition (Ph. Eur. 9.5.), Council of Europe, Strasbourg, 2018.

Fan J, Li X, Li P, Li N, Wang T, Shen H, Siow Y, Choy P, Gong Y. Saikosaponin-d attenuates the development of liver fibrosis by preventing hepatocyte injury. *Biochem Cell Biol*, 2007, 85 (2), 189-95.

Feng L, Zhang LF, Yan T, Jin J, Tao WY. Studies on active substance of anticancer effect in *Polygonum cuspidatum*. *Zhong Yao Cai*, 2006, 29 (7), 689–691.

Flora of China, 1980., <http://www.eFloras.org>, pristupljeno 20.03.2018.

Fu J, Wang M, Guo H, Zhang Z, Song R. Profiling of components of rhizoma et radix polygoni cuspidati by high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode-array detector and ion trap/time-of-flight mass spectrometric detection. *Pharmacogn Mag*, 2015, 11 (43), 486-501.

Fu PK, Yang CY, Tsai TH, Hsieh CL. Moutan cortex radices improves lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through anti-inflammation. *Phytomedicine*, 2012, 19 (13), 1206-15.

Fu Y, Hu X, Cao Y, Zhang Z, Zhang N. Saikosaponin a inhibits lipopolysaccharide-oxidative stress and inflammation in human umbilical vein endothelial cells via preventing TLR4 translocation into lipid rafts. *Free Radic Biol Med*, 2015, 89, 777-85.

Ghanim H, Sia CL, Abuaysheh S, Korzeniewski K, Patnaik P, Marumganti A, Chaudhuri A, Dandona P. An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95 (9), E1–E8.

Han EH, Park JH, Kim JY, Chung YC, Jeong HG. Inhibitory mechanism of saponins derived from roots of *Platycodon grandiflorum* on anaphylactic reaction and IgE-mediated allergic response in mast cells. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47 (6), 1069-75.

Han JH, Koh W, Lee HJ, Lee HJ, Lee EO, Lee SJ, Khil JH, Kim JT, Jeong SJ, Kim SH. Analgesic and anti-inflammatory effects of ethyl acetate fraction of *Polygonum cuspidatum* in experimental animals. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2011, 34 (2), 191–195.

Han LK, Zheng YN, Xu BJ, Okuda H, Kimura Y. Saponins from platycodi radix ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J Nutr*, 2002, 132 (8), 2241-5.

Han XH, Gai XD, Xue YJ, Chen M. Effects of the extracts from *Bupleurum chinese* DC on intracellular free calcium concentration and vincristine accumulation in human hepatoma BEL-7402 cells. *Tumor*, 2006, 26, 314-317.

He K, Li X, Chen X, Ye X, Huang J, Jin Y, Li P, Deng Y, Jin Q, Shi Q, Shu H. Evaluation of antidiabetic potential of selected traditional Chinese medicines in STZ- induced diabetic mice. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137 (3), 1135-1142.

He M, Li Y, Yan J, Cao D, Liang Y. Analysis of essential oils and fatty acids from Platycodi radix using chemometric methods and retention indices. *J Chromatogr Sci*, 2013, 51 (4), 318-330.

Hempen CH, Fischer T. A Materia Medica for Chinese medicine: plants, minerals and animal products. Munich, Elsevier Limited, 2009, str. 50-51, 164-165, 566-567, 636-637, 710-711, 776-777.

Himaya SW, Ryu B, Qian ZJ, Kim SK. Paeonol from *Hippocampus kuda* Bleeker suppressed the neuro-inflammatory responses in vitro via NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways. *Toxicol In Vitro*, 2012, 26 (6), 878-887.

Hong ZY, Gao Y, Zhan XH. The protective effect of *Polyclonum cuspidatum* sieb on liver ischemic injury in rats. *World Chinese Journal of Digestology*, 2000, 8 (2), 162–164.

Hsu YL, Kuo PL, Weng TC, Yen MH, Chiang LC, Lin CC. The antiproliferative activity of saponin-enriched fraction from Bupleurum Kaioi is through Fas-dependent apoptotic pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27 (7), 1112-5.

Jin GT, Bo L, Wang SR. Experimental study on material basis, efficacy and mechanism of antipyretic effect of Bupleuri radix. *Arch Pharm Res*, 2007, 30 (8), 1014-1019.

Jin WJ, Chen SY, Qian ZX. Effects of polydatin IV on inhibiting respiratory burst of PMNs and scavenging oxygen free radicals. *Chin Pharm Bull*, 1993, 9 (5), 355–357.

Kang SJ, Lee YJ, Kim BM, Kim YJ, Woo HD, Jeon HK, Chung HW. Effect of Bupleuri Radix extracts on the toxicity of 5-fluorouracil in HepG2 hepatoma cells and normal human lymphocytes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008, 103 (4), 305-13.

Ke Z, Wang G, Yang L, Qiu H, Wu H, Du M, Chen J, Song J, Jia X, Feng L. Crude terpene glycoside component from Radix paeoniae rubra protects against isoproterenol-induced myocardial ischemic injury via activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *J Ethnopharmacol*, 2017, 206, 160-169.

Kim HG, Park G, Piao Y, Kang MS, Pak YK, Hong SP, Oh MS. Effects of the root bark of *Paeonia suffruticosa* on mitochondria-mediated neuroprotection in an MPTP-induced model of Parkinson's disease. *Food Chem Toxicol*, 2014, 65, 293-300.

Kim HK, Kim DS, Cho HY. Protective effects of Platycodi radix on alcohol-induced fatty liver. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71 (6), 1550-2.

Kim JY, Park KW, Moon KD, Lee MK, Choi J, Yee ST, Shim KH, Seo KI. Induction of apoptosis in HT-29 colon cancer cells by crude saponin from Platycodi radix. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46 (12), 3753-8.

Kim KW, Ha KH, Park CS, Jin UH, Chang HW, Lee IS, Kim CH. *Polygonum cuspidatum*, compared with baicalin and berberine, inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 gene expressions in RAW 264.7 macrophages. *Vasc Pharmacol*, 2007, 47 (2-3), 99–107.

Kimura Y, Okuda H. Resveratrol isolated from *Polygonum cuspidatum* root prevents tumor growth and metastasis to lung and tumor-induced neovascularization in Lewis lung carcinoma-bearing mice. *J Nutr*, 2001, 131 (6), 1844–1849.

Kodama Y, Xiaochuan L, Tsuchiya C, Ohizumi Y, Yoshida M, Nakahata N. Dual effect of saikogenin D: in vitro inhibition of prostaglandin E2 production and elevation of intracellular free Ca<sup>2+</sup> concentration in C6 rat glioma cells. *Planta Med*, 2003, 69 (8), 765-7.

Kong Y, Lu ZL, Wang JJ, Zhou R, Guo J, Liu J, Sun HL, Wang H, Song W, Yang J, Xu HX. Platycodin D, a metabolite of *Platycodin grandiflorum*, inhibits highly metastatic MDA-MB-231 breast cancer growth *in vitro* and *in vivo* by targeting the MDM2 oncogene. *Oncol Rep*, 2016, 36 (3), 1447-56.

Koo YK, Kim JM, Koo JY, Kang SS, Bae K, Kim YS, Chung JH, Yun-Choi HS. Platelet anti-aggregatory and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa*. *Pharmazie*, 2010, 65 (8), 624-8.

Kumazawa Y, Kawakita T, Takimoto H, Nomoto K. Protective effect of saikosaponin a, saikosaponin d and saikogenin D against *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice. *Int Immunopharmacol*, 1990, 12 (5), 531-537.

Kwon DY, Kim YS, Ryu SY, Choi YH, Cha MR, Yang HJ, Park S. Platyconic acid, a saponin from *Platycodi radix*, improves glucose homeostasis by enhancing insulin sensitivity *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Nutr*, 2012, 51 (5), 529-40.

Lee CE, Hur HJ, Hwang JT, Sung MJ, Yang HJ, Kim HJ, Park JH, Kwon DY, Kim MS. Long-term consumption of *platycodi radix* ameliorates obesity and insulin resistance via the activation of AMPK pathways. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 759143.

Lee JW, Ji SH, Kim GS, Song KS, Um Y, Kim OT, Lee Y, Hong CP, Shin DH, Kim CK, Lee SE, Ahn YS, Lee DY. Global profiling of various metabolites in *Platycodon grandiflorum* by UPLC-QTOF/MS. *Int J Mol Sci*, 2015, 16 (11), 26786-26796.

Lee KJ, Jeong HG. Protective effect of *Platycodi radix* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40 (4), 517-525.

Leon C, Yu-Lin L. Chinese medicinal plants, herbal drugs and substitutes: An identification gGuide. London, Kew Publishing, 2017, str. 516.

Leung AWN, Mo ZX. Protective effects of polydatin, an active compound from *Polygonum cuspidatum*, on cerebral ischemic damage in rats. *Chin Pharm Bull*, 1996, 12 (2), 126–129.

Li B, Yang ZB, Lei SS, Su J, Jin ZW, Chen SH, Lv GY. Combined antihypertensive effect of paeoniflorin enriched extract and metoprolol in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacogn Mag*, 2018, 14 (53), 44-52.

Li HB, Wong CC, Cheng KW, Chen F. Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT - Food Sci Technol*, 2008, 41 (3), 385-390.

Li J, Ji X, Zhang J, Shi G, Zhu X, Wang K. Paeoniflorin attenuates A $\beta$ 25-35-induced neurotoxicity in PC12 cells by preventing mitochondrial dysfunction. *Folia Neuropathol*, 2014, 52 (3), 285-90.

Li J, Wang T, Zhu Z, Yang F, Cao L, Gao J. Structure features and anti-gastric ulcer effects of inulin-type fructan CP-A from the roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. *Molecules*, 2017, 22 (12), 2258.

Li JZ, Wu JH, Yu SY, Shao QR, Dong XM. Inhibitory effects of paeoniflorin on lysophosphatidylcholine-induced inflammatory factor production in human umbilical vein endothelial cells. *Int J Mol Med*, 2013, 31 (2), 493-7.

Li M, Tan SY, Wang XF. Paeonol exerts an anticancer effect on human colorectal cancer cells through inhibition of PGE<sub>2</sub> synthesis and COX-2 expression. *Oncol Rep*, 2014, 32 (6), 2845-53.

Li N, Fan LL, Sun GP, Wan XA, Wang ZG, Wu Q, Wang H. Paeonol inhibits tumor growth in gastric cancer *in vitro* and *in vivo*. *World J Gastroenterol*, 2010, 16 (35), 4483-90.

Li R, Guo W, Fu Z, Ding G, Zou Y, Wang Z. Hepatoprotective action of Radix Paeoniae Rubra aqueous extract against CCl<sub>4</sub>-induced hepatic damage. *Molecules*, 2011, 16 (10), 8684-94.

Li W, Qi Z, Wei Z, Liu S, Wang P, Chen Y, Zhao Y. Paeoniflorin inhibits proliferation and induces apoptosis of human glioma cells via microRNA-16 upregulation and matrix metalloproteinase-9 downregulation. *Mol Med Rep*, 2015, 12 (2), 2735-40.

- Li Y, Xu C, Zhang Q, Liu JY, Tan RX. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *J Ethnopharmacol*, 2005, 98 (3), 329-33.
- Li YJ, Bao JX, Xu JW, Murad F, Bian K. Vascular dilation by paeonol--a mechanism study. *Vasc Pharmacol*, 2010, 53 (3-4), 169-176.
- Li ZY, Sun HM, Xing J, Qin XM, Du GH. Chemical and biological comparison of raw and vinegar-baked Radix Bupleuri. *J Ethnopharmacol*, 2015, 165, 20-28.
- Lin MY, Chiang SY, Li YZ, Chen MF, Chen YS, Wu JY, Liu YW. Anti-tumor effect of Radix Paeoniae Rubra extract on mice bladder tumors using intravesical therapy. *Oncol Lett*, 2016, 12 (2), 904-910.
- Lin MY, Shen CH, Chiang SY, Chen SY, Lin YS, Hsu CD. Cortex moutan inhibits bladder cancer cell proliferation and expression of angiogenic factors. *Pharmacol Pharm*, 2014, 5 (8), 846-858.
- Lin YW, Yang FJ, Chen CL, Lee WT. Free radical scavenging activity and antiproliferative potential of Polygonum cuspidatum root extracts. *J Nat Med*, 2010, 64 (2), 146-152.
- Liu X, Chen J, Li E, Fan Q, Wanf D, Li P, Chen X, Qiu S, Gao Z, Li H, Hu Y. The comparison of antioxidative and hepatoprotective activities of Codonopsis pilosula polysaccharide (CP) and sulfated CP. *Int Immunopharmacol*, 2015, 24 (2), 299-305.
- Lu R, Zhou J, Liu B, Liang N, He Y, Bai L, Zhang P, Zhong Y, Zhou Y, Zhou J. Paeoniflorin ameliorates adriamycin-induced nephrotic syndrome through the PPAR $\gamma$ /ANGPTL4 pathway in vivo and vitro. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96, 137-147.
- Matsuda H, Shimoda H, Morikawa T, Yoshikawa M. Phytoestrogens from the roots of *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae): structure-requirement of hydroxyanthraquinones for estrogenic activity. *Bioorganic & Med Chem Lett*, 2001, 11 (14), 1839-42.
- Mo X, Zhao N, Du X, Bai L, Liu J. The protective effect of peony extract on acute myocardial infarction in rats. *Phytomedicine*, 2011, 18 (6), 451-7.



Mo ZX, Shao HX. Protective effects of polydatin on mouse hepatocyte injury induced by hydrogen peroxide in vitro. *Chin Pharm Bull*, 2000, 16 (5), 519–521.

Ng TB, Liu F, Wang HX. The antioxidant effects of aqueous and organic extracts of *Panax quinquefolium*, *Panax notoginseng*, *Codonopsis pilosula*, *Pseudostellaria heterophylla* and *Glehnia littoralis*. *J Ethnopharmacol*, 2004, 93 (2-3), 285-288.

*Paeonia lactiflora*, [http://efloras.org/object\\_page.aspx?object\\_id=45012&flora\\_id=2](http://efloras.org/object_page.aspx?object_id=45012&flora_id=2), pristupljeno 14.05.2018.

*Paeonia x suffruticosa*, <http://www.uniprot.org/taxonomy/45171>, pristupljeno 14.05.2018.

*Platycodon grandiflorum*, <https://www.rhs.org.uk/Plants/13246/Platycodon-grandiflorus/Details>, pristupljeno 15.05.2018.

Peng W, Qin R, Li X, Zhou H. Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb.et Zucc.: A review. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148 (3), 729-745.

*Polygonum cuspidatum*, [http://nyflora.us/floraPolygonumcuspidatum\\_page.htm](http://nyflora.us/floraPolygonumcuspidatum_page.htm), pristupljeno 15.05.2018.

Qin LM, Yan YF, Wang ZC. Experimental study on the cardiogenic action of extract from *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 1994, 19 (4), 238-240.

Radix Bupleuri, <https://tcmwiki.com/wiki/radix-bupleuri>, pristupljeno 30.03.2018.

Radix Codonopsis, <https://tcmwiki.com/wiki/radix-codonopsis>, pristupljeno 30.03.2018.

Radix Paeoniae Alba, <https://tcmwiki.com/wiki/radix-paeoniae-alba>, pristupljeno 30.03.2018.

Radix Paeoniae Rubra, <https://tcmwiki.com/wiki/radix-paeoniae-rubra>, pristupljeno 30.03.2018.

Radix Platycodi, <https://tcmwiki.com/wiki/radix-platycodi>, pristupljeno 30.03.2018.

Rhizoma Polygoni Cuspidati, <https://tcmwiki.com/wiki/rhizoma-polygoni-cuspidati>, pristupljeno 30.03.2018.

Rho S, Chung HS, Kang M, Lee E, Cho C, Kim H, Park S, Kim HY, Hong M, Shin M, Bae H. Inhibition of production of reactive oxygen species and gene expression profile by treatment of

ethanol extract of Moutan Cortex Radicis in oxidative stressed PC12 cells. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28 (4), 661-6.

Seo MK, Song JC, Lee SJ, Koo KA, Park YK, Lee JG, Park SW, Kim YH. Antidepressant-like effects of Bupleuri Radix extract. *Eur J Integr Med*, 2012, 76 (11), 392-399.

Shon YH, Nam KS. Protective effect of Moutan Cortex extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *J Ethnopharmacol*, 2004, 90 (2-3), 415-419.

Son IH, Park YH, Lee SI, Yang HD, Moon HI. Neuroprotective activity of triterpenoid saponins from Platycodi radix against glutamate-induced toxicity in primary cultured rat cortical cells. *Molecules*, 2007, 12 (5), 1147-52.

Song JH, Kim SK, Chang KW, Han SK, Yi HK, Jeon JG. *In vitro* inhibitory effects of *Polygonum cuspidatum* on bacterial viability and virulence factors of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Arch Oral Biol*, 2006, 51 (12), 1131-1140.

Su SY, Cheng CY, Tsai TH, Hsiang CY, Ho TY, Hsieh CL. Paeonol attenuates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced NF- $\kappa$ B-associated amyloid precursor protein expression. *Am J Chin Med*, 2010, 38 (6), 1171-92.

Su-Hong C, Qi C, Bo L, Jian-Li G, Jie S, Gui-Yuan L. Antihypertensive effect of radix paeoniae alba in spontaneously hypertensive rats and excessive alcohol intake and high fat diet induced hypertensive rats. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 731237.

Sun GP, Wan X, Xu SP, Wang H, Liu SH, Wang ZG. Antiproliferation and apoptosis induction of paeonol in human esophageal cancer cell lines. *Dis Esophagus*, 2008, 21 (8), 723-729.

Tseng YT, Hsu YY, Shih YT, Lo YC. Paeonol attenuates microglia-mediated inflammation and oxidative stress-induced neurotoxicity in rat primary microglia and cortical neurons. *Shock*, 2012, 37 (3), 312-8.

Vang O, Ahmad N, Baile CA, Baur JA, Brown K, Csiszar A, Das DK, Delmas D, Gottfried C, Lin HY, Ma QY, Mukhopadhyay P, Nalini N, Pezzuto JM, Richard T, Shukla Y, Szekeres T, Szkudelski T, Walle T, Wu JM. What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. *PLoS One*, 2011, 6 (6), e19881.

Wagner H, Bauer R, Melchart D, Xiao PG, Staudinger A. Chromatographic fingerprint analysis of herbal medicines. Wien, Springer-Verlag, 2011, str. 1-3, 234-235, 282-283.

Wang L, Yang CL, Or TC, Chen G, Zhou J, Li JC, Lau AS. Differential effects of Radix Paeoniae Rubra (Chishao) on cytokine and chemokine expression inducible by mycobacteria. *Chin Med*, 2011, 6 (1), 14.

Wang Y, Gao SM, Li R, Zhang M, Gao S, Yu CQ. Antidepressant-like effects of the Radix Bupleuri and Radix Paeoniae Alba drug pair. *Neurosci Lett*, 2016, 633, 14-20.

Wang YL, Wang JX, Hu XX, Chen L, Qiu ZK, Zhao N, Yu ZD, Sun SZ, Xu YY, Guo Y, Liu C, Zhang YZ, Li YF, Yu CX. Antidepressant-like effects of albiflorin extracted from Radix paeoniae alba. *J Ethnopharmacol*, 2016, 179, 9-15.

Wang YQ, Dai M, Zhong JC, Yin DK. Paeonol inhibits oxidized low density lipoprotein-induced monocyte adhesion to vascular endothelial cells by inhibiting the mitogen activated protein kinase pathway. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35 (5), 767-72.

Wang Z, He C, Peng Y, Chen F, Xiao P. Origins, phytochemistry, pharmacology, analytical methods and safety of cortex moutan (*Paeonia suffruticosa* Andrew): A systematic review. *Molecules*, 2017, 22 (6), 946.

Wang Z, You G, Liu Z, Zhu J, Chen C, Liu RE, Xu R. Paeoniflorin inhibits glioblastoma growth *in vivo* and *in vitro*: a role for the Triad3A-dependent ubiquitin proteasome pathway in TLR4 degradation. *Cancer Manag Res*, 2018, 887-897.

Wang ZH, Huang TN, Guo SF, Wang RH. Effects of emodin extracted from rhizoma polygoni cuspidati in treating HSV-1 cutaneous infection in guinea pigs. *Journal of Anhui Traditional Chinese Medical College*, 2003, 22, 36-38.

Wang ZT, Ng TB, Yeung HW, Xu GJ. Immunomodulatory effect of a polysaccharide-enriched preparation of *Codonopsis pilosula* roots. *Gen Pharmacol*, 1996, 27 (8), 1347-1350.

Wen S, Huifu X, Hao H. In vitro anti-influenza A H1N1 effect of extract of Bupleuri Radix. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2011, 33 (3), 433-437.

Wong VK, Li T, Law BY, Ma ED, Yip NC, Michelangeli F, Law CK, Zhang MM, Lam KY, Chan PL, Liu L. Saikosaponin-d, a novel SERCA inhibitor, induces autophagic cell death in apoptosis-defective cells. *Cell Death Dis*, 2013, 4, e720.

World Health Organization. Medicinal plants in China: a selection of 150 commonly used species. WHO Regional Publications Western Pacific Series No. 2, Manila, 1989, str. xiii, 61, 85, 193, 219.

Wu J, Xue X, Zhang B, Jiang W, Cao H, Wang R, Sun D, Guo R. The protective effects of paeonol against epirubicin-induced hepatotoxicity in 4T1-tumor bearing mice via inhibition of the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway. *Chem Biol Interact*, 2016, 244, 1-8.

Wu JT, Yang GW, Qi CH, Zhou L, Hu JG, Wang MS. Anti-inflammatory activity of platicodin D on alcohol-induced fatty liver rats via TLR4-MYD88-NF- $\kappa$ B signal path. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2016, 13 (4), 176-183.

Xie JY, Di HY, Li H, Cheng XQ, Zhang YY, Chen DF. *Bupleurum chinense* DC polysaccharides attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Phytomedicine*, 2012, 19 (2), 130-7.

Xie P, Cui L, Shan Y, Kang WY. Antithrombotic effect and mechanism of radix paeoniae rubra. *Biomed Res Int*, 2017, 9475074.

Xin T, Zhang F, Jiang Q, Chen C, Huang D, Li Y, Shen W, Jin Y, Sui G. The inhibitory effect of a polysaccharide from *Codonopsis pilosula* on tumor growth and metastasis in vitro. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51 (5), 788-793.

Xu W, Zhong W, Liu J, Liu H, Zhu B. Study on anti-tumor effect of total glycosides from Radix paeoniae rubra in S180 tumor-bearing mice. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2013, 10 (3), 580-5.

Yang F, Dong X, Yin X, Wang W, You L, Ni J. Radix bupleuri: A review of traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Biomed Res Int*, 2017, 7597596.

Yang J, Ren Y, Lou ZG, Wan X, Weng GB, Cen D. Paeoniflorin inhibits the growth of bladder carcinoma via deactivation of STAT3. *Acta Pharm*, 2018, 68 (2), 211-222.

Yu J, Zhu X, Qi X, Che J, Cao B. Paeoniflorin protects human EA.hy926 endothelial cells against gamma-radiation induced oxidative injury by activating the NF-E2-related factor 2/heme oxygenase-1 pathway. *Toxicol Lett*, 2013, 218 (3), 224-34.

Zhang G. An illustrated manual of the commonly used Chinese Material Medica. Beijing, Peoples Medical Publishing House, 2012, str. 7, 410, 544-545.

Zhang H, Yu CH, Jiang YP, Peng C, He K, Tang JY, Xin HL. Protective effects of polydatin from *Polygonum cuspidatum* against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *PloS One*, 2012, e46574.

Zhang HS, Zhou Y, Wu MR, Zhou HS, Xu F. Resveratrol inhibited tat-induced HIV-1 LTR transactivation via NAD (+) -dependent SIRT1 activity. *Life Sci*, 2009, 85 (13-14), 484-489.

Zhao H, Li S, Zhang H, Wang G, Xu G, Zhang H. Saikosaponin A protects against experimental sepsis via inhibition of NOD2-mediated NF- $\kappa$ B activation. *Exp Ther Med*, 2015, 10 (2), 823-827.

Zhao Y, Ma X, Wang J, Zhu Y, Li R, Wang J, He X, Shan L, Wang R, Wang L, Li Y, Xiao X. Paeoniflorin alleviates liver fibrosis by inhibiting HIF-1 $\alpha$  through mTOR-dependent pathway. *Fitoterapia*, 2014, 99, 318-27.

Zheng M, Liu C, Fan Y, Yan P, Shi D, Zhang Y. Neuroprotection by paeoniflorin in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology*, 2017, 116, 412-420.

Zhibi H, Zhengtao W, Peishan X. Monographs for quality evaluation of chinese crude drugs. New York, SCPG Publishing Corporation, 2015, str. 27-32, 71-83.

Zhong SZ, Ge QH, Qu R, Li Q, Ma SP. Paeonol attenuates neurotoxicity and ameliorates cognitive impairment induced by d-galactose in ICR mice. *J Neurol Sci*, 2009, 277 (1-2), 58-64.

Zhou J, Zhou L, Hou D, Tang J, Sun J, Bondy SC. Paeonol increases levels of cortical cytochrome oxidase and vascular actin and improves behavior in a rat model of Alzheimer's disease. *Brain Res*, 2011, 1388, 141-7.

Zhu J, Luo C, Wang P, He Q, Zhou J, Peng H. Saikosaponin A mediates the inflammatory response by inhibiting the MAPK and NF- $\kappa$ B pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Exp Ther Med*, 2013, 5 (5), 1345-1350.

Zhufan X. Practical Traditional Chinese Medicine. Beijing, Foreign Languages Press, 2000, str. 1-4, 218.

## 7. SAŽETAK/SUMMARY

Fitoterapija predstavlja okosnicu sustava tradicionalna kineske medicina koji se već tisućljećima koristi u prevenciji i liječenju bolesti u Kini, a u novije vrijeme je zbog globalizacije sve prisutnija i u ostalim dijelovima svijeta. U cilju proširenja stručnog znanja iz područja fitofarmacije, u ovom radu je teorijski istraženo sedam biljnih droga dobivenih od korijenja kineskih biljaka: *Bupleuri radix*, *Codonopsis radix*, *Moutan cortex*, *Paeoniae radix alba*, *Paeoniae radix rubra*, *Platycodonis radix* i *Polygoni cuspidati rhizoma et radix*. Odabranim drogama po prvi puta su izrađene monografije u važećem devetom izdanju Europske farmakopeje. Proučeni su njihovi biljni izvori, primjena u okviru sustava tradicionalne kineske medicine, recentne znanstvene spoznaje o fitokemijskom sastavu te farmakološkim i kliničkim učincima, kao i farmakopejski postupci za provjeru kakvoće.

Phytotherapy presents the framework of the traditional Chinese medicine system that has been used for the prevention and treatment of diseases in China for millenniums, and due to globalization it has been increasingly present in the rest of the world. For the purpose of expanding the professional knowledge in the field of phytopharmacy, in this thesis have been theoretically investigated seven herbal drugs derived from the roots of Chinese plants: *Bupleuri radix*, *Codonopsis radix*, *Moutan cortex*, *Paeoniae radix alba*, *Paeoniae radix rubra*, *Platycodonis radix* and *Polygoni cuspidati rhizoma et radix*. For the first time selected drugs were made monographs in the current ninth edition of the European Pharmacopoeia. Their plant sources, indication and use in the traditional Chinese medicine system, recent scientific knowledge of phytochemical composition and pharmacological and clinical effects, as well as pharmacopoeia quality control procedures have been studied fully.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Zavod za farmakognoziju  
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### NOVE KINESKE BILJNE DROGE (RADICES) U 9. IZDANJU EUROPSKE FARMAKOPEJE

**Monika Dabo**

#### SAŽETAK

Fitoterapija predstavlja okosnicu sustava tradicionalna kineske medicina koji se već tisućljećima koristi u prevenciji i liječenju bolesti u Kini, a u novije vrijeme je zbog globalizacije sve prisutnija i u ostalim dijelovima svijeta. U cilju proširenja stručnog znanja iz područja fitofarmacije, u ovom radu je teorijski istraženo sedam biljnih droga dobivenih od korijenja kineskih biljaka: Bupleuri radix, Codonopsis radix, Moutan cortex, Paeoniae radix alba, Paeoniae radix rubra, Platycodonis radix i Polygoni cuspidati rhizoma et radix. Odabranim drogama po prvi puta su izrađene monografije u važećem devetom izdanju Europske farmakopeje. Proučeni su njihovi biljni izvori, primjena u okviru sustava tradicionalne kineske medicine, recentne znanstvene spoznaje o fitokemijskom sastavu te farmakološkim i kliničkim učincima, kao i farmakopejski postupci za provjeru kakvoće.

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

Rad sadrži: 74 stranice, 19 grafičkih prikaza i 133 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Tradicionalna kineska medicina; ljekovite biljne droge; fitokemija; farmakološki učinci; Europska farmakopeja; znanstveni dokazi

Mentor: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Marija Kindl**, *viša asistentica-poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Željka Vanić**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Rad prihvaćen: rujan 2018.



## Basic documentation card

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

Diploma thesis

### NEW CHINESE HERBAL DRUGS (RADICES) IN THE NINTH EDITION OF THE EUROPEAN PHARMACOPOEIA

**Monika Dabo**

#### SUMMARY

Phytotherapy presents the framework of the traditional Chinese medicine system that has been used for the prevention and treatment of diseases in China for millenniums, and due to globalization it has been increasingly present in the rest of the world. For the purpose of expanding the professional knowledge in the field of phytopharmacy, in this thesis have been theoretically investigated seven herbal drugs derived from the roots of Chinese plants: Bupleuri radix, Codonopsis radix, Moutan cortex, Paeoniae radix alba, Paeoniae radix rubra, Platycodonis radix and Polygoni cuspidati rhizoma et radix. For the first time selected drugs were made monographs in the current ninth edition of the European Pharmacopoeia. Their plant sources, indication and use in the traditional Chinese medicine system, recent scientific knowledge of phytochemical composition and pharmacological and clinical effects, as well as pharmacopoeia quality control procedures have been studied fully.

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

Thesis includes: 74 pages, 19 figures and 133 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Traditional chinese medicine; herbal drugs; phytochemistry; pharmacological effects; European pharmacopoei; scientific evidence

Mentor: **Biljana Blažeković, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Blažeković, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Marija Kindl, Ph.D.** *Senior Assistant - Postdoktorand*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Željka Vanić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September, 2018

