

# Krkavina (*Frangula alnus* Mili.) - botanički podaci, fitokemijski sastav i biološki učinci

---

**Salopek, Matija; Sušan, Ivan; Bival Štefan, Maja; Jablan, Jasna**

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2016, 72, 651 - 670**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:044070>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

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



# Krkavina (*Frangula alnus* Mill.) – botanički podaci, fitokemijski sastav i biološki učinci

MATIJA SALOPEK, IVAN SUŠANJ, MAJA BIVAL ŠTEFAN<sup>2</sup>, JASNA JABLAN<sup>1</sup>

Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet

<sup>1</sup>Zavod za analitičku kemiju

<sup>2</sup>Zavod za farmakognoziju

A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

## UVOD

U narodnoj je medicini od davnina poznato laksativno djelovanje osušene kore krkavine (*Frangula alnus* Mill., sinonim *Rhamnus frangula* L.) (1, 2) te se ona i danas koristi u liječenju povremene opstipacije (3, 4). Postoje navodi da je još Hieronymus Bock spomenuo koru krkavine u svom djelu »Kreutterbuch« objavljenom 1556., ali ne u smislu purgativa (3,4). U svom djelu »Neu-Kreutterbuch« Matthiolus je naveo laksativna svojstva kore krkavine (3, 5). U današnje vrijeme upotrebu preparata na bazi krkavine kao laksativa s »dobro utemeljenom medicinskom upotrebom« odobrio je Europski parlament i Europska agencija za lijekove (3). Kora krkavine i rjeđe čisti izolirani spojevi iz ove biljke na tržištu su prisutni kao čajevi, tablete ili kapsule. Prema Europskoj farmakopeji pripravak kore krkavine sastoji se od cijele ili rezane osušene kore grana vrste *F. alnus* i sadrži ne manje od 7,0 % glukofrangulina (izraženih kao glukofrangulin A,  $C_{27}H_{36}O_{14}$ ,  $M_r = 578,5$  – izraženo prema suhoj drogi), a naziva se *Frangulae cortex* (4).

Ne može se govoriti o biološkim učincima kore krkavine, a da se ne spomene emodin glavni antrakinon kore, koji pridonosi većini njenih bioloških učinaka. Stoga se u ovom preglednom članku i zajedno razmatraju. Osim već spomenutog laksativnog učinka, u novije vrijeme pokazano je antioksidacijsko, antibakterijsko te antifungalno djelovanje kore krkavine (6, 7). Farmakološka ispitivanja čistog emodina ukazala su da su učinci emodina mnogo širi od njegove već ustaljene uporabe kao purgativa. Tako je ispitivan njegov antivirusni učinak (8), a posebno mjesto zauzimaju istraživanja emodina kao pomoćnog sredstva u kemoterapiji (9, 10). Cilj ovoga članka je dati uvid u rasprostranjenost krkavine i fitokemijski sastav njene kore. Pored

toga dat će se pregled najnovijih istraživanja bioloških učinaka kore krkavine i emodina s posebnim naglaskom na mehanizam pojedinog učinka. Također, navest će se toksičnost kao i nuspojave koje se mogu pojaviti pri liječenju korom krkavine ili emodinom.

## KRKAVINA (*Frangula alnus* Mill.)

### Botanički opis i stanište krkavine

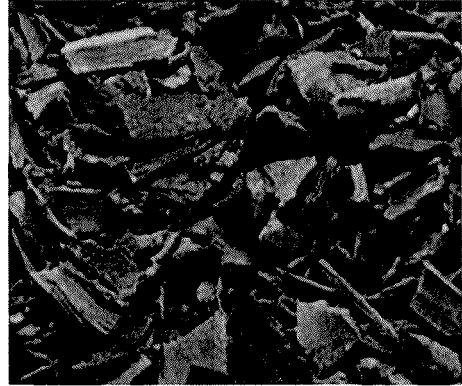
*Frangula alnus* Mill. (sinonim *Rhamnus frangula* L.) biljka je iz porodice Rhamnaceae. Biljke porodice Rhamnaceae najčešće se javljaju u obliku drveća, grmova ili povijuša, vrlo rijetko u obliku zeleni (10). Hrvatski sinonim za *F. alnus* je krkavina, obična krkavina, obična trušljika ili krušina (11, 12).

Krkavinu (slika 1.) nalazimo kao listopadni grm (13), od 1 do 3 m visine, a rjeđe kao manje drvo visine do 7 m. Kora krkavine (14) (slika 2.) je tanka, smečkastosiva, uzdužno ispucana, s unutrašnje strane žuta dok su grančice šibaste, sivkastosmeđe do crvenkastosmeđe s bjelkastim lenticelama, u početku dlakave (15, 16). Ima dobro razvijen i široko razveden korjenov sustav. Naopako jajasti listovi su obično 4 do 7 cm dugi te 3 do 4 cm široki, sa 6 do 9 pari žila. Pupovi su bez ljuski, sastavljeni od smežuranih, dlakavih, tamnožutosmeđih listova (terminalni pupoljak je krupniji od bočnih). Cvjetovi su mali, zelenkasti, dvospolni, sa stapkama dugim do 12 mm, mogu biti pojedinačni ili skupljeni u paštaste cvatove (čuperke), od 5 do 10 članova smještenih u pazušcima listova. Plod krkavine je nejestiva, okruglasta, mesnata koštunica, u početku zelenkasta, zatim crvenkasta, a u zreлом stadiju crnoljubičaste boje. Koštunica je promjera približno 8 mm te sadrži dvije do tri žučkaste, široke diskoidne sjemenke. Krkavina se razmnožava vegetativno i sjemenom (entomofilna je biljka). Cvate od svibnja do lipnja, a plod dozrijeva u rujnu. Jednodomna je biljka koja može doživjeti starost i do 60 godina (12, 17).



Slika 1. Krkavina (a) i (b) – biljna vrsta *Rhamnus Frangula* L.

Ova je biljka rasprostranjena širom Europe, sjeverozapadne Afrike, zapadnog i istočnog Sibira, srednje Azije, Turske, Sirije, sjevernog Irana te Kavkaza. Na području Balkanskog poluotoka najčešće je nalazimo u nižim predjelima u zajednici s vrbom i crnom johom te u brdskim, mezofilnim šumama. Traži svježe i vlažna zemljišta (12). Kora mladih sjajnih grančica krkavine (*Frangulae cortex*) sakuplja se u rano proljeće, od ožujka do svibnja, prije cvjetanja (4, 12).

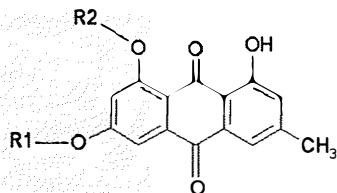


Slika 2. Kora krkavine – *Frangulae cortex*

### Fitokemijski sastav kore krkavine

Istraživanja su pokazala da vrste roda *Frangula*, ovisno o lokalitetu uzorkovanja, sadrže visoki udio korisnih spojeva (6, 18). Oni najizraženiji su: polifenoli, flavonoidi, trjeslovine (tanini) i glukofrangulini. U istraživanju Maleša i suradnika (18) određen je ukupni sadržaj bioaktivnih spojeva koji se mogu naći u kori krkavine na našim prostorima. Rezultati tog istraživanja pokazali su da je udio ukupnih polifenola od 5,57 do 8,30 %, flavonoida od 0,02 do 0,08 %, trjeslovina od 1,44 do 2,42 % i glukofrangulina od 3,7 do 7,6 %. U još jednom istraživanju provedenom na kori krkavine koja je sakupljena u Hrvatskoj, utvrđeno je da je ukupni sadržaj fenola 62 mg/g, a ukupni sadržaj flavonioda 31 mg/g (6). I sljedeće istraživanje potvrdilo je visoki udio ukupnih fenola (116 mg/g) i flavonoida (75 mg/g) u kori krkavine sakupljenoj u Hrvatskoj (19).

Za laksativni učinak kore krkavine odgovorni su antracenski derivati (dolaze u drogama slobodni ili vezani na šećer u obliku glikozida) koji se prema strukturnim obilježjima svrstavaju u antrakinonske O-glikozide. Glukofrangulini su antrakinonski O-glikozidi, spojevi koji se sastoje od antrakinonskog aglikona, emodina, na kojem su O-glikozidnim vezama vezane šećerne komponente (slika 3.). Prema Europskoj farmakopeji, droga se vrednuje prema udjelu glukofrangulina, posebice glukofrangulina A (4). Prema smjernicama pripravak kore krkavine sastoji se od cijele ili rezane osušene kore grana vrste *F. alnus* i sadrži ne manje od 7,0 % glukofrangulina (izraženih kao glukofrangulin A ( $C_{27}H_{30}O_{14}$ ,  $M_r = 578,5$ ) – izraženo prema suhoj drogi). Droga sadrži još i manje količine slobodnih antrakinonskih aglikona, frangula-emodina, emodin-9-antrona i druge antrakinonske glikozide i antrone. U svježoj kori krkavine glukofrangulini se nalaze u reduciranom, a u uskladištenoj u oksidiranom obliku. Budući da se antron O-glikozidi (reducirani oblici) smatraju odgovornim za ozbiljne gastrointestinalne nuspojave, kora krkavine smije se koristiti tek nakon jednogodišnjeg uskladištenja tijekom kojeg dolazi do spontane oksidacije i nastanka oksidiranih antracenskih derivata (3).

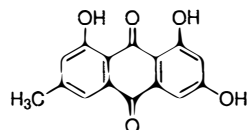


	R1	R2
Frangulin A	$\alpha$ -L-ramnoza	H
Frangulin B	$\beta$ -D-apioza	H
Glukofrangulin A	$\alpha$ -L-ramnoza	$\beta$ -D-glukoza
Glukofrangulin B	$\beta$ -D-apioza	$\beta$ -D-glukoza
Frangula emodin	H	H
Fiscion	CH <sub>3</sub>	H

**Slika 3.** Strukture najpoznatijih antrakinonskih aglikona i heterozida

## Emodin

Prirodni antranoidi, derivati 1,8-dihidroksiantrona spadaju u kategoriju prirodnih fenolnih spojeva. Emodin, sekundarni metabolit prisutan u kori krkavine je 1,3,8-trihidroksi-6-metil-antrakinon (slika 4.), a osim u kori krkavine, prisutan je i u korijenju i kori različitih biljnih vrsta (6, 18). Također, neke plijesni i lišajevi kao sekundarne metabolite mogu proizvesti različite antrakinone, pa tako i sam emodin (7). Smatra se da biljke porodice Rhamnaceae proizvode emodin aceto-malonatnim putem (20). Njegove funkcije u biljnom organizmu raznolike su, a uključuju alelopatsko i antimikrobno djelovanje te zaštitu od vanjskih abiotičkih faktora (20). Kremer i suradnici (6) utvrdili su da je udio emodina u kori krkavine sakupljenoj u Hrvatskoj 2,03 mg/g. Smatra se da je upravo emodin činitelj većine terapijskih učinaka kore krkavine.



**Slika 4.** Struktura emodina

## BIOLOŠKI UČINCI KORE KRKAVINE I EMODINA

### Laksativni učinak kore krkavine i emodina

Konstipacija je problem koji zahvaća u prosjeku 14 do 15 % odrasle populacije te bitno utječe na kvalitetu života pacijenta, a manifestira se kao akutna ili kronična. Obično je uzrokovana načinom života (funkcionalna konstipacija), bolestima (kao što su sindrom iritabilnog crijeva, parkinsonizam, multipla skleroza, moždani udar, hipotireoza, dijabetes, divertikuli ili tumor kolona) ili uporabom lijekova (opioidni analgetici, antacidi s aluminijem i kalcijem, antiparkinsonici, antidepresivi, nadomjesci

željeza, diuretici i antikonvulzivi). U kliničkoj praksi kronična konstipacija se često poistovjećuje s funkcionalnom konstipacijom (21, 22).

Laksativno djelovanje kore krkavine priznato je od službene medicine. Prema smjernicama Europskog parlamenta i EU savjeta za medicinske proizvode namijenjene ljudima, pripravci krkavine spadaju u biljne medicinske proizvode s »dobro utemeljenom medicinskom upotrebom« (3, 23). Preporučena dnevna doza u rasponu je od 10 do 30 mg hidroksiantracenskih derivata. Obično nije potrebno uzimati ovaj tip laksativa više od 2 do 3 puta tjedno (3). Laksativni učinak nastupa za 6 do 12 sati nakon oralnog unosa. Preporuča se kratkoročno uzimanje preparata, obično u trajanju od jednog do najviše dva tjedna za olakšavanje atonične konstipacije, akutne konstipacije, ali ne u slučajevima spastične konstipacije (22). Prema Registru lijekova u Republici Hrvatskoj, u ljekarnama je dostupan Planinski čaj za čišćenje koji sadrži list sene i koru krkavine (24). Pored toga u ljekarnama su još dostupni: Holyplant Purgal (JGL), Alofran (Galenski laboratorij Gradske ljekarne Zagreb), Frangula kora (Suban, Samobor), Laksamol (Pharmas) i drugi proizvodi (tablica 1.).

### Mehanizam laksativnog učinka kore krkavine i emodina

Biljne droge koje sadrže antrakinone ubrajaju se u skupinu stimulirajućih laksativa. Toj skupini pripadaju kora krkavine, aloj, kora američke krkavine, korijen rabarbare te list i plod sene (25). Glikozidi prisutni u kori krkavine djeluju kao prolijekovi. Nakon peroralnog unosa antraglikozidi nepromijenjeni prolaze želudac i tanko crijevo. Mehanizam djelovanja započinje u debelom crijevu gdje se djelovanjem intestinalne flore, odnosno bakterijskih glikozidaza, antracenski glikozidi, cijepaju na šećerne komponente i pripadajuće aglikone (22, 26). Tako oslobođeni aglikon, emodin, slabo se apsorbira iz lumena crijeva te utječe na pokretljivost, apsorpciju i sekreciju crijeva.

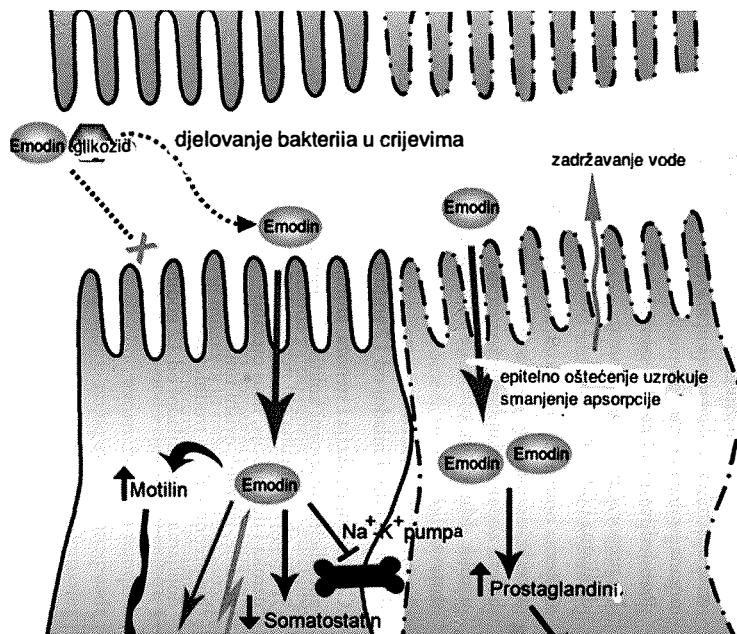
Studije provedene na miševima i štakorima omogućile su uvid u mehanizam djelovanja emodina na pokretljivost crijeva (26). Smatra se da emodin povećava podražljivost glatkog mišićja crijeva na tri načina: (A) povećanjem lučenja motilina (hormon koji povećava pokretljivost crijeva), (B) povećanjem oslobađanja endogenog acetilkolina što omogućuje kontrakciju glatke muskulature crijeva te (C) smanjenjem lučenja somatostatina, hormona koji inhibira funkciju probavnog sustava. Osim djelovanja na podražljivost muskulature crijeva, emodin djeluje i tako što povećava volumen crijevnog sadržaja. Smatra se da emodin može inhibirati aktivnost  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaze, što uzrokuje smanjenu apsorpciju hranjivih tvari (glukoza, aminokiseline, elektroliti). Povećana koncentracija hranjivih tvari u lumenu koje se ne mogu apsorbirati u stanice crijeva dovodi do povišenja osmotskog tlaka unutar lumena crijeva, a tako povišen osmotski tlak uzrokuje difuziju vode iz stanica epitela u lumen crijeva. Povećan obujam crijeva uzrokovan ovim faktorima rezultira olakšanom defekacijom (3, 26). Mehanizam djelovanja emodina na pokretljivost crijeva prikazan je slikom 5.

Tablica 1. Proizvodi dostupni u ljekarnama u Republici Hrvatskoj

Naziv	Ljekoviti oblik	Način registracije	Sastav	Indikacije	Kontraindikacije	Nuspojave
Planinski čaj za čišćenje	Čaj	Lijek A 06 AB	1 g čaja sadrži 0,4 g lista sene (odgovara 10 mg senozida B) 0,2 g <b>kore krkavine</b> (odgovara 14 mg glukofrangulina A) 0,15 g cvijeta kamilice 0,05 g lista paprene metvice 0,05 g ploda kima 0,05 g ploda gorkog komorača 0,05 g ploda borovice 0,05 g korijena sladića	Kratkotrajno liječenje povremene konstipacije Ne preporučuje se primjena dulja od 1–2 tjedna	Intestinalna opstrukcija, stenoza, atonija, apendicitis, upalna bolest crijeva, bolovi u trbuhu nejasnog uzroka. Ozbiljna dehidracija s poremećajem ravnoteže vode i elektrolita. Preosjetljivost na senu ili krkavinu ili bilo koju drugu sastavnicu čaja. Ne preporučuje se trudnicama, dojiljama i djeci mlađoj od 12 godina.	Bolovi u trbuhu i grčevi Tekuća stolica Poremećaj elektrolita kod kronične primjene Klinički neznčajna promjena boje urina
Alofran	Tablete	Galenski pripravak	1 tableta sadrži 220 mg suhog ekstrakta <b>kore krkavine</b> (odgovra 18 mg glukofrangulina A) 20 mg suhog ekstrakta aloja 20 mg suhog ekstrakta lista sene	Kronična opstipacija Priprema crijeva za rendgenske pretrage, pretrage urogenitalnog i gastrointestinalnog trakta Ne preporučuje se primjena dulja od 10 dana	Abdominalni bolovi nepoznatog uzroka, upala slijepog crijeva, upalne bolesti debelog crijeva, atonija crijeva, ileus. Proljev, dehidracija slabost i povraćanje. Preosjetljivost na bilo koji sastojak tableta. Ne preporučuje se trudnicama, dojiljama i djeci mlađoj od 12 godina.	Nelagoda u debelom crijevu, grčevita bol, mučnina Kod dugotrajne primjene lijenost crijeva te proljev uz gubitak elektrolita Promjena boje urina
Herbalaks	Tablete	Galenski pripravak	1 tableta sadrži 220 mg suhog ekstrakta <b>kore krkavine</b> 200 mg inulina 170 mg suhog ekstrakta lista sene	Kratkotrajno liječenje povremene konstipacije Čišćenje crijeva prije rendgenskih snimanja te prije i poslije kirurških zahvata u predjelu trbuha Ne preporučuje se primjena dulja od 10 dana	Ileus, proljev, opstrukcija i /ili stenoza crijeva, bolovi u trbuhu nejasnog uzroka, dehidracija, analna fisura, fistule, proktitis, upalne bolesti crijeva različite vrste opstrukcija, ulceracija i upala organa probavnog trakta. Preosjetljivost na bilo koji sastojak čaja. Ne preporučuje se trudnicama, dojiljama i djeci mlađoj od 12 godina.	Grčevi Vodenasta stolica Promjena boje urina (bezopasana nuspojave ovisna o pH urina) Kod kronične upotrebe može doći do poremećaja ravnoteže elektrolita

Naziv	Ljekoviti oblik	Način registracije	Sastav	Indikacije	Kontraindikacije	Nuspojave
Plantea čaj za čišćenje	Čaj	Galenski pripravak	Čaj sadrži cvijet bazge plod komorača koru krkavine sjemenke lana list sene	Kratkotrajno liječenje povremene konstipacije Ne upotrebljavati dulje od 1–2 tjedna	Ileus, proljev, opstrukcija i /ili stenoza uzroka, dehidracija, analna fisura, fistule, proktitis, upalne bolesti crijeva različite vrste opstrukcija, ulceracija i upala organa probavnog trakta. Preosjetljivost na bilo koji sastojak čaja. Ne preporučuje se trudnicama, dojiljama i djeci mlađoj od 12 godina.	Grčevi Vodenasta stolica Promjena boje urina (bezopasana nuspojava ovisna o pH urina)
Laksamol	Prašak	Dodatak prehrani	1 vrećica sadrži 50 mg suhog ekstrakta kore krkavine 10 mg kristalne laktuloze	Konstipacija Uspostavljanje redovitog pražnjenja crijeva	Crijevna opstrukcija i stenoza, atonija, apendicitis, ulcerozni kolitis, Chronova bolest, abdominalan bol nepoznatog uzroka, dehidracija, oštećenje probavnog sustava. Ne preporučuje se trudnicama, dojiljama i djeci mlađoj od 12 godina.	Nisu navedene
Plantalaks čaj	Čaj	Dodatak prehrani	1 g čaja sadrži 0,3 g kore krkavine 0,2 g ploda komorača 0,2 g lista paprene metvice 0,15 g cvijeta kamilice 0,15 g sjemenki lana	Zatvor Nadutost Ne upotrebljavati dulje od 2 tjedna	Crijevna opstrukcija i stenoza, atonija, apendicitis, ulcerozni kolitis, Chronova bolest, abdominalna bol nepoznatog uzroka i dehidracija, ileus otežano gutanje, hormon ovisni tumori. Ne preporučuje se trudnicama, dojiljama i djeci mlađoj od 12 godina .	Nisu navedene





Slika 5. Mehanizam djelovanja emodina na pokretljivost crijeva

### Antibakterijski i antifungalni učinak kore krkavine i emodina

U novije vrijeme pažnju znanstvene zajednice zaokuplja istraživanje antibakterijskog i antifungalnog učinka kore krkavine i emodina.

Ekstrakt kore krkavine ispitan je na mikroorganizmima *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* i *Microsporium gypseum* pri čemu se kao najosjetljivija na djelovanje ekstrakta kore pokazala Gram pozitivna bakterija *S. aureus*, potom kvasac *C. albicans* te dermatofit *M. gypseum* (6). I u slijedećem istraživanju dokazan je antibakterijski i antifungalni učinak ekstrakta kore krkavine na *S. aureus*, a što je važnije pokazan je učinak kore krkavine na bolnički soj *S. aureus* H9, soj koji je otporan na tretman s meticilinom (27). Pored toga u tom istraživanju je pokazano da kora krkavine pojačava antibakterijsku i antifungalnu aktivnost antibiotika vankomicina i linezolida, ali ne i oksacilina na *S. aureus* i *S. aureus* H9. Potaknuti rezultatima istraživanja, Sadowska i suradnici (27) predložili su kombiniranje kore krkavine i klasičnih antibiotika pri terapiji lokalnih infekcija izazvanih bakterijom *S. aureus*.

Istraživanje provedeno s emodinom na *Helicobacter pylori* pokazalo je da dolazi do inhibicije rasta bakterije ovisno o primijenjenoj dozi emodina (28). Također, ispitana je kombinacija emodina i antibiotika u terapiji *H. pylori* otpornog na lijekove kao što su (MDR-soj, od engl. *multi-drug resistant*) te je postignuto da su antibiotici imali bolji učinak na *H. pylori* u prisustvu emodina (29). Pored toga istraživana je

učinak emodina na formiranje bakterijskog biofilma. Pokazano je da emodin već pri koncentraciji od 20  $\mu\text{M}$  može inhibirati formiranje biofilma *P. aeruginosa* te da povećava aktivnost antibiotika ampicilina na *P. aeruginosa*, čineći time ovu bakteriju, koja je jedan od glavnih bolničkih patogena, osjetljivijom na djelovanje navedenog antibiotika (30). U istraživanju na *Streptococcus mutans*, bakteriji koja se smatra jednom od primarnih uzročnika karijesa, koncentracija emodina niža od minimalne inhibitorne koncentracije (sub-MIC, od engl. *minimum inhibitory concentration*) djelovala je na smanjenje formiranja biofilma (31). Sličan učinak sub-MIC koncentracije emodina postignut je kod *S. suis* (32).

Antifungalni učinak metanolnog ekstrakta kore krkavine uspoređen je s antifungalnim učinkom emodina na vrstama *Trichoderma viride*, *Doratomyces stemonitis*, *Aspergillus niger*, *Penicillium verrucosum*, *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans* i *Mucor mucedo*. Rezultati istraživanja pokazali su da emodin ima učinak na pojedine vrste, no njegovo djelovanje bilo je nešto slabije od metanolnog ekstrakta kore krkavine (7).

Mehanizmi antibakterijskog i antifungalnog djelovanja kore krkavine i emodina još se istražuju, a dosadašnja istraživanja upućuju da kora krkavine i emodin interferiraju sa staničnim strukturama i procesima unutar mikroorganizma (27). Poznato je da su biljni ekstrakti lipofilni te slobodno prolaze stanične stjenke i membrane te pri tome mijenjaju permeabilnost membrana (27). Zbog promjene permeabilnosti membrane dolazi do promjene potencijala membrane i njene fluidnosti što ima za posljedicu osmozu i potom smrt mikroorganizma. Za emodin je pokazano da posjeduje velik afinitet za fosfolipide membrane te se smatra da djeluje tako što narušava strukturu bioloških membrana smanjenjem hidrofobnih interakcija među ugljikovodičnim lancima fosfolipidnog dvosloja (31, 33). Smatra se da je upravo to i mehanizam kojim kora krkavine i emodin »pojačavaju« učinak antibiotika. Povećavanjem permeabilnosti stanične stjenke mikroorganizma omogućen je lakši ulazak antibiotika u stanicu (27). Kao drugi mogući mehanizam antimikrobnog učinka navodi se prooksidativno djelovanje fitokemijskih sastavnica pa tako i emodina (27). Naime, pokazano je da emodin u stanici može izazvati pojačano nastajanje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, od engl. *reactive oxygen species*), što dovodi do oksidacije makromolekula i posljedično poremećaja u metabolizmu te smrti stanice (26, 27).

### Antivirusni učinak kore krkavine i emodina

U posljednjih nekoliko desetljeća pažnja je posvećena ispitivanju antivirusnog učinka mnogih prirodnih spojeva, uključujući antrakinone i njihove derivate.

Sydiskis i suradnici (8) pokazali su da ekstrakti biljaka koje sadrže antrakinonske derivate mogu djelovati virucidno. Eksperiment je, uz još nekoliko biljnih vrsta koje se koriste u tradicionalnoj medicini, uključivao ekstrakt kore krkavine. Ekstrakt kore krkavine u periodu inkubacije od 15 minuta bio je virucidan za herpes simpleks virus tip

1 (HSV-1). U istom istraživanju pripremljen je pročišćen aloe-emodin (spoj strukture vrlo slične emodinu) te je njegovo virucidno djelovanje ispitano na više virusa. Aloe-emodin pokazao se učinkovitim za viruse koji imaju ovojnica: HSV-1, herpes simpleks virus tip 2 (HSV-2), varicella-zoster virusa (VZV), pseudorabies virusa (PSV) i influenza virusa (INF), a nije imao utjecaja na viruse bez ovojnice kao što su adenovirus i rinovirus. Stoga su autori zaključili da je mogući mehanizam virucidnog djelovanja antrakinona izravno djelovanje na virusnu ovojnicu (8). U istraživanju Hsiang i Ho (34) dokazan je virucidni učinak emodina na HSV-1 te je pokazano da emodin inhibira nukleaznu aktivnost HSV-1 (direktno inhibirajući alkalnu nukleazu UL12). Pri ispitivanju različitih antrakinona uočeno je da emodin ima virucidan učinak na humani citomegalovirus (HCMV), međutim nije bio učinkovit na ganciklovir-otpornu vrstu HCMV (35). U *in vivo* studiji provedenoj na transgeničnim miševima inficiranim virusom hepatitisa B (HBV) uspoređen je učinak emodina u kombinaciji s polisaharidima vrste *Astragalus membranaceus* s djelovanjem lamivudina (nukleozidni analog, inhibitor reverzne transkriptaze koji se koristi u liječenju kroničnog hepatitisa B) (36). Rezultati su pokazali da, iako je izravno djelovanje lamivudina na replikaciju bilo jače od djelovanja emodina, emodin u kombinaciji s polisaharidima vrste *A. membranaceus* pokazuje dugotrajniju inhibiciju replikacije virusa *in vivo*. Zbog toga je predloženo da emodin može biti dodatak terapiji u liječenju infekcija hepatitisom B. Nedavna studija pokazala je da emodin može inhibirati replikaciju virusa gripe (influenza virus) soj H1N1 u stanicama pluća (A549) (37). U toj je studiji pokazano da emodin inhibira ekspresiju hemaglutinina, glikoproteina odgovornog za adherenciju virusa, te na taj način sprječava penetraciju virusa u stanicu i njegovu posljedičnu replikaciju. Istodobno, emodin je u plućnim stanicama pojačao ekspresiju gena za interferon- $\beta$  (IFN- $\beta$ ) djelovanjem na transkripcijske faktore IRF-5 i IRF-7 (regulatorni čimbenik interferona-7 i -5).

Brojne su studije provedene da bi se utvrdio mehanizam antivirusnog djelovanja antrakinona pa tako i emodina (8, 34, 37, 38). Iako je potrebno još mnogo istraživanja i mnogo podataka, zbog sposobnosti da djeluje na virusnu ovojnicu, inhibira replikaciju virusa, regulira ekspresiju čimbenika invazivnosti virusa te potiče domaćina virusa na lučenje antivirusnih tvari kao što je INF- $\beta$ , emodin može biti potencijalna nadopuna klasičnim antivirusnim lijekovima.

### Antioksidacijski učinak kore krkavine i emodina

Neravnoteža između prooksidansa i antioksidansa, koja potencijalno može uzrokovati štetu u stanici pa tako posljedično i oštećenja u organizmu, naziva se oksidacijskim stresom. Oksidacijski stres povezuje se s patogeneзом niza bolesti, između ostaloga i s nastankom raka (39). Antioksidansi su spojevi koji značajno odgađaju ili inhibiraju oksidaciju nekog supstrata koji je podložan oksidaciji (40). Veliki je broj

antioksidansa biljnog podrijetla među kojima istaknutu skupinu čine polifenolni spojevi koji su danas predmetom brojnih istraživanja zbog svoje sposobnosti razgradnje slobodnih radikala i inhibicije enzima uključenih u oksidacijske procese (41).

U nekoliko istraživanja pokazano je da postoji povezanost antioksidacijske aktivnosti ekstrakata biljaka iz porodice Rhamnaceae i njihovog sadržaja polifenola. U istraživanju Kremera i suradnika (6) pomoću više antioksidacijskih testova (test reducirajuće snage ekstrakta,  $\beta$ -karoten-linolni test i DPPH test) pokazano je da ekstrakt kore krkavine posjeduje dobra antioksidacijska svojstva što su autori pripisali visokom sadržaju polifenola u kori krkavine. I u sljedećem istraživanju pomoću serije testova (DPPH test, ABTS i FRAP test) dokazano je da ekstrakt kore krkavine pokazuje umjerenu antioksidacijsku aktivnost koja je također pripisana visokom udjelu polifenola (19).

U istraživanju Radić Brkanac i suradnika (19) pokazano je da emodin nema značajan antioksidacijski učinak. I u istraživanju Lin i suradnika (42) pokazano je da emodin ima slabije antioksidacijsko djelovanje od ekstrakta lista i kore biljke *Polygonum multiflorum*. No, autori su zaključili da iako emodin ima slabu antioksidacijsku aktivnost, ipak zajedno s ostalim sastojcima lista i kore biljke, pridonosi njihovom antioksidacijskom djelovanju. Pri ispitivanju antioksidacijske aktivnosti više antrakinona i antrona pokazano je da je mogući antioksidacijski mehanizam emodina vezanje hidroksilnih radikala (43). I u nedavnom istraživanju Sevcovicova i suradnici (44) pokazali su da emodin ima slabu antioksidacijsku aktivnost. U tom istraživanju nešto bolje rezultate emodin je pokazao u DPPH i testu redukcijske sposobnosti, a sposobnost stvaranja kelatnih kompleksa (vezanje s  $Fe^{2+}$ ) za emodin nije pokazana, što potvrđuje mogućnost da emodin djeluje kao »hvatač« hidroksilnih radikala.

### Antitumorski učinak emodina

Brojna istraživanja upućuju da emodin, zbog prooksidacijskog svojstva, ima antitumorski učinak (10, 21, 45–49). Kemijska struktura emodina (slika 3.) ukazuje na njegovo prooksidacijsko djelovanje. Naime, emodin kao dobar elektronakceptor u stanici reagira s molekulskim kisikom te tako dovodi do stvaranja superoksidnog aniona (26). Povećano stvaranje ROS-ova u stanici, izazvano emodinom, dovodi do promijene antioksidacijskog kapaciteta stanice, a takva stanica (smanjenog antioksidacijskog kapaciteta) osjetljivija je na djelovanje kemoterapeutika.

Upravo taj mehanizam potvrđen je u više pokusa (9, 10, 46, 49). Na staničnim linijama raka jednjaka (EC/CUHK1), raka grlića maternice (HeLa) i leukemije (NB4) emodin je, povećanjem razine ROS-ova u tumorskim stanicama, povećao osjetljivost tumorskih stanica na djelovanje  $As_2O_3$  (7). U toj studiji navedeni mehanizam potvrđen je i u *in vivo* pokusu na miševima te je pokazano da pri tome zdrave stanice ostaju intaktne. Pokazano je da se kombinacija emodina s  $As_2O_3$  ponaša kao promotor

apoptoze, odnosno da kombinacija emodina s  $As_2O_3$  dovodi do pada mitohondrijskog membranskog potencijala, otpuštanja citokroma c kroz membrane mitohondrija do citoplazme što aktivira kaspaze 3 i 9. Uz to, dolazi do supresije antiapoptotičkih gena i proteina inaktivacijom transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B (nuklearni faktor  $\kappa$ B) te supresije sinteze specifičnog proteina survivina. Iz toga proizlazi da emodin ima dvojnju ulogu, i da promovira apoptozu, ali i da istodobno inhibira antiapoptozni put (9). Wang i suradnici (46) ispitali su učinak kombinacije emodin s cisplatinom na stanicama raka žučnog mjehura (SGC996) te su pokazali da emodin može pojačati apoptotski učinak cisplatina ovisno o količini nastalih ROS-ova, a predloženi mehanizam je supresija proteina survivina. I u ovom istraživanju proveden je eksperiment na miševima te je pokazano da emodin pojačava aktivnost cisplatina bez značajnog toksičnog učinka na normalna tkiva. Istraživanja na stanicama karcinoma jajnika (COC1) potvrdila su ova opažanja, a zanimljivo emodin je pojačao učinak cisplatina (cisplatinom izazvanu apoptozu) na COC1/DDP staničnu liniju koja je inače otporna na cisplatin (49). Isti istraživači na miševima su pokazali da emodin pojačava učinak cisplatina na cisplatin-otporni tumor, a istodobno sam emodin nije imao učinak na tumorske stanice. Kao predloženi mehanizam navedeno je smanjenje ekspresije MRP1 proteina (od engl. *multidrug resistance-associated protein* 1) kojeg se smatra odgovornim za otpornost stanica karcinoma prema cisplatinu. Upravo stoga što može potisnuti ekspresiju gena MDR1 emodin se pokazao kao učinkovito rješenje za intrinzičnu i stečenu otpornost stanica raka (10).

Osim potencijalne uporabe emodina kao nadopune terapiji klasičnim kemoterapeutcima provedena su ispitivanja utjecaja emodina u monoterapiji *in vitro*. Pokazalo se da emodin na stanicama ljudskog raka debelog crijeva (HCT116) također kao prooksidans može inducirati apoptozu i to p53-mitohondrijskog puta apoptoze; zabilježen je pad mitohondrijskog transmembranskog potencijala, povećana ekspresija p53, povećana ekspresija proapoptotičkog faktora Bax, smanjena ekspresija Bcl-2 proteina (inhibitor faktora Bax) te pojava citokroma c u citoplazmatskom prostoru (48). Osim toga, ujecaj emodina ispitan je na stanicama tumora ginekološkog podrijetla, a korištene su stanice raka grlića maternice (HeLa), koriokarcinom (JAR) i rak jajnika (HO-8910) (21). Rezultati tog istraživanja pokazuju da emodin, ovisno o dozi, smanjuje proliferaciju i invazivni kapacitet zloćudnih stanica te da uzrokuje apoptozu (preko kaspaza 3 i 9). Pored toga emodin je zaustavio stanični ciklus u G0/G1 fazi, mehanizmom koji uključuje smanjenu ekspresiju ciklina D i E – ključnih proteina uključenih u regulaciju staničnog ciklusa te je uzrokovao autofagosomalnu staničnu smrt, mehanizmom povećane ekspresije MAP LC3 autofagosomalnih markera i smanjene ekspresije Beclin-1 i Atg12-Atg-5 autofagnih regulatora. U tom je istraživanju pokazano da emodin djeluje anti-angiogeno, smanjujući ekspresiju ključnih faktora angiogeneze VEGF i VEGFR-2 (21). Rezultati slični ovima dobiveni su

na stanicama raka gušterače (linija SW1990) gdje je emodin pokazao antiproliferativne i antimetastatske učinke (47).

## TOKSIČNI UČINCI KORE KRKAVINE I EMODINA

Za sada ne postoji velik broj studija koje sa sigurnošću mogu potvrditi toksičnost i kancerogenost kore krkavine. Dobro je poznata korelacija između pojavnosti *melanosis coli* (stanja koje se odlikuje pojavom smeđe pigmentacije crijeva) i kronične upotrebe antranoidnih laksativa (50). *Melanosis coli* razvija se obično tek pri kroničnoj uporabi antranoidnih laksativa, a povlači se s prestankom uporabe ovih preparata, što se može potvrditi endoskopskim pregledom (51). Jedno vrijeme smatralo se da upotreba antranoidnih laksativa i pojava *melanosis coli* znatno povećavaju rizik nastanka novotvorina (52), ali u istraživanjima koja su uslijedila donesen je zaključak da je uloga antranoidnih laksativa (barem u preporučenim dozama), razvitka *melanosis coli* i konstipacije u razvoju raka crijeva vrlo malena (3, 53, 54). Poznat je barem jedan slučaj u kojemu je došlo do razvoja kolorektalnog adenoma pri upotrebi bezreceptnog lijeka koji je sadržavao aloj, krkavinu i rabarbaru u obliku tablete (51). No, u ovom se slučaju ne radi o zdravom pojedincu, već o pacijentu kojem je nekoliko godina ranije transplantirana jetra, a bolovao je i od ulcerativnog kolitisa. Uz sve to uporaba laksativnih preparata bila je prekomjerna i kronična u trajanju od 10 mjeseci, bez znanja liječnika. Osim toga, pacijent je nakon transplantacije jetre bio podvrgnut terapiji imunosupresivnim lijekovima, što uvelike pridonosi riziku nastanka novotvorina (51). Ipak, ne može se u potpunosti zanemariti toksični učinak kore krkavine, a novija istraživanja dala su bolji uvid u toksičnost kore krkavine. Dokazano je da ekstrakt kore krkavine u koncentraciji od 500 µg/mL ima citotoksičan učinak na humane periferne krvne limfocite (HPBL, od engl. *human peripheral blood lymphocytes*), a pri istoj koncentraciji dolazi i do značajnog oštećenja DNA stanica (19). Oksidativni stres predložen je kao jedan od mehanizama uključenih u ove procese.

Suprotno tome, provedena su mnoga istraživanja toksičnosti emodina. Podaci dobiveni istraživanjima na miševima pokazuju da akutna toksičnost emodina, LD<sub>50</sub> (letalna doza za 50 % testnih organizama) iznosi 35 mg/kg kod intraperitonealne primjene, odnosno 1000 mg/kg kod *per os* unosa (3). Postoje istraživanja koja potvrđuju genotoksične i mutagene učinke emodina na stanicama sisavaca. U tim istraživanjima Mueller i suradnici (55, 56) zaključili su da je za takav učinak odgovorna inhibicija enzima topoizmeraza II, točnije inhibicija interakcije između tog enzima i DNA. I u kasnijim istraživanjima potvrđena je mutagenost (Ames test) i genotoksičnost (komet test; na HPBL) emodina koja je bila ovisna o visini primijenjene koncentracije emodina (44). Osim sposobnosti inhibicije interakcije topoizomeraze II i DNA, smatra se da genotoksičnost može biti uzrokovana i mehanizmom oksidacijskog stresa (19). U istraživanju na HPBL stanicama citotoksična koncentracija emodina bila je

150 µg/mL, a genotoksična 200 µg/mL. U ovom istraživanju zabilježen je značajan porast ROS-ova već pri koncentraciji 25 µg/mL što potvrđuje tezu da oksidativni stres pridonosi genotoksičnosti emodina (19). Godine 2001. objavljena je NTP (*National Toxicology Program/U.S. Department of Health and Human Service*) studija čiji je cilj bio ispitati toksičnost i moguću kancerogenost emodina *in vivo* (57). Studija je provedena na miševima i štakorima, a obuhvaćala je ispitivanja u trajanju od 16 dana, od 14 tjedana i od 105 tjedana (2 godine). Pored toga mutagenost je ispitivana na *Salmonella typhimurium* (TA97, TA98 i TA100 sojevima) sa i bez metaboličke aktivacije, a genotoksičnost na epitelnim stanicama jajnika hrčka. U zaključku studija navodi da dokazi kancerogenosti emodina nisu pronađeni na mužjacima štakora i ženka miševa, dok u slučaju ženki štakora i mužjaka miševa dokazi nisu jednoznačni. No, emodin je bio mutagen za *S. Typhimurium* soj TA100 s metaboličkom aktivacijom i genotoksičan (test ispitivanja kromosomskih aberacija) za stanice jajnika hrčka, ali nije izazvao formiranje mikronukleusa (u stanicama koštane srži štakora). Naposljetku, važno je napomenuti da iako je apsorpcija emodina iz crijeva malena, zbog čega je koncentracija koju je moguće postići pri peroralnom unosu izrazito niska, treba voditi računa o mogućnosti lokalne akumulacije ovog spoja nakon ingestije (55). Također, treba voditi računa o činjenici da usprkos visokoj koncentraciji antrakinona prisutnoj u nekim proizvodima iz prirodnih izvora (hrana, dodaci prehrani) koncentracija mutagenih tvari u proizvodu nije dovoljan uvjet za postizanje mutagenosti *in vivo*. Osim toga, učinak spojeva protektivnog djelovanja koji se također mogu naći u ovim pripravcima može kompenzirati ili posve poništiti negativne učinke nekih drugih sastavnica (56).

## KONTRAINDIKACIJE, MJERE OPREZA I PREDOZIRANJE

Zabilježeni su slučajevi preosjetljivosti na antranoidne laksative (4). Preparati se ne smiju koristiti u slučaju intestinalne opstrukcije i stenoze, atonije, apendicitisa, upalnih bolesti crijeva (Crohnova bolest, ulcerativni kolitis), abdominalne boli nepoznatog uzroka, teške dehidracije niti kod pacijenata s poremećajem funkcije bubrega.

Pacijenti koji koriste kardiotonične glikozide, antiaritmike, diuretike, lijekove koji mogu produljiti QT-interval, kortikosteroide ili korijen sladića (*Liquiritiae radix*) prije uporabe lijeka obavezno se trebaju konzultirati sa svojim liječnikom. Nakon uzimanja preparata koji sadrže koru krkavine moguća je pojava grčeva, što zahtijeva sniženje doze (58). U slučaju svakodnevne potrebe za laksativima potrebno je ispitati uzrok konstipacije. Dugotrajna upotreba laksativa se izbjegava zbog mogućnosti oštećenja funkcije gastrointestinalnog sustava i pojave *melanosis coli*. Također, dugotrajna upotreba može dovesti do poremećaja u ravnoteži elektrolita, osobito do gubitka kalija te albuminurije i hematurije (58). Uporaba preparata na bazi kore krkavine

preporuča se samo ako promjene u načinu života i prehrani pacijenta nisu polučile zadovoljavajući učinak. Ne postoje podaci o pojavnosti neželjenih učinaka kod trudnica ni teratogenosti pri pridržavanju preporučenih doza – bez obzira na to, zbog moguće genotoksičnosti uporaba ovih preparata ne preporuča se u trudnoći. Osim toga, antranoidni metaboliti pojavljuju se u majčinu mlijeku, stoga se preparati koji sadrže koru krkavine ne koriste za vrijeme laktacije (59). Pacijente treba upozoriti da metaboliti mogu obojati urin u crvenosmeđu boju, što je bezopasna pojava (58), ali može utjecati na neke biokemijske testove (59).

Simptomi predoziranja antranoidnim laksativima uključuju jaku abdominalnu bol praćenu obilnim dijarejama što vodi do dehidracije i gubitka elektrolita. Gubitak kalija posebice je opasan jer može dovesti do srčanih problema i mišićne astenije, što je posebno izraženo kod bolesnika koji uzimaju antiaritmike, kardiotionične glikozide, diuretike, kortikosteroide ili korijen sladića. Korištenje preparata koji sadrže koru krkavine s lijekovima i pripravcima koji uzrokuju hipokalemiju, kao što su diuretici, kortikosteroidi i korijen sladića, mogu pogoršati neravnotežu elektrolita. Predoziranje se liječi simptomatski, nadoknadom tekućine i elektrolita. Smatra se da kronično unošenje pretjeranih doza može uzrokovati toksični hepatitis (1).

## SAŽETAK

Laksativno djelovanje osušene kore krkavine (*Frangula alnus* Mill., sinonim *Rhamnus frangula* L.) poznato je od davnina te se ona i danas koristi u liječenju opstipacije. Europski parlament i EU savjet za medicinske proizvode namijenjene ljudima odobrio je preparate na bazi krkavine kao biljne medicinske proizvode s »dobro ustanovljenom medicinskom upotrebom«. U današnje vrijeme u Republici Hrvatskoj dostupni su različiti fitopripravci krkavine u obliku čajeva, tableta ili praškova. Za terapijski učinak kore krkavine odgovorni su antracenski derivati koji čine skupinu farmakološki aktivnih prirodnih spojeva izraženog laksativnog djelovanja i glavne su djelatne sastavnice biljnih droga. Glavni antrakinon kore krkavine je emodin te on pridonosi većini njenih bioloških učinaka. Novija istraživanja pokazala su da je učinak kore krkavine i emodina puno širi od samo laksativnog učinka te je pokazan antimikrobni, antivirusni, antifungalni i antioksidacijski učinak kore i emodina. Pored toga za emodin je pokazan i antitumorski učinak. No, osim bioloških učinaka, za koru krkavine i za emodin pokazana su i toksična svojstva. Stoga liječenje opstipacije preparatima na bazi kore krkavine mora biti kratkotrajno.



## *Frangula alnus* Mill. Bark – botanical data, phytochemical composition and biological effects

M. Salopek, I. Sušanj, M. Bival Štefan, J. Jablan

### Abstract

Laxative property of dried bark of *Frangula alnus* Mill. (synonym *Rhamnus frangula* L.) is known for centuries and it is still in use in treatment of constipation. Medicines based on *F. alnus* bark (Frangulae cortex) according to the EU parliament and European medicines agency products for human use are considered as medicinal products with »well-established medicinal use«. Nowadays on Croatian's market are available *F. alnus*-based preparations in the form of tea, pills or powders. Laxative property of *F. alnus* bark is attributed to its main constituents, anthraquinones, anthracene derivatives which are class of the pharmacologically active natural compounds. The main anthraquinone present in the bark of *F. alnus* is emodin and laxative property of *F. alnus* bark is directly connected to emodin. However, recent studies have shown that biological effects of *F. alnus* bark and its main anthraquinone emodin are much broader than just a laxative effect. It is shown that they have antimicrobial, antiviral, antifungal and antioxidant effect. Furthermore, for emodin is shown anti-tumour effect. Except to their positive biological effects, it is demonstrated that bark of *F. alnus* and emodin are toxic. Therefore, treatment of constipation with medicines based on bark of *F. alnus* should only be considered for short term use.

**Zabvala** – Autori zahvaljuju izv. prof. dr. sc. Ana-Mariji Domijan na pomoći pri odabiru teme i savjetima pri pisanju članka.

### Literatura – References

1. Nikolić T. ed. Flora Croatica Database 2015. University of Zagreb, Faculty of Science (<http://hirc.botanic.hr/fcd/>), datum pristupa veljača 2016.
2. Domac R. Flora Hrvatske – Priručnik za određivanje bilja. Zagreb: Školska knjiga, 2002.
3. EMEA/HMPC: Community herbal monograph on frangula bark (frangulae cortex). Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_Community\\_herbal\\_monograph/2009/12/WC500018606.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Community_herbal_monograph/2009/12/WC500018606.pdf), datum pristupa veljača 2016.
4. Europska farmakopeja, 6 izdanje. European Pharmacopoeia Online, <http://online6.edqm.eu/ep802/>, datum pristupa veljača 2016.
5. Madaus, Lehrbuch der Biologischen Heilmittel, Georg Thieme, Leipzig: Verlag, 1938.
6. Kremer D, Kosalec I, Locatelli M, Epifano F, Genovese S, Carlucci G, Zovko Končić M. Anthraquinone profiles, antioxidant and antimicrobial properties of *Frangula rup-estris* (Scop.) Schur and *Frangula alnus* Mill. Bark. Food Chemistry. 2012; 131: 1174–1180.
7. Manojlović NT, Solujić S, Sukdolak S, Milošev M. Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaccacera*. Fitoterapia. 2005; 76: 244–246.

8. Sydiskis RJ, Owen DG, Lohr JL, Rosler KH, Blomster RN. Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1991; 35: 2463–2466.
9. Yang J, Li H, Chen YY, Wang XJ, Shi GY, Hu QS, Kang XL, Lu Y, Tang XM, Guo QS, Yi J. Anthraquinones sensitize tumor cells to arsenic cytotoxicity in vitro and in vivo via reactive oxygen species-mediated dual regulation of apoptosis. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2004; 37: 2027–2041.
10. Huang XZ, Wang J, Huang C, Chen YY, Shi GY, Hu QS, Yi J. Emodin enhances cytotoxicity of chemotherapeutic drugs in prostate cancer cells. *Cancer Biology & Therapy*. 2008; 7: 1–8.
11. Kušan F. Ljekovito i drugo korisno bilje. Zagreb: Poljoprivredni nakladni zavod, 1956.
12. Grdinić V, Kremer D. Ljekarnički priručnik 1: Ljekovito bilje i ljekovite droge – farmakoterapijski, botanički i farmaceutski podaci. Zagreb: Hrvatska Ljekarnička komora, 2009.
13. <http://www.val-znanje.com/index.php/ljekovite-biljke/1080-krkavina-rhamnus-frangula-l>, datum pristupa veljača 2016.
14. <https://herbalref.com/rhamnus-frangula-bark-frangulae-cortex/>, datum pristupa veljača 2016.
15. Herman J. Šumarska dendrologija. Zagreb: Stanbiro, 1971.
16. Borzan Ž. Imenik drveća i grmlja – latinski, hrvatski, engleski, njemački, sa sinonimima. Hrvatske šume, p.o. Zagreb, Zagreb: 2001.
17. Šilić Č. Atlas dendroflora (drveće i grmlje) Bosne i Hercegovine, Matica hrvatska Čitluk, Franjevačka kuća Masna Luka, I. Izdanje. 2005.
18. Maleš Ž, Kremer D, Randić Gašpar Z, Randić M, Pilepić Hazler K, Bojic M. Quantitative analysis of glucofrangulins and phenolic compounds in croatian *Rhamnus* and *Frangula* species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 2010; 52: 108–113.
19. Radić Brkanac S, Gerić M, Gajski G, Vujčić V, Garaj-Vrhovac V, Kremer D, Domijan A-M. Toxicity and antioxidant capacity of *Frangula alnus* Mill. Bark and its active component emodin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2015; 73: 923–929.
20. Izhaki I. Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. *New Phytologist*. 2002; 155: 205–217.
21. Wang X, Yin J. Complementary and Alternative Therapy for Chronic Constipation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015.
22. Cirillo C, Capasso R. Constipation and Botanical Medicines: An Overview. *Phytother. Res*. 2015.
23. European Parliament and the Council of the European Union. EU Directive 2001/83/EC of the European parliament and the Council of the European Union, Official Journal of the European Communities. 2001.
24. Bencarić L. Registar lijekova u Hrvatskoj. Zagreb: Udruga poslodavaca u zdravstvu, 2015.
25. Kuštrak D. Farmakognozija Fitofarmacija. Zagreb: Golden marketing – Tehnička knjiga, 2005.

26. Srinivas G, Babykutty S, Sathiadevan PP, Srinivas P. Molecular mechanism of emodin action: Transition from laxative ingredient to an antitumor agent Medicinal Research Reviews. 2007; 27: 591–608.
27. Sadowska B, Paszkiewicz M, Podsędek A, Redzyna M and Rożalska B. Vaccinium myrtillus leaves and Frangula alnus bark derived extracts as potential antistaphylococcal agents. Acta Biochimica Polonica. 2014; 61: 163–169.
28. Wang HH, Chung JG, Ho CC, Wu LT, Chang SH. Aloe-emodin effects on arylamine N-acetyltransferase activity in the bacterium Helicobacter pylori. Planta Med. 1998; 64
29. Huang Y-Q, Huang G-R, Wu M-H, Tang H-Y, Huang Z-S, Zhou X-H, Yu W-Q, Su J-W, Mo X-Q, Chen B-P, Zhao L-J, Huang X-F, Wei H-Y, Wei L-D. Inhibitory effects of emodin, baicali, schizandrin and berberine on hefA gene: Treatment of Helicobacter pylori induced multidrug resistance. World J. Gastroenterol. 2015; 21 (14): 4225–4231.
30. Ding X, Yin B, Qian L, Zeng Z, Yang Z, Li H, Lu Y, Zhou S. Screening for novel quorum-sensing inhibitors to interfere with the formation of Pseudomonas aeruginosa biofilm. Journal of Medical Microbiology. 2011; 60: 1827–1834.
31. Coenye T, Honraet K, Rigole P, Jimenez PN, Nelis HJ. In Vitro Inhibition of Streptococcus mutans Biofilm Formation on Hydroxyapatite by Subinhibitory Concentrations of Anthraquinones. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2007; 51: 1541–1544.
32. Yang Y-B, Wang S, Wang C, Huang Q-Y, Bai J-W, Chen J-Q, Chen X-Y, Li Y-H. Emodin affects biofilm formation and expression of virulence factors in Streptococcus suis ATCC700794. Arch Microbiol. 2015; 197: 1173–1180.
33. Alves DS, Perez-Fons I, Estepa A, Micol V. Membrane-related effects underlying the biological activity of the anthraquinones emodin and barbaloin. Biochem. Pharmacol. 2004; 68: 549–561.
34. Hsiang C-Y, Ho T-Y. Emodin is a novel alkaline nuclease inhibitor that suppresses herpes simplex virus type 1 yields in cell cultures. British Journal of Pharmacology. 2008; 155: 227–235.
35. Barnard DI, Huffman JS, Morris JL, Wood SG, Hughes BG, Sidwell RW. Evaluation of the antiviral activity of anthraquinones, anthrones and anthraquinone derivatives against human cytomegalovirus. Antiviral Research. 1992; 17:63–77.
36. Dang S-S, Jia X-L, Song P, Cheng Y-A, Zhang X, Sun M-Z, Liu E-Q. Inhibitory effect of emodin and Astragalus polysaccharide on the replication of HBV. World J Gastroenterol. 2009; 15: 5669–5673.
37. Lin C-J, Lin H-J, Chen T-H, Hsu Y-A, Liu C-S, Hwang G-Y, Wan L. Polygonum cuspidatum and Its Active Components Inhibit Replication of the Influenza Virus through Toll-Like Receptor 9-Induced Interferon Beta Expression. Plos One. 2015; 10: 1–13.
38. Li S-W, Yang T-C, Lai C-C, Huang S-H, Liao J-M, Wan L, Lin Y-J, Lin C-W. Antiviral activity of aloe-emodin against influenza A virus via galectin-3 up-regulation. European Journal of Pharmacology. 2014; 738: 125–132.
39. Kujundžić M. i suradnici. Klinička patofiziologija za studente Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. FBF, Zagreb, 2003.
40. Čepelak I, Dodig S. Glutation i oksidacijski stres. Biochemia Medica, 2004; 13, 93–100.
41. Vladimir Knežević S, Blažeković B, Bival Štefan M, Babac M. Plant polyphenols as Antioxidants Influencing the Human Health. Phytochemicals as Nutraceuticals –

- Global Approaches to their Role in Nutrition and Health. Rao V (ur). In Tach, Rijeka, Hrvatska.
42. Yen GC, Chen HW, Duh PD. Antioxidative activity of anthraquinones and anthrone. *Food chemistry*. 2000; 70: 437–441.
  43. Lin H-T, Nah S-L, Huang Y-Y, Wu S-C. Potential Antioxidant Components and Characteristics of Fresh *Polygonum multiflorum*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2010; 18: 120–127.
  44. Sevcovicova A, Bodnarova K, Loderer D, Imreova P, Galova E, Miadokova E. Dual activities of emodin – DNA protectivity vs mutagenicity. *Neuroendocrinol Lett*. 2014; 35:149–154.
  45. Yang J, Li H, Chen YY, Wang XJ, Shi GY, Hu QS, Kang XL, Lu Y, Tang XM, Guo QS, Yi J. Anthraquinones sensitize tumor cells to arsenic cytotoxicity in vitro and in vivo via reactive oxygen species-mediated dual regulation of apoptosis. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2004; 37: 2027–2041.
  46. Wang W, Sun Y, Li X, Li H, Chen Y, Tian Y, Yi J, Wang J. Emodin potentiates the anticancer effect of cisplatin on gallbladder cancer cells through the generation of reactive oxygen species and the inhibition of survivin expression. *Oncology reports*. 2011; 26: 1143–1148.
  47. Liu T, Jin H, Sun Q-R, Xu J-H, Xu J-H, Hu H-T. Neuroprotective effects of emodin in rat cortical neurons against  $\beta$ -amyloid-induced neurotoxicity. *Brain research*. 2010; 1347:149–160.
  48. Xie M-J, Ma Y-H, Miao L, Wang Y, Wang H-Z, Xing Y-Y, Xi T, Lu Y-Y. Emodine-provoked oxidative stress induces apoptosis in human colon cancer HCT116 cells through a p-53 mitochondrial apoptotic pathway. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15: 5201–5205.
  49. Ma J, Yang J, Wang C, Zhang N, Dong Y, Wang C, Wang Y, Lin X. Emodin Augments Cisplatin Cytotoxicity in Platinum-Resistant Ovarian Cancer Cells via ROS-Dependent MRP1 Downregulation. *Biomed Research International*, Volume 2014; Article ID:107671
  50. Walker NI, Bennet RE, Axelsen RA. Melanosis coli. A consequence of anthraquinone-induced apoptosis of colonic epithelial cells. *Am J Pathol*. 1988; 131: 465–476.
  51. Willems M, van Buuren HR, de Krijger R. Anthranoid self-medication causing rapid development of melanosis coli. *The Netherlands Journal of Medicine*. 2003; 61: 22–24.
  52. Van Gorkom BA, de Vries EG, Karrenbeld A, Kleibeuker JH. Review article: anthranoid laxatives and their potential carcinogenic effects. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 1999; 13: 443–452.
  53. Nascimbeni R, Donato F, Ghirardi M, Mariani P, Villanacci V, Salerni B. Constipation, anthranoid laxatives, melanosis coli and colon cancer – a risk assessment using aberrant crypt foci. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002; 11: 753–757.
  54. Nusko G, Schneider B, Schneider I, Wittekind Ch, Hahn EG. Anthranoid laxative use is not a risk factor for colorectal neoplasia: results of a prospective case control study. *Gut*. 2000; 46: 651–655.
  55. Mueller SO, Eckert I, Lutz WK, Stopper H. Genotoxicity of the laxative drug components emodin, aloe-emodin and danthron in mammalian cells: Topoisomerase II mediated? *Mutat Res*. 1996; 371: 125–129.

56. Mueller SO, Schmitt M, Dekant W, Stopper H, Schlatter J, Schreier P, Lutz W. Occurrence of emodin, chrysophanol and physicon in vegetables, herbs and liquors. Genotoxicity and anti-genotoxicity of anthraquinones and of whole plants. *Food and Chemical Toxicology*, 1999; 37: 481–491.
57. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Emodin in F344/N Rats and B6C3F Mice, National Toxicology Program, NTP TR 493, NIH Publication No. 01-3952, June 2001.
58. Njemačka komisija E, <http://buecher.heilpflanzen-welt.de/BGA-Kommission-E-Monographien/index.html/>, pristupljeno 10.6.2016.
59. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants – Volume 2, <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4927c/13.html/>, pristupljeno 10.6.2016.

*Primljeno 18. travnja 2016.*