

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Tesi di Dottorato in Farmacologia Clinica e Preclinica
Ciclo XXV

MIRKO ANTONELLO ROSARIO CAMPISI

Chimica, valutazione delle proprietà antiossidanti e delle attività anti-genotossica ed antiinfiammatoria dei fitocomplessi dalla liquirizia (*Glycyrrhiza glabra* L.).

TESI DI DOTTORATO

Coordinatore del Dottorato:

Chiar.mo Prof. Renato Bernardini

Tutor:

Chiar.mo Prof. Mario Matera

ANNO ACCADEMICO 2011-2012

1.Introduzione

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) da tempo si è pronunciata sull'impiego di piante medicinali in terapia, ritenendole parte integrante dell'armamentario terapeutico del medico, sollecitandone lo studio chimico, farmacologico e clinico ed apprezzando piante tradizionali, che sono per una gran parte della popolazione mondiale l'unica forma di terapia.

Non si può non essere d'accordo con l'impostazione generale, che invita alla prudenza di metodologia di controllo, sia nella fase produttiva che in quella di sperimentazione, nonché alla valutazione di sicurezza delle "fitomedicine".

Un primo punto di ferma argomentazione è rappresentato dall'esigenza di qualificare la terapia farmacologica denominata "fitoterapia" come pratica medica, in opposizione a chi tenta di relegarla quale non convenzionale o alternativa, come ribadito da Associazioni culturali, in linea con la Società Italiana di Fitoterapia (SIFIT), sostenuta da quelle di Farmacologia e Farmacognosia oltre

che dalle Scuole di Specializzazione in Farmacognosia ed in Piante Officinali.

E' comunque evidente da tempo che l'attività farmacologica e clinica di una pianta integra o di una sua preparazione non è la somma algebrica delle attività farmacologiche dei singoli costituenti chimici, ma possiede un profilo sinergizzante delineato dalle interazioni, spesso non ancora spiegate, che coinvolgono i principi attivi ma anche quelli "tampone" del cosiddetto fitocomplesso.

Allo stato attuale quindi la farmacologia rivolge la propria attenzione alle miscele dei principi attivi della pianta ed il crescente interesse per la fitoterapia è sostenuto dall'esigenza di focalizzare il meccanismo chimico e biologico di tali componenti, prima isolati e poi valutati appunto nel loro complesso.

E' bene non equivocare sul concetto deontologico della medicina unica che non può essere aggettivata in maniere diverse, così

come è unico il medico abilitato alla professione che prescrive i rimedi più opportuni, efficaci e più tollerabili dal paziente.

La validità di un rimedio si misura con le sperimentazioni, i controlli, le evidenze e prove di efficacia: ciò vale sia per i farmaci di sintesi che per quelli “vegetali”.

La liquirizia, è senza dubbio una delle piante medicinali più popolari e le sue radici sono la parte più utilizzata.

In particolare, la specie *Glycyrrhiza glabra* L. sembra possedere ben note proprietà terapeutiche che sono documentati sin dai tempi dell'antico Egitto.

Nella pratica della Medicina Tradizionale Cinese (MTC), la liquirizia, nota come Gan-Cao, entra a far parte di numerose formulazioni a base di erbe, e si dice che possa "armonizzare" tutti gli ingredienti di una formula a base di erbe; per questi motivi è sicuramente la

seconda pianta medicinale prescritta dopo il ginseng. [1-3].

La liquirizia proviene da regioni calde del mondo, in particolare l'area medio-orientale e mediterranea ed il nord della Cina, oltre a *G. glabra*, di altre specie significative sono rinomate la *G.* (liquirizia russa), *uralensis G.* (liquirizia cinese) e *G. lepidota*, dall'America.

Foto 1.



Foto 1: Pianta di liquirizia (***Glycyrrhiza glabra* L.**)

Da un punto di vista chimico le radici di liquirizia contengono dal 25 al 30% di amidi, dal 3 al 10% di D-glucosio e di saccarosio, e inoltre cumarine, triterpenoidi, steroli e flavonoidi, soprattutto flavanoni, calconi, isoflavoni e isoflavonoli.

Esiste anche un polisaccaride, detto glicirrizano e altri due polisaccaridi costituiti da poligalatturonani e da zuccheri semplici e complessi.

I componenti principali sono i saponosidi rappresentati soprattutto dalla glicirrizina (dal 3 al 5% della droga secca).

Essa è un monodesmoside che, per idrolisi, libera due molecole di acido D-glicuronic e una molecola di acido glicirretico.

È stato anche riconosciuto un derivato dell'acido glicirrizico, detto gliderinina, dotato anch'esso di notevole attività antiflogistica.

Foto 2.

Il principio attivo della liquirizia responsabile di questi effetti è l'acido glicirrizico, più precisamente il suo aglicone, l'*acido glicirretico* (o *glicirretinico*), di cui a seguito è riportata la struttura chimica.

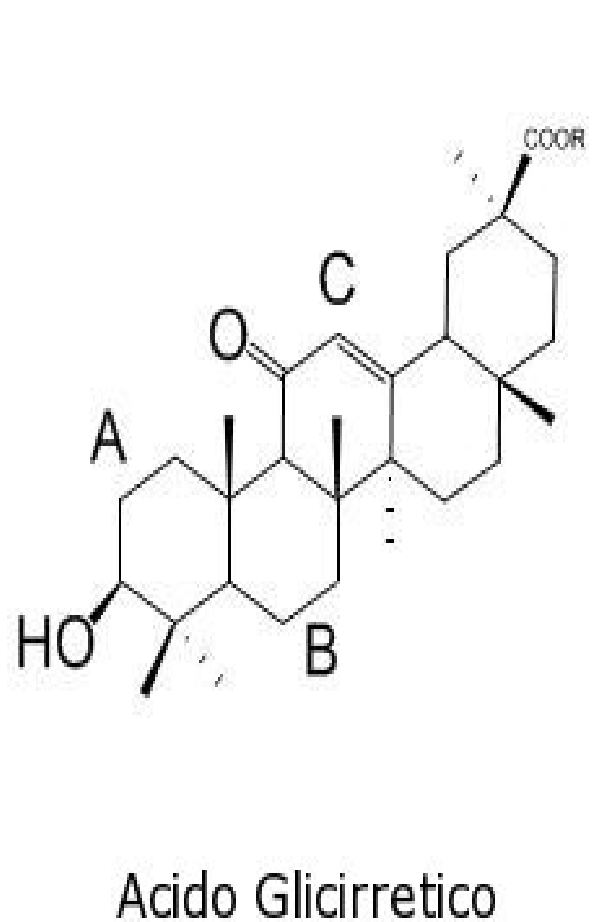
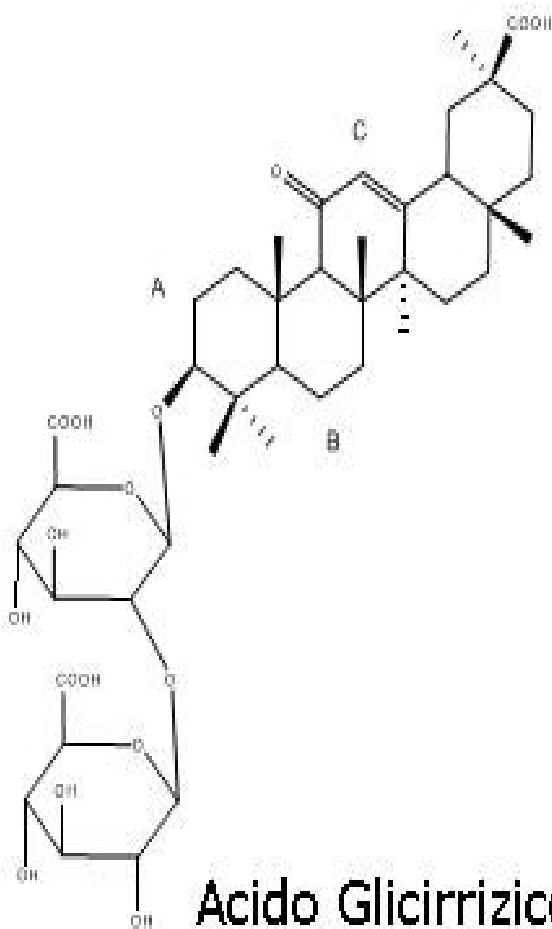


Foto 2. Formula chimica l'*acido glicirretico* (o *glicirretinico*).

La somiglianza del nucleo triterpenico con la struttura base dei corticosteroidi è evidente, ed è a questa caratteristica strutturale che vengono attribuite le azioni degli estratti di liquirizia sul metabolismo idrosalino.

Questi composti sono considerati responsabili per le loro diverse proprietà terapeutiche attribuite a questa pianta, i cui estratti sono utilizzati come tonico, disintossicante, espettorante, antinfiammatorio, antimicrobico, antiaterogenico, antiallergico, contro alterazioni del sistema immunitario e come fonte di ingredienti cosmeceutici [8-14].

Le parti aeree della pianta, al contrario, sono scarsamente utilizzate, e sono considerate come rifiuti agrochimici.

Le indagini fitochimiche sulle foglie di *G. glabra* hanno comunque evidenziato la presenza di alcuni composti fenolici che non sono presenti nelle radici, o solo in piccole tracce [15,16].

Un precedente lavoro su estratti di foglie di *G. glabra* siciliana, ha evidenziato capacità antiossidante, dimostrando un'efficacia paragonabile a quella di BHT (2,6-di-terz-butile-4-hydroxytoluene), un comune prodotto antiossidante di sintesi.

È stato evidenziato che l'acido glicirretico inibisce la trasformazione del cortisolo a cortisone da parte della 11 beta idrossisteroido deidrogenasi.

Altresì è stato dimostrato che la sostanza più attiva in questo senso è l'acido 3-monoglicuronil glicirretinico, che è nettamente più potente dell'acido glicirrizico.

L'inibizione di questo enzima è dose-dipendente, come dimostrato da uno studio effettuato su volontari sani. Infatti una dose di 500 mg./die di glicirrizina per os inibisce l'enzima per circa 12 ore, mentre un dosaggio di 1000 mg./die causa inibizione enzimatica per circa 24 ore.

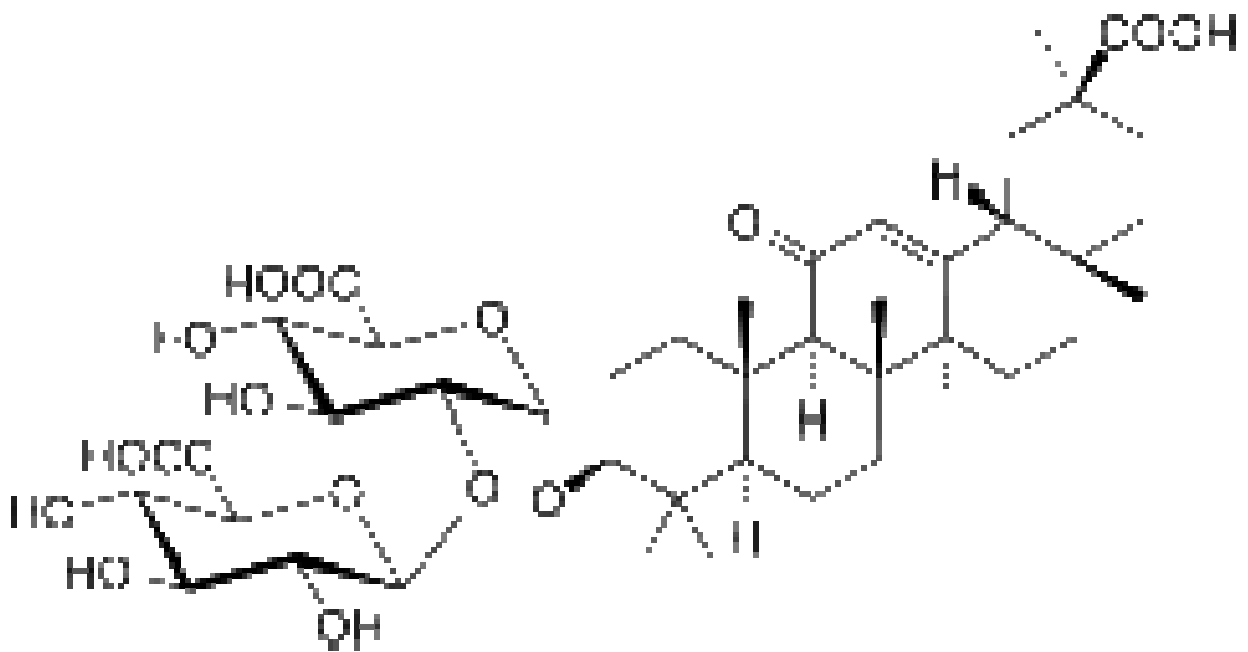


Foto 3. Formula chimica della **glicirrizina** (acido (3- β ,20- β)-20-carbossi-11-
osso-30-norolean-12-en-3-il-2-O- β -D-glucopirauronosil- α -D-glucopiranosiduronic).

Dati recenti indicano che l'acido glicirretico ostacola l'attività della beta glucuronidasi a livello epatico, con ridotta escrezione di composti glucuronati, tra cui gli steroidi stessi.

Queste azioni sono esplicate essenzialmente a livello epatico e a livello renale.

Recentemente è stato identificato un altro meccanismo responsabile dell'azione antiflogistica di questa droga, e cioè la capacità della glicirrizina di inibire la produzione di radicali liberi, che sono una classe di potenti agenti flogogeni, da parte dei granulociti neutrofili.

La sostanza sembra peraltro incapace di interferire in modo apprezzabile sulla fagocitosi e sulla chemiotassi di queste cellule. Importante è anche la capacità della glicirrizina di ostacolare i danni tissutali conseguenti al fenomeno di ischemia-riperfusion, consistenti essenzialmente in un aumento della perossidazione

lipidica con conseguente incremento di malondialdeide sia nel cervello sia nel plasma periferico e in una diminuzione dell'attività della superossido dismutasi (SOD) negli stessi distretti.

Questi effetti sono antagonizzati dalla glicirrizina a 100 mg/kg data per 3 giorni consecutivi.

È interessante notare che i radicali liberi prodotti dai leucociti sono una delle cause principali del danno dell'epitelio follicolare in caso di acne e di rosacea.

Recentemente è stata dimostrata la presenza nel sistema nervoso centrale, in particolare nel cervelletto, nell'ippocampo, nella corteccia e nell'ipofisi, di livelli significativi di 11 beta idrossisteroide deidrogenasi.

È stato anche ritrovato l' RNA messaggero che codifica la sintesi.

La purificazione cromatografica dell'estratto oltre a un gruppo di flavonoidi conosciuti (glabridina, licoflavanone, pinocembrina, wighteone, ecc), e di nove dihydrostilbene ha evidenziato un pool di polifenoli considerati responsabili per l'efficacia antiossidante di un estratto [17,18].

Pertanto, per migliorare le nostre conoscenze sulle proprietà biologiche di questa pianta spontanea siciliana e dal momento che i composti fenolici vegetali, tra cui flavonoidi e stilbeni, sono noti a funzionare come “chemoprotettori” [19], abbiamo analizzato la composizione chimica dei tre estratti ottenuti tramite estrazione con solvente organico (esano, acetato di etile, metanolo) da foglie glabra G., e ha effettuato una prima serie di esperimenti per indagare la loro attività antiossidante, antigenotossica e anti-infiammatoria, che sono requisiti fondamentali di efficaci agenti chemo preventivi e protettore.

In particolare, gli antiossidanti di origine vegetale ed i composti anti-infiammatori si sono dimostrati efficaci nella chemoprevenzione della carcinogenesi del colon.

Gli estratti di cui sopra, sono stati analizzati con una tecnica esauriente quale la cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata con spettrometria di rilevazione ultravioletto-visibile e di massa (LC / UV-vis-DAD / MS), cromatografia liquida ad alta prestazione con rivelazione a serie di diodi foto è stata utilizzata anche per la la quantificazione delle matrici vegetali con l'utilizzo di idonei standard esterni.

Inoltre, abbiamo testato questi estratti in una serie di esperimenti in vitro che impiegano sistemi chimici [1,1-difenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) test], organismi microbici (chromotest SOS).

2. Materiali e metodi

2.1 Materiale vegetale.

La *Glycyrrhiza glabra* è stato raccolta sulle rive del fiume Simeto, Sicilia.

2.2 Reagenti e standard.

Tutti i solventi utilizzati in questo studio erano di elevata purezza.

Sono stati utilizzati anche Lipopolisaccaride derivato da *Escherichia coli* 026: B6, eparina sodica, aspirina, nimesulide, indometacina, benzo [a] pirene, 4-nitrochinolina-N-ossido, sodio sale piperacillina, reagente Folin Ciocalteu, diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) e Trolox norme di riferimento puro: luteina, β -carotene, pinocembrin, naringenin, rutina e quercetina-3-O-glucoside, vicenin-2,

quercetina-3-O-glucoside-6''acetate, kaempferol-3-O-glucoside (astragalin) e kaempferol-7-O-glucoside;

α , α' -diidro-3, 5,4'-trihydroxy-4, 5'-diisopentenylstilbene, α , α' -diidro-3, 5,3'4'-tetrahydroxy-4, 5'-diisopentenylstilbene, α , α' -diidro-3, 5,4'-trihydroxy-5'-isopentenylstilbene, α , α' -diidro-3, 5,3'-trihydroxy-4'-metossi-5'-isopentenylstilbene, α , α' - diidro-3, 5,3'4'-tetrahydroxy-5'-isopentenylstilbene, α , α' -diidro-3, 5,-diidrossi-4'-acetossi-5'-isopentenylstilbene, α , α' -diidro-3, 3'4'-trihydroxy-5-O-isopentenil-6-isopentenylstilbene, α , α' -diidro-3, 5,3'-trihydroxy-4'-methoxystilbene e α , α' -diidro-3, 3'-diidrossi-5 β -DO'-glucopiranosil-4'-methoxystilbene, precedentemente isolati nel nostro gruppo di nuovi composti, sono stati utilizzati come riferimenti esterni.

Glabridina, isomero glabridina e licoflavanone sono stati individuati in un precedente lavoro in quanto tali e utilizzati come riferimento per le analisi.

2.3 Protocollo di estrazione e preparazione del campione.

La pianta fresca è stata liofilizzata per ottenere 630 g di materiale secco, che è stata sgrassato tre volte con n-esano.

Il residuo impianto è stato quindi estratto con acetato di etile (x3), e dopo filtrazione il materiale è stato ulteriormente estratto tre volte con metanolo.

Tutte le estrazioni sono state eseguite a temperatura ambiente al buio e sotto agitazione continua.

Sono stati quindi ottenuti tre estratti dopo la rimozione dei solventi da estrazione a pressione ridotta, i cui pesi sono stati 14 grammi, 100 e 30 per l'n-esano, l'acetato di etile e metanolo estratto, rispettivamente.

Gli estratti di cui sopra sono stati sempre tenuti a +4 ° C in atmosfera di azoto e non sigillati immediatamente prima dell'uso.

Una aliquota (da 15 a 25 mg) di ciascun estratto è stato sciolto in 1.5 mL di un opportuno solvente (acetone per il n-esano estratto, il metanolo per la frazione lipidica) e messi in un flaconcino da 2 cc ambrato, immediatamente prima delle analisi cromatografiche.

I componenti degli estratti lipidici e polari di *G. glabra* sono stati analizzati utilizzando due diversi gradienti di diluizione di B (acetonitrile) in A (acido formico 2,5% in acqua).

Estratto lipidico: 0 min: 40% di B; 10 min: 50% di B; 30 min: 60% B, 35 min: 65% B, 50 min: 90% B, 55 min poi conservati per altri 10 minuti, 100% B . estratto metanolico: 0 min: 5% di B; 10 min: 15% B, 30 min: 25% di B; 35 min: 30% B, 50 min: 90% B, 57 min poi conservati per altri 7 minuti.

Il tasso di flusso del solvente è stato di 1 ml / min, la temperatura è stata mantenuta a 25 ° C e il volume iniettore selezionato è stato di 20 microlitri.

Corrente ionica totale (TIC) e cromofotogrammi sono stati acquisiti con una tensione di cono di 20 o 50 V nel range di massa tra i 100 e 1500 m / z unità.

Gli altri parametri utilizzati per l'acquisizione delle TIC sono le seguenti: tensione capillare: 2.75 kV; temperatura della sorgente: 150 ° C, temperatura di dissolvenza: 280 ° C; flusso di gas (L / hr):, dissolvenza 400; cono, 210. I dati raccolti sono stati elaborati attraverso un particolare software.

I dati raccolti sono stati elaborati attraverso una cromatografia.

La quantificazione è stata effettuata a 280 nm per diidrostilbeni e flavanoni, utilizzando α , α' -diidro-3, 5,4 '-trihydroxy-5'-isopentenylstilbeni e naringenina per costruire le curve di

calibrazione (coefficiente di correlazione $R^2 = 0,9,997$ mila e $0,9,995$ mila, rispettivamente), a 330 nm per i derivati vicenin-2 e apigenina utilizzando una curva di calibrazione determinata con apigenina (correlazione $R^2 = 0,9,995$ mila), a 350 nm per i derivati e quercetina, rutina (quercetina 3-O-rutinoside) è stato utilizzato come standard esterno in questo caso ($R^2 = 0,9,997$ mila).

3. Farmacocinetica.

Somministrando glicirrizina per os nel ratto, si ha comparsa nel plasma di acido glicirretico in quantità proporzionale alla glicirrizina somministrata, mentre quest'ultima non è dosabile.

Ciò significa che vi è una completa biotrasformazione di glicirrizina ad acido glicirretico ad opera della flora batterica intestinale, e che questa sostanza mostra un buon assorbimento da parte della mucosa dell'intestino.

Dopo somministrazione per via orale, il picco ematico si raggiunge

dopo 6 ore, poi si ha un plateau fino alla dodicesima ora e infine inizia una lenta discesa, con scomparsa pressochè totale dopo 24 ore.

L'acido glicirrizico, una volta giunto nel torrente ematico, si lega all'albumina.

La maggior parte dell'acido glicirretico viene eliminata con la bile in forma glucuronata o solfata, mentre la glicirrizina non è metabolizzata ed è soggetta al circolo enteroepatico.

Si è notato che sia la liquirizia sia la glicirrizina da sola stimolano consistentemente i meccanismi di glucuroconiugazione a livello epatico nel ratto.

Inoltre questa sostanza sembra in grado di aumentare l'attività del citocromo P 450 e delle attività enzimatiche da esso dipendenti nel fegato del ratto, incrementando in tal modo il metabolismo epatico di molte sostanze farmacologicamente attive.

3.1 Azione antiflogistica.

È stato evidenziato che l'acido glicirretico inibisce la trasformazione del cortisolo a cortisone da parte della 11 beta idrossisteroide deidrogenasi.

È stato dimostrato che la sostanza più attiva in questo senso è l'acido 3-monoglicuronil glicirretinico, che è nettamente più potente dell'acido glicirrizico.

L'inibizione di questo enzima è dose-dipendente, come dimostrato da uno studio effettuato su volontari sani. Infatti una dose di 500 mg./die di glicirrizina per os inibisce l'enzima per circa 12 ore, mentre un dosaggio di 1000 mg./die causa inibizione enzimatica per circa 24 ore.

Dati recenti indicano che l'acido glicirretico ostacola l'attività della beta glucuronidasi a livello epatico, con ridotta escrezione di composti glucuronati, tra cui gli steroidi stessi.

Queste azioni sono esplicate essenzialmente a livello epatico e a livello renale.

Recentemente è stato identificato un altro meccanismo responsabile dell'azione antiflogistica di questa droga, e cioè la capacità della glicirrizina di inibire la produzione di radicali liberi, che sono una classe di potenti agenti flogogeni, da parte dei granulociti neutrofili.

La sostanza sembra peraltro incapace di interferire in modo apprezzabile sulla fagocitosi e sulla chemiotassi di queste cellule.

Importante è anche la capacità della glicirrizina di ostacolare i danni tissutali conseguenti al fenomeno di ischemia-riperfusion, consistenti essenzialmente in un aumento della perossidazione lipidica con conseguente incremento di malondialdeide sia nel cervello sia nel plasma periferico e in una diminuzione dell'attività della superossido dismutasi (SOD) negli stessi distretti.

Questi effetti sono antagonizzati dalla glicirrizina a 100 mg/kg data per 3 giorni consecutivi.

È interessante notare che i radicali liberi prodotti dai leucociti sono una delle cause principali del danno dell'epitelio follicolare in caso di acne e di rosacea.

Recentemente è stata dimostrata la presenza nel sistema nervoso centrale, in particolare nel cervelletto, nell'ippocampo, nella corteccia e nell'ipofisi, di livelli significativi di 11 beta idrossisteroide deidrogenasi.

È stato anche ritrovato l' RNA messaggero che codifica la sintesi dell'enzima suddetto.

Questo fatto potrebbe essere importante perché la 11 beta idrossisteroide deidrogenasi sarebbe fondamentale nel controllo dell'attività dei glucocorticoidi sul sistema nervoso centrale, in particolare proteggendo le strutture cerebrali dagli effetti deleteri causati dall'eccesso di glicocorticoidi.

L'accumulo di acidi biliari idrofobici causa un'epatopatia colestatica

aumentando fortemente lo stress ossidativo, la disfunzione mitocondriale e l'attivazione dei segnali cellulari. Lo scopo di questo studio era quello di valutare l'effetto della liquirizia sull'epatopatia colestatica nel ratto. Gli epatociti di ratto erano incubati con l'estratto di liquirizia (GL) o con l'acido 18-beta glicirretinico (GA), il che provocava un evidente e significativo calo della generazione di radicali liberi, con efficacia maggiore per il GA.

Si è anche visto che GA riduceva sia l'apoptosi sia la necrosi cellulare, mentre GL aumentava l'apoptosi. Gli acidi biliari promuovevano l'attivazione della JNK e delle caspasi 3, 9 e 10 e il clivaggio del PARP, e questi fenomeni erano antagonizzati da GA ma non da GL. A livello mitocondriale sia GL sia GA erano potenti inibitori della modificazione della permeabilità della membrana mitocondriale, della generazione di radicali liberi e del rilascio del citocromo c.

I dati di questo studio indicano che GA è un potente inibitore della epatotossicità da accumulo di acidi biliari negli epatociti di ratto (33).

3.2 Azione antiradicalica.

Nel fitocomplesso della liquirizia sono state identificate sette sostanze capaci di azione antiradicalica.

Tre di questi sono isoflavoni, due calconi e un isoflavone.

Gli isoflavoni sembrano essere quelli dotati di maggiore attività, essendo in grado di inibire quasi completamente la distruzione del beta carotene e l'ossidazione delle LDL, mentre i calconi sono meno attivi e la formononetina è poco attiva.

Gli isoflavoni sono particolarmente attivi contro l'ossidazione delle LDL, e poiché l'ossidazione di queste sostanze è un evento chiave nella formazione delle lesioni aterosclerotiche, l'uso di questi antiossidanti può essere utile per ridurre l'aterosclerosi dei vasi sanguigni.

Tale azione è dovuta alla capacità degli isoflavani di legarsi alle particelle di LDL circolanti, proteggendole dall'ossidazione, come dimostrato dalla notevole riduzione della formazione di lipoperossidi e ossisteroli e dalla contemporanea protezione dei carotenoidi associati alle LDL stesse quali beta carotene e licopene.

Studi in vitro hanno dimostrato che l'isoflavone glabridina inibisce l'ossidazione delle LDL indotta dal rame, come dimostrato dalla cospicua riduzione della formazione di dieni coniugati, di acido tiobarbiturico e di lipoperossidi.

Uno studio nel ratto ha indagato l'azione protettiva della glicirrizina e dell'acido glicirretinico sulla neurotossicità indotta dalla neurotossina 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP(+)) soprattutto a livello mitocondriale e il ruolo in essa dello stress ossidativo. La MPP causava danno nucleare, alterazione della permeabilità della membrana mitocondriale, rilascio del citocromo c da parte dei

mitocondri, attivazione della caspasi 3, formazione di ROS e deplezione del GSH.

La glicirrizina a dosi pari o superiori a 100 microM e l'acido glicirretinico a dosi pari a 10 microM attenuavano i danni suddetti.

Lo studio indica che la glicirrizina e l'acido glicirretinico riducono la tossicità dell'MPP a livello neuronale, soprattutto grazie alla loro capacità di proteggere in mitocondri (39).

4. Controindicazioni.

E' controindicata in modo assoluto nel paziente iperteso, in particolare in soggetti con sospetto di iperaldosteronismo o di feocromocitoma.

Non va mai associata a trattamenti con steroidi, salvo ridurre consistentemente il dosaggio di questi ultimi, poiché ne potenzia l'azione farmacologica.

Può provocare ipopotassiemia, ritenzione idrosalina, riduzione della forza muscolare e anche turbe elettrocardiografiche tipiche dell'ipopotassiemia, per cui è controindicata in pazienti con ipopotassiemia di qualsiasi causa.

Non deve essere usata in soggetti di età inferiore ai 12 anni, particolarmente se di sesso femminile, in gravidanza e nell'allattamento.

Può peggiorare il controllo metabolico e può facilmente indurre ipokaliemia nel paziente diabetico.

Va usata con una certa cautela in pazienti nefropatici.

È incompatibile con gli estratti di china e coi composti di calcio.

È stata anche descritta rabdomiolisi con grave carenza di mioadenilato deaminasi in pazienti che facevano abuso di liquirizia,

che peraltro regrediva progressivamente con la sospensione della sostanza.

È descritto il caso di una donna di 93 anni ipertesa con severa ipokaliemia e paralisi muscolare associate ad alcalosi metabolica, ipossiemia, ipercapnia, elevati livelli di fosfatasi alcalina, di mioglobina e mioglobinuria compatibili con un quadro di rabdomiolisi.

I livelli plasmatici di aldosterone e di renina erano al di sotto della norma.

La donna assumeva estratti di liquirizia da 7 anni.

La sospensione della liquirizia e la somministrazione di spironolattone e di potassio riportavano alla norma il quadro clinico entro 2 settimane (38).

5. Interazioni farmacologiche.

Può ridurre notevolmente il legame con l'albumina sierica di ibuprofene, warfarin, salicilati e acido deossicolico, e pertanto può interferire, potenziandola, con l'attività di questi farmaci.

I contraccettivi orali ne potenziano l'effetto ipertensivizzante e viceversa.

La Liquirizia ostacola l'azione farmacologica dello spironolattone; riduce l'azione dell'acetaminofene poiché ne aumenta l'escrezione a livello epatico.

Può aumentare la ritenzione di sodio e l'escrezione di potassio indotta dal succo di pompelmo.

Può potenziare quella della digitale, potendo in alcuni casi falsare i risultati della digossinemia.

Può potenziare l'effetto ipertensivizzante dei farmaci anti MAO e della tiramina, anche se non ci sono in letteratura dati specifici sufficientemente chiari in merito.

È comunque prudente che i pazienti che assumono questi farmaci prendano la Liquirizia, se necessario, solo sotto stretto controllo medico.

L'acido glicirretinico sembra capace di aumentare la richiesta corporea di ormoni tiroidei, il che potrebbe ridurre l'efficacia degli ormoni tiroidei somministrati in pazienti con ipotiroidismo.

6.Tossicologia.

E' noto che la glicirizina e i suoi derivati inibiscono la 11 beta OH-deidrogenasi, che trasforma il cortisolo a cortisone, con un aumento di questo ormone nel sangue e anche in parte di mineralcorticoidi, con effetti ipertensivizzanti sia nell'animale sia nell'uomo.

Tali effetti sono reversibili con la sospensione del trattamento.

Studi di genotossicità e di mutagenesi indicano che la liquirizia non pare essere tossica e anzi può esplicare una certa azione antigenotossica.

Sulla base degli studi finora effettuati si ritiene che non debba essere superata un'ingestione giornaliera compresa tra 0,015 e 0,229 mg/kg/die di glicirizina (35).

7. Risultati e Conclusioni.

Da millenni la liquirizia è utilizzata dall'uomo come rimedio terapeutico, in particolare in diverse medicine tradizionali orientali.

In Occidente le prime testimonianze del suo uso risalgono ai Greci e oggi le proprietà biologiche di questa pianta sono al centro di numerosi studi tesi ad approfondire la conoscenza dei suoi principi attivi e dei loro meccanismi d'azione.

In questo studio da noi effettuato abbiamo che GA è un potente inibitore della epatotossicità da accumulo di acidi biliari negli epatociti di ratto; è stata inoltre dimostrata la capacità della glicirrizina di inibire la produzione di radicali liberi, che sono una classe di potenti agenti flogogeni, da parte dei granulociti neutrofilii.

Dai dati esaminati quindi, possiamo concludere affermando che la liquirizia (*Glycyrrhiza glabra* L.). ed in particolare l'acido glicirretinico e la glabridina, che sono i principi attivi più rappresentati della radice, possono essere anche considerati come dei "farmaci" efficaci nella terapia di svariate patologie.

8. Bibliografia

- [1] C. Fiore, M. Eisenhut, E. Ragazzi, G. Zanchin, D. Armanini, A history of the therapeutic use of liquorice in Europe, J. Ethnopharm. 99(3) (2005) 317-324.
- [2] A. Fugh-Berman, Herb-drug interactions, Lancet 355(9198) (2000) 134-138.
- [3] W. Tang, G. Eisenbrand, Chinese Drugs of Plant Origin, Springer-Verlag, Berlin, 1992, pp. 567-588.
- [4] G.R. Fenwick, J. Lutomski, C. Nieman, Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L. - Composition, uses and analysis. Food Chem. 38(2) (1990) 119-143.

- [5] A.S. Ammosov, V.I. Litvinenko, Phenolic compounds of the genera *Glycyrrhiza* L. and *Meriostotropis* Fisch. et Mey (Review). Pharm. Chem. J. 41 (2007) 372-395.
- [6] Y.-C Wang, Y.-S. Yang, Simultaneous quantification of flavonoids and triterpenoids in licorice using HPLC, J. Chromatog. B 850 (2007) 392-399.
- [7] Q. Zhang, M. Ye, Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice), J. Chromatog. A 1216 (2009) 1954-1969.
- [8] A. Wolkerstorfer, H. Kurz, N. Bachhofner, O.H.J. Szolar, Glycyrrhizin inhibits influenza A virus uptake into the cell, Antiviral Res. 83 (2009) 171-178.
- [9] M. Mueller, A. Jungbauer, Culinary plants, herbs and spices – A rich source of PPAR α ligands, Food Chem. 117 (2009) 660-667.
- [10] V.K. GUPTA, A. FATIMA, U. FARIDI, A.S. NEGI, K. SHAKER, J.K. KUMAR, N. RAHUJA, S. LUQMAN, B.S. SISODIA, D. SAIKIA, M.P. DAROKAR, S.P.S. KHANUJA, ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF

GLYCYRRHIZA GLABRA ROOTS, J. ETHNOPHARM. 116 (2008) 377-380.

- [11] A. TANAKA, M. HORIUCHI, K. UMANO, T. SHIBAMOTO, ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF WATER DISTILLATE AND ITS DICHLOROMETHANE EXTRACT FROM LICORICE ROOT (*GLYCYRRHIZA URALENSIS*) AND CHEMICAL COMPOSITION OF DICHLOROMETHANE EXTRACT, J. SCI. FOOD AGRIC. (2008).
- [12] X. SONG, S. HU, ADJUVANT ACTIVITIES OF SAPONINS FROM TRADITIONAL CHINESE MEDICINAL HERBS, VACCINE 27 (2009) 4883-4890.
- [13] N.P. VISAVADIYA, B. SONI, N. DALWALDI, EVALUATION OF ANTIOXIDANT AND ANTI-ATHEROGENIC PROPERTIES OF *GLYCYRRHIZA GLABRA* ROOT USING IN VITRO MODELS, INT. J. FOOD SCI. NUTR. 60 (2009) 135-149.
- [14] L.S. BAUMANN, LESS-KNOWN BOTANICAL COSMECEUTICALS, DERMATOL. THER. 20, 2007, 330-342.

- [15] H. Fukui, K. Goto, M. Tabata, Two antimicrobial flavanones from the leaves of *Glycyrrhiza glabra*, Chem. Pharm. Bull. 36 (1988) 4174-4176.
- [16] H. Hayashi, M. Yasuma, N. Hiraoka, Y. Ikeshiro, H. Yamamoto, E. Yesilada, E. Sezik, G. Honda, M. Tabata, Flavonoid variation in the leaves of *Glycyrrhiza glabra*. Phytochemistry 42 1996 701-704.
- [17] D.M. Biondi, C. Rocco, G. Ruberto, New dihydrostilbene derivatives from the leaves of *Glycyrrhiza glabra* and evaluation of their antioxidant activity, J. Nat. Prod. 66 (2003) 477-480.
- [18] D.M. Biondi, C. Rocco, G. Ruberto, Dihydrostilbene derivatives from *Glycyrrhiza glabra* leaves, J. Nat. Prod. 68 (2005) 1099-1102.
- [19] Y.J. Surh, J.K. Kundu, H.K. Na, J.S. Lee, Redox-sensitive transcription factors as prime targets for chemoprevention with anti-inflammatory and antioxidative phytochemicals, J. Nutr. 135 (12 Suppl.) (2005) 2993S-3001S.

- [20] S. Toyokuni, Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: from epidemiology to oxygenomics, IUBMB Life 60(7) (2008) 441-447.
- [21] G. Spagna, P.G. Pifferi, C. Rangoni, F. Mattivi, G. Nicolini, R. Palmonari, The stabilization of white wines by adsorption of phenolic compounds on chitin and chitosan, Food Res. Int. 29 (1996) 241–248.
- [22] P. Rapisarda, A. Tomaino, R. Lo Cascio, F. Bonina, A. De Pasquale, A. Saija, Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. J. Agric. Food Chem. 47 1999 4718–4723.
- [23] P. Patrignani, M.R. Panara, M.G. Sciulli, G. Santini, G. Renda, C. Patrono, Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, J Physiol. Pharmacol. 48(4) (1997) 623-631.
- [24] S. von Aulock , C. Hermann, T. Hartung, Determination of the eicosanoid response to inflammatory stimuli in whole blood

and its pharmacological modulation *ex vivo*, *J. Immunol. Methods* 277(1-2) (2003) 53-63.

- [25] M. Stobiecki, Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry* 54 (2000) 237-256.
- [26] W.M.A. Niessen, LC-MS analysis of plant phenols in *Liquid chromatography-Mass Spectrometry*, 3rd ed, CRC Press, 2006, Chap. 15, pp. 413-437, and references therein.
- [27] P. Quillardet, M. Hofnung, The SOS chromotest: a review, *Mutat. Res.* 297 (3) (1993) 235-279.
- [28] C.A. Rouzer, L.J. Marnett, Cyclooxygenases: structural and functional insights, *J. Lipid Res.* 50 (Suppl.) (2009) S29-34.
- [29] C.A. Hyde, S. Missailidis, Inhibition of arachidonic acid metabolism and its implication on cell proliferation and tumour-angiogenesis, *Int Immunopharmacol.* 9 (6) (2009) 701-715.
- [30] F.H. Sarkar, S. Adsule, Y. Li, S. Padhye, Back to the future: COX-2 inhibitors for chemoprevention and cancer therapy, *Mini Rev. Med. Chem.* 7(6) 2007) 599-608.

- [31] A.J. Schottelius, H. Dinter, Cytokines, NF-kappaB, microenvironment, intestinal inflammation and cancer, *Cancer Treat. Res.* 130 (2006) 67-87.
- [32] J.K. Prasain, S. Barnes, Metabolism and bioavailability of flavonoids in chemoprevention: current analytical strategies and future prospectus, *Mol. Pharm.* 4 (6) (2007) 846-864.
- [33] N.R. Srinivas, Structurally modified 'dietary flavonoids': are these viable drug candidates for chemoprevention?, *Curr. Clin. Pharmacol.* 4(1) (2009) 67-70.
- [34] H.K. Biesalski, Polyphenols and inflammation: basic interactions, *Curr. Opin. Clin. Nutr Metab. Care* 10(6) (2007) 724-728.
- [35] A. Murakami, H. Ashida, J. Terao, Multitargeted cancer prevention by quercetin, *Cancer Lett.* 269(2) (2008) 315-325.
- [36] A.M. Rimando, N. Suh, Biological/chemopreventive activity of stilbenes and their effect on colon cancer, *Planta Med.* 74(13) (2008) 1635-1643.
- [37] S. Das, D.K. Das, Anti-inflammatory responses of resveratrol, *Inflamm Allergy Drug Targets* 6(3) (2007) 168-173.

- [38] C.A. de la Lastra, I. Villegas, Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: mechanisms and clinical implications, Mol. Nutr. Food Res. 49(5) (2005) 405-430.
- [39] J.H. Kundu, Y.J. Surh, Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: mechanistic perspectives, Cancer Lett. 269 (2) (2008) 243-261.
- [40] J. Cuzick, F. Otto, J.A. Baron, P.H. Brown, J. Burn, P. Greenwald, J. Jankowski, C. La Vecchia, F. Meyskens, H.J. Senn, M. Thun, Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement, Lancet Oncol. 10(5) (2009) 501-507.
- [41] E. Wenzel, V. Somoza, Metabolism and bioavailability of *trans*-resveratrol, Mol. Nutr. Food Res. 49(5) (2005) 472-481.