

# Hepatoprotektivno djelovanje fitokemikalija

## Hepatoprotective activity of phytochemicals

Robert Domitrović

Zavod za kemiju i biokemiju,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci,  
Rijeka

Primljeno: 6. 10. 2011.  
Prihvaćeno: 9. 1. 2012.

Adresa za dopisivanje:  
**Prof. dr. sc. Robert Domitrović**  
Zavod za kemiju i biokemiju  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci  
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka  
e-mail: robertd@medri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

**Sažetak.** Jetra je središnji organ u detoksikaciji ksenobiotika i proizvoda metabolizma i kao takav podložan je oštećenju. Brojni čimbenici mogu dovesti do oštećenja jetre, prije svega egzogeni čimbenici kao što su lijekovi, alkohol, neki sastojci hrane, hepatotropni virusi i dr. Zbog ponovljenog izlaganja hepatotoksičnom agensu, akutno oštećenje može prerasti u kronični hepatitis, što često zahtijeva presađivanje organa. Danas još uvijek ne postoji uspješni način liječenja hepatitisa, te se naglasak stavlja na prevenciju. U terapiji oštećenja jetre, uz klasične lijekove kao što je interferon kod virusnog hepatitisa, raste spoznaja o mogućnosti korištenja iscrpaka nekih biljaka i njihovih najaktivnijih komponenti kao dopuna postojećoj terapiji. Brojna su istraživanja pokazala hepatoprotektivan učinak fitokemikalija kao što su silimarin, glicirizin, luteolin, kvercetin i drugi prirodni spojevi, kako u prevenciji, tako i u terapiji nekih oblika bolesti jetre. Njihov pozitivan učinak pripisuje se prvenstveno antioksidativnom djelovanju, no antioksidansi nisu „magični spojevi“ koji mogu nespecifično liječiti bilo koji poremećaj ili bolest. Istraživanja na životinjama i staničnim kulturama ukazuju na to da mnoge fitokemikalije ulaze u interakciju sa staničnom signalizacijom i ekspresijom gena, što može predstavljati osnovu za njihovo selektivno korištenje u specifičnim patološkim procesima.

**Ključne riječi:** fitokemikalije, ljekovito bilje, oštećenje jetre

**Abstract.** Liver is the central organ in detoxification of xenobiotics and metabolism products, and as such is subject to damage. Many factors can lead to liver damage, primarily exogenous factors such as drugs, alcohol, some food ingredients, hepatotropic viruses, etc. As a result of repeated exposure to a hepatotoxic agent, acute damage can develop into chronic hepatitis, which may require organ transplantation. Today, there is still no successful treatment for hepatitis, and thus the emphasis is on prevention. In the treatment of liver damage, in addition to classic drugs such as interferon for viral hepatitis, there is a growing awareness of the possibility of using some plant extracts and their most active components as a complement to existing therapies. Numerous studies have shown hepatoprotective effects of phytochemicals such as silymarin, glycyrrhizin, luteolin, quercetin and other natural compounds, both in prevention and in treatment of some forms of liver disease. Their positive effect is primarily attributed to antioxidant activity, but antioxidants are not “magic compounds” that can non-specifically treat any disorder or disease. Research in animals and cell cultures show that many phytochemicals interact with cell signalling and gene expression, which could be the basis for their selective use in specific pathological processes.

**Key words:** hepatic damage, medicinal plants, phytochemicals

## UVOD

Jetra ima središnju ulogu u biotransformaciji i uklanjanju toksičnih tvari iz organizma, stoga je osjetljiva na njihovo štetno djelovanje<sup>1,2</sup>. Određene ljekovite tvari, ako se predoziraju, a ponekad čak i u terapijskom rasponu, također mogu oštetiti jetru. Ostali kemijski agensi, poput onih koji se koriste u laboratorijima i industriji, prirodni spojevi i neki biljni preparati također mogu uzrokovati hepatotoksičnost. Primjeri biljnih i alternativnih lijekova uključuju kamfor, list divljeg kestena, valerijanu, gavez, pirolizidinske alkaloidne i dr.<sup>3</sup> Bolesti jetre predstavljaju značajni problem širom svijeta. Akutna upala jetre uzrokuje hepatotoksičnost, nekrozu i oksidativni stres u hepatocitima<sup>4</sup>. Pretpostavlja se da u većini slučajeva hepatocelularno oštećenje nije posljedica djelovanja samo toksina, već i upalnih stanica koje se infiltriraju na mjestu ozljede<sup>5</sup>. Progresivno uništavanje tkiva jetre vodi k razvoju kroničnih bolesti jetre. Kronični stadij bolesti jetre može rezultirati razvojem fibroze<sup>6</sup>. Fibroza nastaje kao posljedica stvaranja veziva radi nastojanja zacjeljenja oštećenja nastalih nekrozom parenhima jetre, što je karakterizirano promjenama u sintezi i razgradnji izvanstaničnog matriksa. Uznapredovala fibroza dovodi do poremećaja arhitekture jetre, portalne hipertenzije i može uzrokovati nepovratne promjene u cirkulaciji te razvoj ciroze<sup>7</sup>.

## KSENOBIOTICI SU ČEST UZROK OŠTEĆENJA JETRE

Više od 900 lijekova povezano je s oštećenjem jetre<sup>8</sup>. Naknadno utvrđivanje hepatotoksičnosti jest najčešći razlog za povlačenje nekog lijeka s tržišta. Kemijska sredstva obično uzrokuju supklinička oštećenja jetre koja se očituju samo kao povećanje vrijednosti jetrenih enzima. Oštećenje jetre inducirano lijekovima odgovorno je za 5 % svih hospitalizacija i 50 % svih akutnih oštećenja jetre<sup>9</sup>. Neki uobičajeni lijekovi, inače sigurni i pouzdani, u velikim dozama postaju hepatotoksični, primjerice paracetamol (acetaminofen). S obzirom na to da se većina lijekova metabolizira u jetri, kod osoba s bolesnom jetrom teško je predvidjeti na koji će se način promijeniti lijek i kakav će mu biti konačni učinak. Oko 75 % krvi pristiže do jetre izravno iz probavnog trakta portalnim vena-

ma, kojima lijekovi i ksenobiotici dolaze u koncentriranom obliku. Nekoliko mehanizama odgovorno je za izazivanje bilo oštećenja jetre, bilo pogoršanja postojećeg oštećenja. Tako mnogi toksini izazivaju oštećenja mitohondrija, a njihova disfunkcija uzrokuje otpuštanje velike količine oksidansa koji pak oštećuju jetrene stanice<sup>10</sup>. Aktivacija pojedinih enzima sustava citokroma P-450, kao što je CYP2E1, također dovodi do oksidativnog stresa. Oštećenje hepatocita i stanica epitela žučnih vodova dovodi do nakupljanja žuč-

Hepatoprotektivan učinak aktivnih sastojaka ljekovitog bilja pripisuje se prvenstveno njihovom antioksidativnom djelovanju, no antioksidansi nisu „magični spojevi” koji mogu nespecifično liječiti bilo koji poremećaj ili bolest.

nih kiselina unutar jetre, što potiče daljnja oštećenja jetre<sup>11</sup>. Neparahimske stanice kao što su Kupfferove stanice, zvjezdaste stanice i leukociti (neutrofili i monociti) također imaju ulogu u mehanizmu oštećenja tkiva jetre<sup>10</sup>.

## SLOBODNI RADIKALI

Slobodni radikali spojevi su koji prirodno nastaju u metabolizmu<sup>12</sup>. Mnogi od njih imaju značajnu fiziološku ulogu (dušikov oksid, superoksidni radikal), no povećana proizvodnja rezultira oštećenjem proteinskih molekula, lipida i genetičkog materijala. Isto tako, stvaranje slobodnih radikala u organizmu potiču brojni čimbenici okoliša<sup>13</sup>. Toksične tvari, kao što su brojni lijekovi i alkohol, također utječu na stvaranje slobodnih radikala. Količinu slobodnih radikala povećavaju zagađen zrak, pušenje, izlaganje suncu, kronične bolesti, infekcije, kancerogene tvari iz hrane (namirnice pržene na visokoj temperaturi ili roštilju), intenzivno vježbanje i genska predispozicija<sup>13</sup>. U stabilnim molekulama elektroni su udruženi u parovima. U normalnim metaboličkim procesima, kao što je pretvaranje hrane u energiju, može se ukloniti jedan elektron iz para, pri čemu nastaju slobodni radikali<sup>14</sup>. Molekula s nesparenim elektronom potražuje druge elektrone kako bi upotpunila vlastiti elektronski par, te uzima elektron drugoj molekuli, pri čemu nastaje novi slobodni radikal. Lančana re-

akcija otimanja i gubljenja elektrona u organizmu uzrokuje veliku štetu stanicama<sup>15</sup>. Slobodni radikali zajedno s ostalim spojevima koji pokazuju visoku reaktivnost, a potiču od kisika, svrstavaju se u skupinu reaktivnih spojeva kisika (engl. *reactive oxygen species*; ROS).

### Glavni izvori ROS-a

Reaktivni spojevi kisika (ROS) mogu nastati u svim procesima u kojima dolazi do izmjene elektrona, a najčešćim uzročnicima njihovog stvaranja smatraju se<sup>16</sup>:

1. respiratorni lanac u mitohondriju
2. endoplazmatski retikulum (reakcije na citokromu P-450)
3. oksidacija hemoglobina u eritrocitima
4. posebne stanice (leukociti, makrofagi i dr. stvaraju superoksid putem NADPH-oksidadze)
5. egzogeni čimbenici (UV-svjetlo, X-zrake, toksične kemikalije, aromatski nitro-spojevi i dr.).

Stvaranje radikala unutar mitohondrija posljedica je nedostatka elektrona koji prelaze na kisik, koji se pritom reducira do superoksidnog radikala<sup>16</sup>. Najreaktivniji, hidroksilni radikali, nastaju enzimatski (neradikalnim putem, tj. djelovanjem glikolat oksidadze, acetyl-Co oksidadze, NADPH oksidadze, urat oksidadze i dr.) te razgradnjom superoksidnog radikala djelovanjem superoksid dismutaze (SOD) (radikalni put). NADPH oksidaza predstavlja multienzimski kompleks smješten na plazmatskoj membrani, koji ima značajnu ulogu u stvaranju ROS-a. Kompleks nije jednako izražen u svim stanicama, pa su u nekim stanicama za njegovu aktivaciju potrebni medijatori (kemokini te kemoatraktivni peptidi), a djelovanje enzima veže se uz neutrofile koji pri stvaranju ROS-a troše velike količine kisika. NADPH oksidaza stvara superoksidni radikal, koji dismutacijom prelazi u vodikov peroksid. Nastali vodikov peroksid u prisutnosti iona željeza i bakra daje reaktivne hidroksilne radikale ili hipokloritnu kiselinu u prisutnosti Cl<sup>-</sup> iona, čije nastajanje katalizira enzim mijeloperoksidaza<sup>17</sup>. Katalaza i glutation peroksidaza (GSHPx) su antioksidativni enzimi koji učinkovito razgrađuju stvoreni vodikov peroksid.

### ANTIOKSIDANSI

Antioksidansi su skupina različitih spojeva koji predstavljaju zaštitu od štetnog djelovanja slo-

bodnih radikala<sup>19</sup>. Unosimo ih hranom, poput vitamina i nekih minerala, no mnogi od njih stvaraju se u organizmu. Antioksidansi mogu biti enzimatskog (katalaza, SOD, GSHPx i drugi) i neenzimatskog podrijetla (glutation, vitamin C, vitamin E i drugi)<sup>19</sup>. Antioksidansi neutraliziraju slobodne radikale na više načina:

1. vezivanjem pro-oksidantnih metalnih iona (željezo, bakar)
2. uklanjanjem reaktivnih spojeva kisika (superoksidni radikal, vodikov peroksid)
3. inhibicijom enzima koji stvaraju slobodne radikale (NADPH oksidaza).

Njihovo djelovanje povezuje se s usporavanjem starenja, snižavanjem razine kolesterola, smanjenjem rizika od ateroskleroze, srčanog i moždanog udara, smanjenjem rizika od nastanka tumora, suzbijanjem rasta tumora, te zaštitom od brojnih drugih patoloških stanja. Danas se u prevenciji i zaštiti od bolesti jetre sve više koriste razne biljke te biljni pripravci i lijekovi. Njihovo najvažnije svojstvo je antioksidativno djelovanje. Silimarini je primjer fitokemikalije koja sprječava vezanje štetnih tvari na jetrene stanice<sup>20</sup>. Snažan je antioksidans koji onemogućava djelovanje slobodnih radikala.

### UTVRĐIVANJE OŠTEĆENJA JETRE

Oboljenja jetre mogu se ugrubo podijeliti na hepatocelularno i kolestatsko; ova oboljenja nisu međusobno isključiva i često se susreće mješoviti tip oštećenja<sup>21</sup>. Biokemijski biljezi često se koriste za utvrđivanje oštećenja određenog organa. Iako se biopsija jetre smatra najsigurnijom metodom utvrđivanja oštećenosti tkiva jetre, zbog invazivnosti metode u praksi se najčešće koristi mjerenje aktivnosti jetrenih enzima aspartat aminotransferaze, alanin aminotransferaze i alkalne fosfataze te koncentracija bilirubina i albumina u serumu. Oštećenje jetre različite etiologije (upalni procesi, hipoksija, nekroza, opstrukcija žučnih vodova, lijekovi, bakterijski otrovi i dr.) ima za posljedicu narušavanje integriteta stanice i izlivanje staničnog sadržaja u krvotok te porast enzimske aktivnosti u serumu. Povećana aktivnost jetrenih enzima koja se otkrije za vrijeme rutinskih medicinskih pregleda povezana je sa stopom smrtnosti. Veza između aktivnosti aminotransfe-

raza i kasnijeg rizika od smrti je skoro linearna<sup>22</sup>, međutim, pouzdanost serumskih biljega kod nekih kroničnih bolesti jetre može biti upitna, što se događa kada je funkcionalno tkivo u toj mjeri smanjeno da se enzimi više nemaju odakle izlučivati u krvotok<sup>23,24</sup>.

No, još uvijek ne postoji savršeni biljeg oštećenja jetre, uključujući fibrozu i cirozu. Biopsija jetre tako ostaje *zlatni standard* u dijagnostici bolesti jetre<sup>25</sup>. Svojstva idealnog biljega su visoka osjetljivost i specifičnost, nizak rizik za bolesnika, visoka reproducibilnost i lako tumačenje rezultata. Istraživani su brojni biljezi hepatične fibroze (npr. hijaluronska kiselina, kolagen, matriksne metaloproteinaze i drugi), no njihova dijagnostička primjena pokazala se ograničenom. Zbog dijagnostičkih ograničenja pojedinih biljega počeli su se upotrebljavati paneli biljega koji povećavaju dijagnostičku točnost<sup>26,27</sup>. Neki od ovih panela predloženi su kao moguća zamjena za biopsiju jetre.

#### REGENERATIVNA SPOSOBNOST JETRE

Jetra posjeduje osobitu sposobnost kompenzacijske hiperplazije i nadomještanja tkiva, odnosno uspostavljanja prvotne mase, u skladu s veličinom organizma<sup>28</sup>. Nakon obnove originalne mase organa rast se u potpunosti zaustavlja. Za razliku od drugih tkiva koja se regeneriraju (koštana srž, koža) regeneracija jetre ne ovisi o progenitorskim stanicama. Ako je oštećenje jetre tako velikog intenziteta da odstranjuje značajnu masu funkcionalnog parenhima, aktiviraju se procesi regeneracije tkiva s potpunim obnavljanjem strukture i funkcije. Oštećenja malog intenziteta koja se ponavljaju i dovoljno su jaka da potaknu regenerativni odgovor, dovode do stvaranja ožiljka. U oba tipa odgovora prisutno je povećanje sinteze i odlaganja kolagena, no oni se razlikuju po tipu stvarenog kolagena, mjestima odlaganja i intenzitetu remodelirajućeg procesa<sup>29</sup>. Dok se u kompenzacijskom regenerativnom odgovoru stvaraju kolageni potrebni za stvaranje novih sinusoida i obnove arhitekture jetre, u fibrotičnoj jetri glavni kolagen prisutan u ožiljnom tkivu uglavnom je kolagen tipa I. Progresija fibroze mijenja hepatičnu arhitekturu i dovodi do ciroze i portalne hipertenzije. U cirozi jetre nalazi se 5 do10 puta više jetre-

nog kolagena s formiranjem fibrila i fibronektina<sup>30</sup>. Sinusoide se mijenjaju u kapilare uz gubitak endotelnih fenestracija, čime se smanjuje metabolička izmjena tvari između krvi i hepatocita. Učinkovita terapija za liječenje ciroze jetre u ljudi ne postoji.

#### FARMAKOLOŠKO DJELOVANJE FITOKEMIKALIJA

U posljednjih nekoliko godina znatna je pozornost posvećena ljekovitom bilju s antioksidativnim svojstvima<sup>31</sup>. Kao dio alternativne strategije prevencije bolesti, biljke tradicionalno korištene u narodnoj medicini postaju važni čimbenici u očuvanju ljudskog zdravlja. Fitokemikalije s potencijalnom terapijskom ulogom razvile su se u određenim biološkim sustavima kao sastavni dio njihovog metabolizma ili kao sekundarni metaboliti koje proizvodi odgovarajući organizam kao zaštitu unutar vlastitog okruženja. Prirodni spojevi s farmakološkim djelovanjem u ljudi ostvaruju mnogobrojne interakcije s unutarstaničnim i izvanstaničnim molekulama<sup>31</sup>. Predložen je velik broj potencijalnih mehanizama djelovanja fitokemikalija u prevenciji i terapiji različitih bolesti, uključujući bolesti jetre, koji su također neovisni o njihovoj antioksidativnoj aktivnosti<sup>31</sup>.

Biljke sadržavaju mnogobrojne fitokemikalije, uključujući jednostavne polifenole, fenolne kiseline, kumarine, stilbene, tanine, lignane i lignine<sup>32</sup>. Polifenoli su najpoznatiji mikronutrijenti obilno zastupljeni u prehrani, uz voće i pića, kao što su čaj i crno vino kao njihov glavni izvor. Zdravstveni učinci polifenola ovise o konzumiranoj količini i njihovoj bioraspoloživosti. Flavonoidi su najrasprostranjeniji polifenolni spojevi prisutni u biljkama, koji se, ovisno o stupnju oksidacije na središnjem C prstenu, mogu podijeliti u nekoliko klasa: flavanoli, flavanonoli, flavanoni, flavoni, izoflavoni, flavonoli i anthocyanidini<sup>33</sup>. Za polifenole je do sada pokazano da pokazuju širok spektar farmakološkog djelovanja. Primjerice, flavonoidi pokazuju protualergijsko<sup>34</sup>, protuupalno<sup>35</sup>, antidijabetičko<sup>36</sup>, kardioprotektivno<sup>37</sup>, vazoprotektivno<sup>38</sup>, neuroprotektivno<sup>39</sup>, hepatoprotektivno<sup>40,41</sup>, gastroprotektivno<sup>42</sup>, antivirusno<sup>43</sup> i antikancerogeno djelovanje<sup>44</sup>. Flavonoidi su također potencijalni inhibitori stanične autoimunosti<sup>45</sup>.

Mnogi od tih spojeva ponašaju se kao regulatori unutarstaničnih procesa, kao što su stanična signalizacija ili ekspresija odgovarajućih gena<sup>31</sup>. Molekularni mehanizmi zaštite i terapijske aktivnosti polifenola u različitim patološkim stanjima ne može se pripisati isključivo njihovom antioksidativnom djelovanju, već i izravnoj blokadi signalnih putova. Primjerice, antocijani, klasa flavonoida, utječu na aktivnost preko 120 receptora, signalnih molekula, transkripcijskih čimbenika i gena, izravno reagirajući s više od 20 molekularnih

Fitokemikalije, osim antioksidativnog djelovanja, ostvaruju farmakološki učinak međudjelovanjem sa signalnim molekulama, transkripcijskim čimbenicima i genima, ponašajući se kao regulatori unutarstaničnih procesa.

ciljeva<sup>31</sup>. Njihova aktivnost je uvelike ovisna o strukturi, pri čemu antioksidativni potencijal nužno ne korelira s njihovom sposobnošću da utječu na odvijanje unutarstaničnih i izvanstaničnih procesa.

#### HEPATOPROTEKTIVNO DJELOVANJE FITOKEMIKALIJA

Danas se sve više ljudi oslanja na tradicionalnu narodnu medicinu. Pokusima na životinjama i staničnim kulturama pokazano je da prirodni spojevi mogu ublažiti patološke promjene u jetri. U velikom broju ljekovitog bilja pronađene su hepatoprotektivne fitokemikalije, od kojih se nekoliko pokazalo vrlo učinkovitim kod različitih vrsta oštećenja jetre. U te spojeve ubrajaju se silimarini (lat. *Silybum marianum*), kurkumin (lat. *Curcuma longa*), pikrozid i kutkozid (lat. *Picrorhiza kurroa*), filantini i hipofilantini (lat. *Phyllanthus amarus*), glicirizin (lat. *Glycyrrhiza glabra*), berberin (lat. *Berberis vulgaris*), luteolin, kvercetin (široko rasprostranjeni) i drugi<sup>46</sup>. Biljke s velikim udjelom polifenola, kao što je zeleni čaj (lat. *Camellia sinensis*), također pokazuju učinkovitost u zaštiti jetre. Za ove spojeve utvrđeno je da štite stanice jetre od raznih toksina, uključujući acetaminofen, etanol, fenobarbital, ugljik tetraklorid i galaktozamin, od ishemijske ozljede, radioaktivnog zračenja, intoksikacije željezom i hepatotropnih viru-

sa<sup>47</sup>. Mehanizama koji pružaju hepatoprotektivni učinak je mnogo, a uključuju antioksidativno djelovanje, poboljšanje detoksikacije i zaštitu od gubitka glutationa, inhibiciju sinteze leukotriena i dr. Istraživanja također pokazuju da ovi spojevi povećavaju sintezu proteina, smanjuju aktivnost tumorskih promotora, stabiliziraju mastocite, moduliraju imunološki sustav te djeluju protuupalno i antifibrotički<sup>47</sup>. Osim toga, spojevi poput silimarina stimuliraju regeneraciju jetre, povećavajući sintezu deoksiribonukleinske kiseline (DNK), formiranje ribosoma i sintezu proteina u oštećenoj jetri<sup>47</sup>. Također, važno je napomenuti da je toksičnost biljaka koje imaju hepatoprotektivan učinak i spojeva izoliranih iz njih općenito gledajući vrlo mala.

#### *Silybum marianum*

Hepatoprotektivna učinkovitost biljnih iscrpaka i njihovih farmakološki aktivnih sastojaka ovisi o vrsti i težini oštećenja jetre. Primjerice, u nekoliko manjih kliničkih istraživanja, iscrpak sikavice (lat. *Silybum marianum*) nije značajnije utjecao na tijek bolesti. Tretman bolesnika s kroničnim hepatitisom C tijekom 4 tjedna iscrpkom *Silybum marianum* (160 mg/kg triput dnevno) rezultirao je smanjenjem serumskih pokazatelja oštećenja jetre, ali bez značajnog utjecaja na viremiju<sup>48</sup>. U drugom istraživanju, u ispitanika koji su tretirani s iscrpkom *Silybum marianum* 600 mg ili 1200 mg/dan tijekom 12 tjedana, nije bilo značajnijeg utjecaja na količinu ribonukleinske kiseline (RNK) virusa hepatitisa C (HCV) u serumu, razinu ALT ili kvalitetu života<sup>49</sup>. Indikativno je da *Silybum marianum* može imati djelomičan zaštitni učinak na upalni odgovor u kroničnom hepatitisu C, ali ne i ulogu kao antivirusno sredstvo. U svakom slučaju, potrebna su daljnja istraživanja potencijalne koristi biljnih iscrpaka kroz dulji vremenski period. Moguć razlog neučinkovitosti biljnog iscrpka vjerojatno leži u činjenici da su najaktivnije komponente koje pokazuju hepatoprotektivno djelovanje zastupljene u manjoj mjeri nego ako ih se primijeni pojedinačno. Tako je primjena 140 mg silimarina triput dnevno tijekom 4 tjedna rezultirala poboljšanjem kliničkih simptoma akutnog hepatitisa, premda je izostao učinak na biljege upalnog procesa<sup>50</sup>. S druge strane, silibinin, farmakološki najaktivniji flavonoli-

gnanski spoj u silimarinu (ostale komponente su izosilubin, silidianin i silikristin), u većem broju studija značajno je poboljšao kliničke simptome i biokemijske biljege funkcije jetre kod akutnog i kroničnog hepatitisa, alkoholne bolesti jetre i oštećenja jetre uzrokovanih lijekovima<sup>51-53</sup>. Pored toga, silibinin je pokazao antifibrotički učinak smanjujući stvaranje glavnog fibrogeničkog citokina TGF- $\beta$ 1<sup>53</sup>. Silibinin se također pokazao kao snažan inhibitor ljudskih zvjezdastih stanica jetre *in vitro*, koje su glavni proizvođač izvanstaničnog matriksa odgovornog za stvaranje vezivnog tkiva, karakterističnog za fibrozu jetre<sup>54,55</sup>. Antivirusno djelovanje silibinina pokazano je inhibicijom RNK-ovisne polimeraze HCV<sup>56</sup>.

### ***Phyllanthus* i *Glycyrrhizin glabra***

Osim sikavice, potencijalni terapijski učinak na bolesti jetre imaju biljke porodice *Phyllanthus* i slatki korijen (lat. *Glycyrrhizin glabra*). *Phyllanthus fraternus* je tako pokazao zaštitan učinak protiv mitohondrijske disfunkcije inducirane bromobenzenom u mitohondrijima jetre kod štakora<sup>57</sup>. Iscrpak *Phyllanthus urinaria* spriječio je hepatotoksičnost induciranu acetaminofenom, inhibirajući citokrom P450 CYP2E1<sup>58</sup>. U kulturi hepatocita štakora, filantin, aktivni sastojak biljaka porodice *Phyllanthus*, spriječio je unutarstanični porast ROS-a i lipidnu peroksidaciju<sup>59</sup>. Iscrpak *Phyllanthus urinaria* ublažio je steatohepatitis u miševa i u kulturi hepatocita, smanjujući nakupljanje lipida<sup>60</sup>. Protektivni učinak iscrpka *Phyllanthus urinaria* praćen je inhibicijom citokroma P450 2E1, proupalnih citokina čimbenika nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ ) i interleukina (IL)-6, povećanom ekspresijom lipolitičkog citokroma P450 (Cyp4a10) te potiskivanjem transkripcijske aktivnosti lipogeničkog čimbenika C/EBP $\beta$ . Iscrpak *Phyllanthus polyphyllus* pokazao je antitumorsko djelovanje u miševa i ljudskim tumorskim staničnim linijama MCF7 (karcinom dojke), HT29 karcinom kolona i HepG2 (karcinom jetre)<sup>61</sup>, no nedostatak relevantnih kliničkih istraživanja onemogućava donošenje bilo kakvog zaključka o hepatoprotektivnom djelovanju biljaka porodice *Phyllanthus* kod ljudi. Štoviše, rijetka istraživanja na bolesnicima pokazala su da *Phyllanthus amarus* nije učinkovit u terapiji virusnog hepatitisa<sup>62</sup>, dok je glicirizin, triter-

penski sastojak *Glycyrrhizin glabra*, uspješno smanjio titar HCV *in vitro*<sup>63</sup>. Štoviše, u kombinaciji s interferonom, glicirizin je pokazao sinergistički učinak. Hepatoprotektivno djelovanje glicirizina pripisuje se sprječavanju promjena u propusnosti stanične membrane<sup>64</sup>. Gliciretinična kiselina, drugi sastojak pronađen u *Glycyrrhizin glabra*, također posjeduje zaštitno svojstvo protiv oštećenja jetre inducirano hepatotoksičnim alkaloidom retrorzinom<sup>65</sup>. Gliciretinična kiselina pokazala se snažnijim hepatoprotektivnim sredstvom od glicirizina u modelu oštećenja jetre galaktozaminom<sup>66</sup>. Zanimljivo, u kolestatskom modelu oštećenja jetre, glicirizin je pokazao pro-apoptotično djelovanje, dok je gliciretinična kiselina djelovala kao snažan inhibitor apoptoze i nekroze inducirane žučnim kiselinama<sup>67</sup>. Rezultati nedavno provedenog istraživanja pokazali su da glicirizin sprječava ishemijsko-reperfuzijsko oštećenje jetre inhibicijom HMGB1 (engl. *high-mobility group box 1*), ranog medijatora upale<sup>68</sup>. Glicirizin također potiče ekspresiju junB, što ovaj spoj čini zanimljivim za daljnje istraživanje, s obzirom na to da se aktivacija c-jun onkogene događa u ranim fazama transformacije kroničnog hepatitisa u karcinom jetre<sup>69</sup>. U jednom kliničkom istraživanju, intravenska primjena SNMC (engl. *Stronger Neo-Minophagen C*), japanskog preparata koji sadrži 0,2 % glicirizina, 0,1 % cisteina i 2 % glicina, spriječila je napredovanje bolesti u bolesnika s akutnim napadom autoimunog hepatitisa<sup>70</sup>. Slično tome, Korenaga i suradnici pokazali su na mišjem modelu da SNMC smanjuje oksidativni stres i steatozu jetre izazvanu kombinacijom bjelančevine virusa hepatitisa C i željeza<sup>71</sup>.

### ***Picrorhiza kurroa*, *Curcuma longa* i *Camellia sinensis***

Nekoliko drugih biljaka i njihovih aktivnih sastojaka intenzivno je istraživano u prevenciji i terapiji bolesti jetre. Pikroliv, mješavina iridoidnih glikozida izoliranih iz biljke *Picrorhiza kurroa*, normalizirao je pokazatelje akutnog oštećenja jetre inducirano etanolom<sup>72</sup> i aflatoksinom B1 u štakora<sup>73</sup>. Pikroliv je također učinkovito spriječio hepatokarcinogenezu izazvanu N-nitrozodietilaminom<sup>74</sup> te hiperlipidemiju, steatozu jetre i mobilizaciju lipida iz adipoznog tkiva u štakora tretiranih s hidrazinom<sup>75</sup>. U štakora kronično intoksiciranih s kad-

mijem, pikroliv je također ublažio patološke promjene u jetri i bubrezima<sup>76</sup>. Vodeni iscrpak korijena *Picrorhiza kurroa* značajno je smanjio posljedice intoksikacije tetraklorugljikom u štakora<sup>77</sup>. Zanimljivo, Pikroliv je uspješnije ublažio patološke promjene u jetri štakora intoksiciranih galaktozaminom nego njegova dva najpoznatija aktivna sastojka, pikrozid i kutkozid, pojedinačno<sup>78</sup>.

*Curcuma longa* (kurkuma), biljka koja uspijeva u tropskim i suptropskim krajevima, također je pokazala brojne blagotvorne učinke u *in vivo* i *in vitro* istraživanjima. Etanolni iscrpak ove biljke pokazao je zaštitni učinak protiv hepatotoksičnosti u štakora izazvane tetraklorugljikom, povećanjem aktivnosti antioksidativnih enzima i enzima faze II detoksikacije<sup>79</sup>. Vodeni iscrpak kurkume spriječio je replikaciju virusa hepatitisa B (HBV) u HepG 2.2.15 stanicama, inhibirajući gensku ekspresiju X proteina virusa hepatitisa B (HBx), nužnog za njegovu virulentnost<sup>80</sup>. U štakora hranjenih prehranom obogaćenom kolesterolom, iscrpak kurkume spriječio je hiperkolesterolemiju i stvaranje masne jetre, smanjujući aktivnost 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA reduktaze te povećavajući ekspresiju gena za kolesterol 7 $\alpha$ -hidroksilazu i receptore lipoproteina niske gustoće, važnih u metabolizmu kolesterola<sup>81</sup>. Sintetizirani derivat kurkumina, monoacetilkurkumin, pokazao je snažnu inhibiciju aktivacije nuklearnog faktora-kappaB (NF- $\kappa$ B) i proizvodnje TNF- $\alpha$  uzrokovanih lipopolisaharidom<sup>82</sup> *in vivo* i *in vitro*. Zanimljivo, monoacetilkurkumin je pokazao veću učinkovitost kao kemo-preventivan agens od kurkumina. Nedavno istraživanje pokazalo je da je iscrpak kurkume pokazao veću aktivnost u sprječavanju hepatokarcinogeneze izazvane dietilnitrozaminom od iscrpka mire (lat. *Commiphora molmol*)<sup>83</sup>. No, obje biljke pokazale su značajnu hepatotoksičnost u netretiranih životinja, ukazujući na nužan oprez u korištenju biljnih pripravaka u terapiji.

Zeleni čaj (lat. *Camellia sinensis*) također posjeduje hepatoprotektivan učinak, izraženiji u odnosu prema drugim vrstama čaja, primjerice crnom čaju<sup>84</sup>. Polifenolni iscrpak zelenog čaja ublažio je oštećenje jetre te apoptotične, oksidativne i pro-upalne promjene u jetri štakora nakon hemoragije s naknadnim oporavkom (engl. *hemorrhage/*

*resuscitation*)<sup>85</sup>. Polifenolni sastojci iscrpka spriječili su aktivaciju c-Jun N-terminalne kinaze i NF- $\kappa$ B, značajnih posrednika upalnog procesa. Histološke promjene i poremećaj serumskih biljega oštećenja jetre nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede u štakora ublažene su jednokratnom dozom zelenog čaja<sup>86</sup>. Zaštitni učinak iscrpka popraćen je smanjenom ekspresijom TNF- $\alpha$  i superoksid dismutaze. Slično tome, iscrpak zelenog čaja značajno je smanjio stvaranje reaktivnih spojeva kisika i dušika te pro-upalnih citokina TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$ <sup>87</sup>. U miševa intoksiciranih željezom, poznatim pro-oksidansom, iscrpak zelenog čaja smanjio je nakupljanje željeza u jetri i prekomjerno stvaranje slobodnih radikala te oksidativni stres<sup>88</sup>. Također, u štakora hranjenih aterogeničnom prehranom<sup>89</sup> ili izloženih kadmiju<sup>90</sup>, iscrpak zelenog čaja uspio je ublažiti oksidativni stres i oštećenje jetre. Klinička istraživanja ukazuju na to da konzumacija zelenog čaja može smanjiti rizik od bolesti jetre u ljudi<sup>91</sup>. Poznato je da epigalokatehin galat, glavni katehin u zelenom čaju, ima modulacijsku ulogu u raznim bolestima kod ljudi, utječući na brojne signalne puteve<sup>92</sup>. No, uzimanje iscrpaka zelenog čaja također može izazvati neželjene učinke, kao što je to hepatotoksičnost, ako se unosi u koncentriranom obliku<sup>93,94</sup>. Ovakvi nalazi potvrđuju sumnju da prevelik unos antioksidansa može imati suprotan učinak, tj. pro-oksidativno djelovanje.

### Ostale hepatoprotektivne fitokemikalije

Premda su relevantna klinička istraživanja rijetka, iscrpci mnogih drugih biljaka (borovnica, korijen maslačka, žutika) i njihovih aktivnih sastojaka (antocijanidin delfinidin, flavonol luteolin, alkaloid berberin) pokazali su značajan hepatoprotektivan potencijal u eksperimentalnim modelima akutnog i kroničnog oštećenja jetre<sup>40,41,95-97</sup>. Svi ovi spojevi pokazali su se uspješnima u smanjivanju oksidativnog stresa i upalnog odgovora u tkivu jetre nakon izlaganja tetraklorugljiku, snažnom hepatotoksinu. U modelima kroničnog oštećenja jetre, iscrpak korijena maslačka i borovnice te njihovi aktivni spojevi luteolin i delfinidin, spriječili su progresivni razvoj fibroze indicirane tetraklorugljikom. Zaštitni učinak postignut je potiskivanjem transformirajućeg čimbenika rasta beta1

(TGF- $\beta$ 1), inaktivacijom zvjezdastih stanica jetre i promjenom aktivnosti matriksnih metaloproteina, odgovornih za remodeliranje tkiva jetre i uklanjanje naslaga kolagena. Berberin, alkaloid izoliran iz biljke *Berberis vulgaris*, u nas poznate kao žutika, koja se tradicionalno koristila u liječenju različitih bolesti jetre, jedan je od zanimljivih spojeva koji prate kontroverze zbog relativno velike toksičnosti u eksperimentalnih životinja. Tako je LD<sub>50</sub> kod intraperitonealne primjene procijenjena na 30 mg/kg u miševa, odnosno 205 mg/kg u štakora<sup>98</sup>. Zanimljivo, istraživanja na ljudima, koja su provedena prije nego na pokusnim životinjama, pokazala su da se berberin dobro podnosi čak i kada se uzima u velikim dozama kroz duže vremensko razdoblje. Tako je u bolesnika s dijagnostificiranim dijabetesom tipa 2 i oslabljenom funkcijom jetre oralna primjena berberina (1 g dnevno tijekom 2 mjeseca) uspješno snizila razinu glukoze u krvi i ublažila oštećenje jetre, bez značajnih nuspojava<sup>99,100</sup>. Tretman berberinom (1 g dnevno tijekom 3 mjeseca, oralno) poboljšao je funkciju jetre i ublažio znakove dislipidemije u hiperlipidemičnih bolesnika s hepatitisom C i cirozom jetre te u bolesnika s dijabetesom tipa 2<sup>100,101,102</sup>. Slično tome, istraživanje provedeno na 1751 dislipidemičnim bolesnikom tijekom 16 tjedana pokazalo je poboljšanje lipidnog statusa u krvi, sa značajnim smanjenjem ukupnog rizika od kardiovaskularnih bolesti<sup>102,103</sup>. U istraživanju je korištena kombinacija nutraceutika, s dnevnim unosom berberina od 500 mg. U svakom slučaju, berberin treba izbjegavati u trudnica, jer može izazvati žuticu i kernikterus u fetusa<sup>99,103</sup>.

#### ZAKLJUČAK I PERSPEKTIVE

Različiti agensi, uključujući lijekove, mogu uzrokovati oštećenje jetre. Ponekad su nuspojave djelovanja određenih lijekova neizbježne, pri čemu je važno procijeniti odnos koristi i štete. Liječenje bolesti jetre, kao što su ciroza jetre, masna jetra i kronični hepatitis, obično je vrlo teško. Djelotvornosti terapije spojevima kao što su interferon, kolhicin, penicilamin i kortikosteroidi nedovoljno su učinkovite, a učestalost nuspojava velika. Fitokemikalije s niskom učestalošću nuspojava sve se češće istražuju u prevenciji i terapiji bolesti jetre, ukazujući na opravdanost njihovog tradicional-

nog korištenja u narodnoj medicini. Hepatoprotektivan učinak biljnih iscrpaka i izoliranih farmakološki aktivnih komponenti uglavnom se pripisuje njihovom antioksidativnom djelovanju. No sama antioksidativna učinkovitost nekog spoja nije jamstvo terapijske djelotvornosti. Također se ne smije smetnuti s uma da prevelik unos antioksidansa može imati negativan učinak na metabolizam, djelujući pro-oksidativno i uzrokujući stanje oksidativnog stresa<sup>104,105</sup>. S druge strane, unos spojeva s izraženim antioksidativnim djelo-

**Budućnost kliničke upotrebe spojeva izoliranih iz ljekovitog bilja ovisi o detaljnom poznavanju njihove toksičnosti i mehanizama djelovanja.**

vanjem može predstavljati dobar preventivni pristup smanjivanju rizika od oštećenja jetre. Učinkovitost fitokemikalija u terapiji bolesti jetre, premda obećavajuća, zahtijeva dodatna, prije svega kompetentna klinička istraživanja. Također je važno naglasiti da su nužna daljnja bazična istraživanja usmjerena prije svega na sigurnost uporabe određenih fitokemikalija u ljudi. Naposljetku, čini se da aktivni sastojci ljekovitog bilja često pokazuju hepatoprotektivno djelovanje ovisno o vrsti bolesti. Ova činjenica govori u prilog strukturalnim posebnostima različitih spojeva, praveći jasan odmak od nespecifičnog antioksidativnog djelovanja karakterističnog za većinu hepatoprotektivnih spojeva. Stoga neki autori predlažu specifičnu primjenu pojedinih aktivnih sastojaka ljekovitog bilja u terapiji bolesti jetre. Tako Girish i Pradhan predlažu primjenu elagične kiseline za terapiju fibroze, filantin za liječenje kroničnog hepatitisa B i glicirizin za liječenje kroničnog virusnog hepatitisa<sup>106</sup>.

#### LITERATURA

1. Bissel DM, Gores GJ, Laskin DL, Hoorhagle JH. Drug-induced liver injury: mechanisms and test systems. *Hepatology* 2001;33:1009-13.
2. Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury. *J Hepatol* 2000;32:39-47.
3. Pak E, Esrason KT, Wu VH. Hepatotoxicity of herbal remedies: an emerging dilemma. *Progr Transplant* 2004;14:91-6.
4. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;(Suppl 1):173-9.



5. Ramadori G, Armbrust T. Cytokines in the liver. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:777-84.
6. Batailler R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005;115:209-18.
7. Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:573-8.
8. Friedman SE, Grendell JH, McQuaid KR. *Current diagnosis and treatment in gastroenterology*. New York: Lang Medical Books/McGraw-Hill, 2003;664-9.
9. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiødt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Ann Intern Med* 2002;137:947-54.
10. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2002;65:166-76.
11. Patel T, Roberts LR, Jones BA, Gores GJ. Dysregulation of apoptosis as a mechanism of liver disease: an overview. *Semin Liv Dis* 1998;18:105-14.
12. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002;82:47-95.
13. Ansari KN. The free radicals--the hidden culprits--an update. *Indian J Med Sci* 1997;51:319-36.
14. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd Edition. Oxford: Oxford University Press, 2007;36-104.
15. Štefan L, Tepšić T, Zaviđić T, Urukalo M, Tota D, Domitrović R. Lipidna peroksidacija: uzroci i posljedice. *Medicina* 2007;43:84-94.
16. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd Edition. Oxford: Oxford University Press, 2007;1-35.
17. Mütze S, Hebling U, Stremmel W, Wang J, Arnhold J, Pantopoulos K et al. Myeloperoxidase-derived hypochlorous acid antagonizes the oxidative stress-mediated activation of iron regulatory protein 1. *J Biol Chem* 2003;278:40542-9.
18. Reynolds WF, Patel K, Pianko S, Blatt LM, Nicholas JJ, McHutchison JG. A genotypic association implicates myeloperoxidase in the progression of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Genes Immun* 2002;3:345-9.
19. Halliwell B., Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd Edition. Oxford: Oxford University Press, 2007;105-245.
20. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res* 2006;124:491-504.
21. Mumoli N, Cei M, Cosimi A. Drug-related hepatotoxicity. *New Engl J Med* 2006;354:2191-3.
22. Lee TH, Kim WR, Benson JT, Therneau TM, Melton LJ 3rd. Serum aminotransferase activity and mortality risk in a United States community. *Hepatology* 2008;47:880-7.
23. Cheong JY, Kim DJ, Hwang SG, Yang JM, Kim YB, Park YN et al. Serum markers for necroinflammatory activity in patients with chronic viral hepatitis and normal or mildly elevated aminotransferase levels. *Liver Int*. In press; 2011.
24. Park SH, Kim CH, Kim DJ, Cheong JY, Cho SW, Hwang SG et al. Development and validation of a model to predict advanced fibrosis in chronic hepatitis B virus-infected patients with high viral load and normal or minimally raised ALT. *Dig Dis Sci* 2011;56:1828-34.
25. Andersen ES, Christensen PB, Weis N. Transient elastography for liver fibrosis diagnosis. *Eur J Intern Med* 2009;20:339-42.
26. Crockett SD, Kaltenbach T, Keeffe EB. Do we still need a liver biopsy? Are the serum fibrosis tests ready for prime time? *Clin Liver Dis* 2006;10:513-34.
27. Castera L, Pawlotsky JM. Noninvasive diagnosis of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Med Gen Med* 2005;7:39.
28. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997;276:60-6.
29. Rojkind M, Mourelle M. The liver as a bioecological system. Modifications during regeneration and repair. In: Nimni M (ed.) *Collagen: chemistry, biology and technology*. Boca Raton: CRC Press, 1988;137-60.
30. Arias IM, Boyer JL, Fausto N, Chisari FV, Schachter D, Shafritz DA. *The liver: biology and pathobiology*. New York: Raven Press, 1994;1367-81.
31. Domitrović R. The molecular basis for the pharmacological activity of anthocyanins. *Curr Med Chem* 2011;18:4454-69.
32. Naczek M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2006;41:1523-42.
33. Burda S, Oleszek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J Agr Food Chem* 2001;49:2774-9.
34. Kawai M, Hirano T, Higa S, Arimitsu J, Maruta M, Kuwahara Y et al. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. *Allergol Int* 2007;56:113-23.
35. Wei BL, Weng JR, Chiu PH, Hung CF, Wang JP, Lin CN. Antiinflammatory flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* and *Artocarpus communis*. *J Agric Food Chem* 2005;53:3867-71.
36. Sy GY, Cissé A, Nongonierma RB, Sarr M, Mbodj NA, Faye B. Hypoglycaemic and antidiabetic activity of acetonitrile extract of *Vernonia colorata* leaves in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2005;98:171-5.
37. Cook NC, Samman S. Flavonoids--chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem* 1996;7:66-76.
38. Bell DR, Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *J Appl Physiol* 2006;100:1164-70.
39. Schroeter H, Williams RJ, Matin R, Iversen L, Rice-Evans CA. Phenolic antioxidants attenuate neuronal cell death following uptake of oxidized low-density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* 2000;29:1222-33.
40. Domitrović R, Jakovac H, Tomac J, Šain I. Liver fibrosis in mice induced by carbon tetrachloride and its reversal by luteolin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;241:311-21.
41. Domitrović R, Jakovac H. Antifibrotic activity of anthocyanidin delphinidin in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology* 2010;272:1-10.
42. Zayachkivska OS, Konturek SJ, Drozdowicz D, Konturek PC, Brzozowski T, Ghegotsky MR. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. *J Physiol Pharmacol* 2005;(Suppl 1):219-31.

43. Wei F, Ma SC, Ma LY, But PP, Lin RC, Khan IA. Antiviral flavonoids from the seeds of *Aesculus chinensis*. *J Nat Prod* 2004;67:650-3.
44. Seelinger G, Merfort I, Wölflle U, Schempp CM. Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules* 2008;13:2628-51.
45. Verbeek R, Plomp AC, van Tol EA, van Noort JM. The flavones luteolin and apigenin inhibit *in vitro* antigen-specific proliferation and interferon-gamma production by murine and human autoimmune T cells. *Biochem Pharmacol* 2004;68:621-9.
46. Negi AS, Kumar JK, Luqman S, Shanker K, Gupta MM, Khanuja SP. Recent advances in plant hepatoprotectives: a chemical and biological profile of some important leads. *Med Res Rev* 2008;28:746-72.
47. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1. *Altern Med Rev* 1998;3:410-21.
48. Torres M, Rodríguez-Serrano F, Rosario DJ, Rodríguez-Perez F, Toro DH. Does *Silybum marianum* play a role in the treatment of chronic hepatitis C? *P R Health Sci J* 2004;(Suppl 2):69-74.
49. Gordon A, Hobbs DA, Bowden DS, Bailey MJ, Mitchell J, Francis AJ et al. Effects of *Silybum marianum* on serum hepatitis C virus RNA, alanine aminotransferase levels and well-being in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21:275-80.
50. El-Kamary SS, Shardell MD, Abdel-Hamid M, Ismail S, El-Ateek M, Metwally M et al. A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. *Phytomedicine* 2009;16:391-400.
51. Ferenci P, Scherzer TM, Kerschner H, Rutter K, Beinhardt S, Hofer H et al. Silibinin is a potent antiviral agent in patients with chronic hepatitis C not responding to pegylated interferon/ribavirin therapy. *Gastroenterology* 2008;135:1561-7.
52. Buzzelli G, Moscarella S, Giusti A, Duchini A, Marena C, Lampertico M. A pilot study on the liver protective effect of silybin-phosphatidylcholine complex (IdB1016) in chronic active hepatitis. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1993;31:456-60.
53. Loguercio C, Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, de Sio I, Di Leva A et al. The effect of a silybin-vitamin E-phospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Dig Dis Sci* 2007;52:2387-95.
54. Schümann J, Prockl J, Kiemer AK, Vollmar AM, Bang R, Tiegs G. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. *J Hepatol* 2003;39:333-40.
55. Falasca K, Ucciferri C, Mancino P, Vitacolonna E, De Tullio D, Pizzigallo E et al. Treatment with silybin-vitamin E-phospholipid complex in patients with hepatitis C infection. *J Med Virol* 2008;80:1900-6.
56. Ahmed-Belkacem A, Ahnou N, Barbotte L, Wychowski C, Pallier C, Brillet R et al. Silibinin and related compounds are direct inhibitors of hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *Gastroenterology* 2010;138:1112-22.
57. Gopi S, Setty OH. Protective effect of *Phyllanthus fraternus* against bromobenzene induced mitochondrial dysfunction in rat liver mitochondria. *Food Chem Toxicol* 2010;48:2170-5.
58. Hau DK, Gambari R, Wong RS, Yuen MC, Cheng GY, Tong CS et al. *Phyllanthus urinaria* extract attenuates acetaminophen induced hepatotoxicity: involvement of cytochrome P450 CYP2E1. *Phytomedicine* 2009;16:751-60.
59. Chirdchunpunseree H, Pramyothin P. Protective activity of phyllanthin in ethanol-treated primary culture of rat hepatocytes. *J Ethnopharmacol* 2010;128:172-6.
60. Shen B, Yu J, Wang S, Chu ES, Wong VW, Zhou X et al. *Phyllanthus urinaria* ameliorates the severity of nutritional steatohepatitis both *in vitro* and *in vivo*. *Hepatology* 2008;47:473-83.
61. Rajkapoor B, Sankari M, Sumithra M, Anbu J, Harikrishnan N, Gobinath M et al. Antitumor and cytotoxic effects of *Phyllanthus polyphyllus* on Ehrlich ascites carcinoma and human cancer cell lines. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007;71:2177-83.
62. Xia Y, Luo H, Liu JP, Gluud C. *Phyllanthus* species for chronic hepatitis B virus infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;4:CD008960.
63. Ashfaq UA, Masoud MS, Nawaz Z, Riazuddin S. Glycyrrhizin as antiviral agent against hepatitis C virus. *J Transl Med* 2011;9:112.
64. Nakamura T, Fujii T, Ichihara A. Enzyme leakage due to change of membrane permeability of primary cultured rat hepatocytes treated with various hepatotoxins and its prevention by glycyrrhizin. *Cell Biol Toxicol* 1985;1:285-95.
65. Lin G, Nnane IP, Cheng TV. The effects of pretreatment with glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on the retrorsine-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicol* 1999;37:1259-70.
66. Nose M, Ito M, Kamimura K, Shimizu M, Ogihara Y. A comparison of the antihepatotoxic activity between glycyrrhizin and glycyrrhetic acid. *Planta Med* 1994;60:136-9.
67. Gumprich E, Dahl R, Devereaux MW, Sokol RJ. Licorice compounds glycyrrhizin and 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid are potent modulators of bile acid-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 2005;280:10556-63.
68. Ogiku M, Kono H, Hara M, Tsuchiya M, Fujii H. Glycyrrhizin prevents liver injury by inhibition of high-mobility group box 1 production by kupffer cells after ischemia-reperfusion in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2011;339:93-8.
69. Koike K. Expression of junB is markedly stimulated by glycyrrhizin in a human hepatoma cell line. *Oncol Rep* 2011;25:609-17.
70. Yasui S, Fujiwara K, Tawada A, Fukuda Y, Nakano M, Yokosuka O. Efficacy of intravenous glycyrrhizin in the early stage of acute onset autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci*. In press; 2011.
71. Korenaga M, Hidaka I, Nishina S, Sakai A, Shinozaki A, Gondo T et al. A glycyrrhizin-containing preparation reduces hepatic steatosis induced by hepatitis C virus protein and iron in mice. *Liver Int* 2011;31:552-60.
72. Saraswat B, Visen PK, Patnaik GK, Dhawan BN. *Ex vivo* and *in vivo* investigations of picroliv from *Picrorhiza kurroa* in an alcohol intoxication model in rats. *J Ethnopharmacol* 1999;66:263-9.
73. Rastogi R, Srivastava AK, Rastogi AK. Biochemical changes induced in liver and serum of aflatoxin B1-treated male wistar rats: preventive effect of picroliv. *Pharmacol Toxicol* 2001;88:53-8.
74. Rajeshkumar NV, Kuttan R. Inhibition of N-nitrosodihylamine-induced hepatocarcinogenesis by Picroliv. *J Exp Clin Cancer Res* 2000;19:459-65.

75. Vivekanandan P, Gobianand K, Priya S, Vijayalakshmi P, Karthikeyan S. Protective effect of picroliv against hydrazine-induced hyperlipidemia and hepatic steatosis in rats. *Drug Chem Toxicol* 2007;30:241-52.
76. Yadav N, Khandelwal S. Therapeutic efficacy of Picroliv in chronic cadmium toxicity. *Food Chem Toxicol* 2009;47:871-9.
77. Lee HS, Keum KY, Ku SK. Effects of *Picrorrhiza rhizoma* water extracts on the subacute liver damages induced by carbon tetrachloride. *J Med Food* 2007;10:110-7.
78. Dwivedi Y, Rastogi R, Garg NK, Dhawan BN. Picroliv and its components kutkoside and picoside I protect liver against galactosamine-induced damage in rats. *Pharmacol Toxicol* 1992;71:383-7.
79. Lee HS, Li L, Kim HK, Bilehal D, Li W, Lee DS et al. The protective effects of *Curcuma longa* Linn. extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats via upregulation of Nrf2. *J Microbiol Biotechnol* 2010;20:1331-8.
80. Kim HJ, Yoo HS, Kim JC, Park CS, Choi MS, Kim M et al. Antiviral effect of *Curcuma longa* Linn extract against hepatitis B virus replication. *J Ethnopharmacol* 2009;124:189-96.
81. Yiu WF, Kwan PL, Wong CY, Kam TS, Chiu SM, Chan SW et al. Attenuation of fatty liver and prevention of hypercholesterolemia by extract of *Curcuma longa* through regulating the expression of CYP7A1, LDL-receptor, HO-1, and HMG-CoA reductase. *J Food Sci* 2011;76:H80-9.
82. Nishida M, Nishiumi S, Mizushima Y, Fujishima Y, Yamamoto K, Masuda A et al. Monoacetylcurcumin strongly regulates inflammatory responses through inhibition of NF- $\kappa$ B activation. *Int J Mol Med* 2010;25:761-7.
83. El-Shahat M, El-Abd S, Alkafafy M, El-Khatib G. Potential chemoprevention of diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats: Myrrh (*Commiphora molmol*) vs. turmeric (*Curcuma longa*). *Acta Histochem*. In press; 2011.
84. Hashimoto T, Goto M, Sakakibara H, Oi N, Okamoto M, Kanazawa K. Yellow tea is more potent than other types of tea in suppressing liver toxicity induced by carbon tetrachloride in rats. *Phytother Res* 2007;21:668-70.
85. Relja B, Töttel E, Breig L, Henrich D, Schneider H, Marzi I et al. Plant polyphenols attenuate hepatic injury after hemorrhage/resuscitation by inhibition of apoptosis, oxidative stress, and inflammation via NF- $\kappa$ B in rats. *Eur J Nutr*. In press; 2011.
86. Liang R, Nickkholgh A, Kern M, Schneider H, Benzing S, Zorn M et al. Green tea extract ameliorates reperfusion injury to rat livers after warm ischemia in a dose-dependent manner. *Mol Nutr Food Res* 2011;55:855-63.
87. Lehnert M, Lind H, Zhong Z, Schoonhoven R, Marzi I, Lemasters JJ. Polyphenols of *Camellia sinensis* decrease mortality, hepatic injury and generation of cytokines and reactive oxygen and nitrogen species after hemorrhage/resuscitation in rats. *BMC Complement Altern Med* 2010;10:46.
88. Saewong T, Ounjaijean S, Mundeey Y, Pattanapanyasat K, Fucharoen S, Porter JB et al. Effects of green tea on iron accumulation and oxidative stress in livers of iron-challenged thalassemic mice. *Med Chem* 2010;6:57-64.
89. Ramesh E, Jayakumar T, Elanchezian R, Sakthivel M, Geraldine P, Thomas PA. Green tea catechins, alleviate hepatic lipidemic-oxidative injury in Wistar rats fed an atherogenic diet. *Chem Biol Interact* 2009;180:10-9.
90. Hamden K, Carreau S, Marki FA, Masmoudi H, El Feki A. Positive effects of green tea on hepatic dysfunction, lipid peroxidation and antioxidant defence depletion induced by cadmium. *Biol Res* 2008;41:331-9.
91. Jin X, Zheng RH, Li YM. Green tea consumption and liver disease: a systematic review. *Liver Int* 2008;28:990-6.
92. Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol* In press; 2011.
93. Molinari M, Watt KD, Kruszyna T, Nelson R, Walsh M, Huang WY et al. Acute liver failure induced by green tea extracts: case report and review of the literature. *Liver Transpl* 2006;12:1892-5.
94. Verhelst X, Burvenich P, Van Sassenbroeck D, Gabriel C, Lootens M, Baert D. Acute hepatitis after treatment for hair loss with oral green tea extracts (*Camellia Sinensis*). *Acta Gastroenterol Belg* 2009;72:262-4.
95. Domitrović R, Jakovac H. Effects of standardized bilberry fruit extract (Mirtoselect®) on resolution of CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in mice. *Food Chem Toxicol* 2011;29:848-54.
96. Domitrović R, Jakovac H, Blagojević G. Hepatoprotective activity of berberine is mediated by inhibition of TNF- $\alpha$ , COX-2, and iNOS expression in CCl<sub>4</sub>-intoxicated mice. *Toxicology* 2011;280:33-43.
97. Domitrović R, Jakovac H, Romić Ž, Rahelić D, Tadić Ž. Antifibrotic activity of *Taraxacum officinale* root in carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *J Ethnopharmacol* 2010;130:569-77.
98. Tang J, Feng Y, Tsao S, Wang N, Curtain R, Wang Y. Berberine and *Coptidis* rhizoma as novel antineoplastic agents: a review of traditional use and biomedical investigations. *J Ethnopharmacol* 2009;126:5-17.
99. Zhang H, Wei J, Xue R, Wu JD, Zhao W, Wang ZZ et al. Berberine lowers blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients through increasing insulin receptor expression. *Metabolism* 2010;59:285-92.
100. Zhao W, Xue R, Zhou ZX, Kong WJ, Jiang JD. Reduction of blood lipid by berberine in hyperlipidemic patients with chronic hepatitis or liver cirrhosis. *Biomed Pharmacother* 2008;62:730-1.
101. Gu Y, Zhang Y, Shi X, Li X, Hong J, Chen J et al. Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabolomics. *Talanta* 2010;81:766-72.
102. Trimarco B, Benvenuti C, Rozza F, Cimmino CS, Giudice R, Crispo S. Clinical evidence of efficacy of red yeast rice and berberine in a large controlled study versus diet. *Med J Nutr Metab* 2011;4:133-9.
103. Chan E. Displacement of bilirubin from albumin by berberine. *Biol Neonate* 1993;63:201-8.
104. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med* 1997;22:749-60.
105. Yamanaka N, Oda O, Nagao S. Prooxidant activity of caffeic acid, dietary nonflavonoid phenolic acid, on Cu<sup>2+</sup>-induced low density lipoprotein oxidation. *FEBS Lett* 1997;405:186-90.
106. Girish C, Pradhan SC. Drug development for liver diseases: focus on picroliv, ellagic acid and curcumin. *Fundam Clin Pharmacol* 2008;22:623-32.