

Masteroppgave i farmakognosi

Litteraturstudie

10 Medisinplanter fra Burma

Michael Cuong Gia Khuong



Farmasøytisk institutt, seksjon for farmasøytisk kjemi

UNIVERSITETET I OSLO

Mai 2015

Forord

Jeg ønsker å takke mine veiledere, professor Berit Smestad Paulsen og førsteamanuensis Hilde Barsett for å ha gitt meg muligheten til å skrive denne masteroppgaven. Spesielt vil jeg takke professor Berit Smestad Paulsen for hennes veiledning og mest av alt den uendelige tålmodigheten hun har vist overfor meg gjennom hele denne opplevelsen som har vært utrolig lærerikt.

Jeg vil også si takk til min familie, mine venner og kollegaer. Uten deres støtte hadde denne reisen garantert vært mye vanskeligere å gjennomføre. Jeg vil også gi en ekstra takk til mine medarbeidere ved Apotek 1 Arkaden for at de ubetinget har stilt opp for meg i perioder hvor jeg selv ikke kunne være til stedet.

Jeg sitter igjen med blandede følelser når jeg nå innser hvor langt jeg har kommet i farmasistudiet samtidig som jeg reflekterer tilbake på den tiden jeg har tilbrakt ved Farmasøytisk institutt. Det har vært en lang reise for meg og selv om jeg er glad for å være ved veis ende kommer jeg nok til å savne mange små, men verdifulle minner som de fem siste årene har gitt meg. Det jeg kan si med sikkerhet er at jeg forlater Universitetet som en forandret person, en forbedret utgave av meg selv.

Oslo, mai 2015-05-12

Michael Cuong Gia Khuong

Sammendrag

I denne masteroppgaven finner leseren en beskrivelse om ti burmesiske planter basert på eksisterende vitenskapelig litteratur med hovedfokus på plantenes farmakologiske profil. De biologiske effektene som studiene viser vil bli sett i lys av den tradisjonelle bruken i Burma, men også tradisjonell bruk fra andre verdensdeler blir innledningsvis kort omtalt for hver plante. Leseren vil også kunne finne en tabell for hver plantebeskrivelse som inneholder opplysninger om hvilke kjemiske substanser som er funnet i planten og fra hvilken plantedel disse er blitt isolert fra. De ti burmesiske plantene blir presentert hver for seg.

Hensikt:

Hensikten med denne oppgaven er å finne ut om hvor vidt den burmesiske tradisjonelle, medisinske bruken av de ti plantene kan begrunnes på basis av funn hentet fra moderne vitenskapelige studier.

Metode:

Litteraturstudien baserer seg på individuelle søk i velkjente databaser, herunder SciFinder Scholar/Chemical abstracts, Google Scholar, PubMed, Web of Science, EMBASE, SCOPUS og COCHRANE. Etter anvisning fra veileder har jeg lagt hovedfokuset på SciFinder Scholar/Chemical og kombinert denne med andre databaser, spesielt Google Scholar har vært til meget stor hjelp da den ofte gir et større antall treff ved individuelle søk basert på plantenavn. Det ble også søkt i databaser som The Plant List samt andre databaser som er innsamlet her som Kew, Tropicos, Encyclopedia of Life etc.

Resultater:

Resultatene som er funnet er hentet fra eksisterende vitenskapelige studier. Generelt kan man si at den vitenskapelige litteraturen er beskjeden og noe mangelfull selv om det tilsynelatende finnes noe korrelasjon mellom den tradisjonelle bruken i Burma og de vitenskapelige funn

som er blitt observert for de ulike plantene, og spesielt gjelder dette toksikologisk informasjon og kliniske studier. Mengden av publisert litteratur varierer da ikke alle planter er like godt undersøkt. De fleste studier ble gjort med ekstrakter fra ulike plantedeler, noe som også innebærer at navn på enkeltsubstanser ofte ikke ble nevnt, men det ser ut til at forbindelser som flavonoider, steroler, terpenoider, tanniner og andre fenoliske forbindelser samt polysakkarider er av viktighet når det kommer til den biologiske aktiviteten. Dette blir ytterligere styrket ut ifra at flere forskere foreslo muligheten for en synergistisk effekt i plantene.

Konklusjon:

Resultatene som er funnet gir en klar indikasjon på at det finnes biologisk aktivitet i planter. Ikke alltid vil den observerte effekten samsvare med den tradisjonelle medisinske bruken i Burma, og her blir det derfor nødvendig med flere vitenskapelige studier. Blant plantene som her er beskrevet kan det nevnes at polysakkarider fra *A. esculentus* er relativt godt dokumentert i forhold til den burmesiske bruken som et middel mot mage- og tarmlidelser samtidig som polysakkarider fra planten viser potensial som immunmodulerende middel. *I. coccinea* ser ut til å ha potensial mot kreft, sårbehandling og betennelse. *C. macrophylla* ga lovende resultater i for til betennelse og smerte. *H. vitifolius* var godt dokumentert overfor ulike aspekter i forbindelse med kreftbehandling. *R. serrata* hadde god dokumentasjon som også var underbygget klinisk i forhold til respiratoriske lidelser og histaminassosiert betennelse. Når det kommer til *C. indicum*, *F. rumphii*, *R. incisa*, *A. leucophloea* og *H. schizopetalus* var mengden av vitenskapelige publikasjoner relativt mangelfull, men det ser ut til at *I. indicum* kan ha antiinflammatorisk aktivitet.

Planter er kjent for å være rike på antioksidanter og ut ifra alle studiene som er gjennomgått ser det ut til at en betydelig del av den biologiske aktiviteten medieres via disse substansene. Dette er meget lovende for mange pasienter nå som den moderne medisinske verdenen har begynt å innse at veldig mange av de menneskerelaterte sykdommer vi har i dag ofte er forbundet med oksidativt stress.

Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon.....	1
1.1	Bakgrunn.....	2
1.2	Om Myanmar.....	3
1.3	Om professor Arnold Nordal.....	5
1.4	Referanseliste:.....	7
2	<i>Abelmoschus esculentus</i> Linn.....	8
2.1	Beskrivelse.....	8
2.2	Tradisjonell bruk.....	9
2.3	Kjemiske substanser.....	9
2.4	Biologisk aktivitet.....	12
2.4.1	Antimikrobiell aktivitet.....	12
2.4.2	Leverbeskyttende aktivitet.....	14
2.4.3	Antiulcerogen aktivitet.....	16
2.4.4	Antiinflammatorisk og antinociceptiv aktivitet.....	17
2.4.5	Antioksidant aktivitet.....	18
2.4.6	Hypoglykemisk aktivitet.....	19
2.4.7	Kardiovaskulær aktivitet.....	21
2.4.8	Nevrobeskyttende aktivitet.....	23
2.4.9	Immunmodulerende aktivitet.....	24
2.4.10	Fertilitetsregulerende aktivitet.....	28
2.5	Toksikologiske studier.....	28
2.6	Kliniske studier.....	28
2.7	Konklusjon.....	29
2.8	Referanseliste:.....	30
3	<i>Acacia leucophloea</i> Willd.....	34
3.1	Beskrivelse.....	34
3.2	Tradisjonell bruk.....	35
3.3	Kjemiske substanser.....	35

3.4	Biologisk aktivitet.....	39
3.4.1	Antimikrobiell aktivitet	39
3.4.2	Antioksidant aktivitet	40
3.4.3	Hypoglykemisk aktivitet	42
3.4.4	Kardiovaskulær aktivitet	43
3.4.5	Leverbeskyttende aktivitet	44
3.4.6	Nevrobeskyttende aktivitet.....	45
3.4.7	Antiastmatisk aktivitet.....	45
3.4.8	Antidiaré effekter	46
3.5	Toksikologiske studier.....	47
3.6	Kliniske studier	47
3.7	Konklusjon.....	47
3.8	Referanseliste:.....	48
4	<i>Callicarpa macrophylla</i> Vahl.....	51
4.1	Beskrivelse.....	51
4.2	Tradisjonell bruk.....	52
4.3	Kjemiske substanser	52
4.4	Biologisk aktivitet.....	55
4.4.1	Antimikrobiell aktivitet	55
4.4.2	Antioksidant aktivitet	57
4.4.3	Antiinflammatorisk aktivitet	57
4.4.4	Antinociceptiv aktivitet	59
4.4.5	Antipyretisk aktivitet.....	60
4.4.6	Leverbeskyttende aktivitet	60
4.4.7	Hemostatisk aktivitet.....	61
4.5	Toksikologiske studier.....	62
4.6	Kliniske studier	62
4.7	Tilleggsinformasjon.....	63
4.8	Konklusjon.....	63
4.9	Referanseliste:.....	64
5	<i>Clerodendrum indicum</i> (L.) Kuntze	67
5.1	Beskrivelse.....	67
5.2	Tradisjonell bruk.....	68

5.3	Kjemiske substanser	68
5.4	Biologisk aktivitet.....	71
5.4.1	Antibakteriell aktivitet.....	71
5.4.2	Sårtilhelende aktivitet.....	73
5.4.3	Gastrointestinal aktivitet.....	74
5.4.4	Antiinflammatorisk aktivitet	74
5.4.5	Smertestillende effekter.....	76
5.4.6	Antioksidant aktivitet	78
5.5	Toksikologiske studier.....	79
5.6	Kliniske studier.....	79
5.7	Konklusjon.....	79
5.8	Referanseliste:.....	80
6	<i>Ficus rumphii</i> Blume.....	82
6.1	Beskrivelse.....	82
6.2	Tradisjonell bruk.....	83
6.3	Kjemiske substanser	83
6.4	Biologisk aktivitet.....	86
6.4.1	Antioksidant aktivitet	86
6.4.2	Antikarsinogen aktivitet	86
6.4.3	Andre biologiske aktiviteter	87
6.5	Toksikologiske studier.....	88
6.6	Kliniske studier.....	88
6.7	Konklusjon.....	88
6.8	Referanseliste:.....	89
7	<i>Hibiscus schizopetalus</i> (Dyer) Hook.f.....	91
7.1	Beskrivelse.....	91
7.2	Tradisjonell bruk.....	92
7.3	Kjemiske substanser	92
7.4	Biologisk aktivitet.....	94
7.4.1	Antimikrobiell aktivitet	94
7.4.2	Antiinflammatorisk aktivitet	94
7.4.3	Antioksidant aktivitet	95
7.4.4	Analgetisk- og antipyretisk aktivitet	96

7.4.5	Antihyperglykemisk og hypolipidemisk aktivitet	97
7.5	Toksikologiske studier	98
7.6	Kliniske studier	99
7.7	Konklusjon	99
7.8	Referanseliste:	100
8	<i>Hibiscus vitifolius</i> L.	102
8.1	Beskrivelse	102
8.2	Tradisjonell bruk	103
8.3	Kjemiske substanser	103
8.4	Biologisk aktivitet	106
8.4.1	Antimikrobiell aktivitet	106
8.4.2	Leverbeskyttende aktivitet	106
8.4.3	Antiinflammatorisk aktivitet	108
8.4.4	Antiallergisk aktivitet	109
8.4.5	Kardiovaskulær og hypoglykemisk aktivitet	111
8.4.6	Nevrobeskyttende aktivitet	113
8.4.7	Antioksidant aktivitet	115
8.4.8	Antikarsinogen aktivitet	118
8.4.9	Antinociceptiv aktivitet	122
8.5	Toksikologiske studier	122
8.6	Kliniske studier	122
8.7	Konklusjon	122
8.8	Referanseliste:	123
9	<i>Ixora coccinea</i> L.	126
9.1	Beskrivelse	126
9.2	Tradisjonell bruk	127
9.3	Kjemiske substanser	127
9.4	Biologisk aktivitet	135
9.4.1	Antimikrobiell aktivitet	135
9.4.2	Sårhelende aktivitet	138
9.4.3	Antiinflammatoriske effekter	139
9.4.4	Antinociceptiv og antipyretisk aktivitet	140
9.4.5	Kardiobeskyttende aktivitet	141

9.4.6	Hypoglykemisk og hypolipidemisk aktivitet	141
9.4.7	Leverbeskyttende aktivitet	142
9.4.8	Antioksidant aktivitet	143
9.4.9	Antineoplastisk aktivitet.....	147
9.4.10	Antimutagen aktivitet.....	148
9.4.11	Kjemobeskyttende aktivitet.....	148
9.5	Toksiske egenskaper.....	149
9.6	Kliniske studier.....	150
9.7	Konklusjon.....	150
9.8	Referanseliste:.....	152
10	<i>Rotheca incisa</i> (Klotzsch) Steane & Mabb.	157
10.1	Beskrivelse.....	157
10.2	Tradisjonell bruk.....	158
10.3	Kjemiske substanser	158
10.4	Biologisk aktivitet.....	158
10.4.1	Insektdrepende aktivitet	158
10.5	Toksikologiske studier.....	159
10.6	Kliniske studier.....	159
10.7	Konklusjon.....	159
10.8	Referanseliste:	160
11	<i>Rotheca serrata</i> (L.) Steane & Mabb	161
11.1	Beskrivelse.....	161
11.2	Tradisjonell bruk.....	162
11.3	Kjemiske substanser	163
11.4	Biologisk aktivitet.....	167
11.4.1	Anti astmatisk- og allergisk aktivitet	167
11.4.2	Sårtilhelende aktivitet.....	170
11.4.3	Immunmodulerende aktivitet	170
11.4.4	Hepatobeskyttende aktivitet	172
11.4.5	Antioksidant aktivitet	174
11.4.6	Antimikrobiell aktivitet.....	174
11.4.7	Antiinflammatorisk aktivitet	175
11.4.8	Antinociceptiv aktivitet.....	177

11.4.9	Antipyretisk aktivitet.....	178
11.4.10	Kardiovaskulær aktivitet	178
11.4.11	Antikarsinogen aktivitet	179
11.5	Toksikologiske studier.....	180
11.6	Kliniske studier.....	181
11.7	Konklusjon.....	181
11.8	Referanseliste:	182

1 Introduksjon

Denne masteroppgaven er en litteraturoppgave hvor formålet er å redegjøre for biologisk aktivitet blant ti burmesiske planter basert på eksisterende vitenskapelige studier. Hensikten blir å finne ut om hvorvidt plantenes tradisjonelle bruk i Burma kan ha vitenskapelig forankring i moderne medisin.

Litteraturoppgaven består av følgende planter:

- *Abelmoschus esculentus* Linn.
- *Acacia leucophloea* Willd.
- *Callicarpa macrophylla* Vahl.
- *Clerodendrum indicum* (L) Kuntze.
- *Ficus rumphii* Blume.
- *Hibiscus schizopetalus* (Dyer) Hook.f.
- *Hibiscus vitifolius* L.
- *Ixora coccinea* L.
- *Rotheca incisa* (Klotzsch) Steane & Mabb.
- *Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.

Hvordan oppgaven er bygget opp:

- 1) Beskrivelse av planten med bilde
- 2) Beskrivelse av den tradisjonelle bruken
- 3) Oppføring av kjemiske substanser i tabell med ulike plantedeler
- 4) Beskrivelse av biologisk aktivitet og farmakologisk profil
- 5) Beskrivelse av toksiske opplysninger (unntaksvis separat for hver plante)
- 6) Beskrivelse av kliniske studier
- 7) Konklusjon

For hver plante innledes det med en kort morfologisk beskrivelse, noe som til tider kunne by på problemer pga. mange fremmedord hvorav googlesøk viste seg å være et meget nyttig redskap. Det neste blir en beskrivelse av den tradisjonelle bruken som var forbundet med planten, som ikke nødvendigvis måtte være fra Burma, men den burmesiske tradisjonelle bruken er omtalt under alle plantebeskrivelsene. Også her oppstod det utfordringer med tanke på at dette temaet ikke alltid kom like godt frem av studiene. Videre er det blitt laget en tabell med oppføring av kjemiske substanser som er blitt isolert fra planten. Tabellen er vertikalt inndelt i kjemiske substanser og horisontalt inndelt etter hvilken plantedel den kjemiske substansen ble funnet i. Det er blitt tatt med noen få kjemiske strukturer av stoffer som har blitt identifisert og omtalt sammen med planten. Det var i utgangspunktet flere kjemiske strukturer som var tatt med, men jeg valgte bort de fleste som ikke ble direkte omtalt i forhold til en biologisk aktivitet. Dette valget ble gjort på bakgrunn av at de aller fleste studiene angående biologiske effekter ble gjort med ekstrakter uten at navn på enkeltsubstanser ble nevnt. Deretter kommer vi til hoveddelen hvor plantenes biologiske aktiviteter blir beskrevet. Jeg har av praktiske grunner valgt å ta med toksiske opplysninger sammen med de studiene de blir beskrevet for de fleste av plantene, men unntaksvis har jeg laget et eget avsnitt for toksisitet pga at det generelt var lite informasjon å finne om dette, og som oftest ble opplysninger vedrørende toksisitet nevnt i forbindelse med kreftrelaterte studier. Nest sist er det lagt inn et avsnitt om kliniske studier og her var det særdeles få hvor ingen kliniske opplysninger var fraværende for de fleste av plantene. Til sist kommer konklusjonen hvor jeg vurderte resultatene jeg fant opp i mot den tradisjonelle bruken i Burma. Kildehenvisninger er plassert etter konklusjonen for hver plante. På denne måten blir det mer oversiktlig og lettere å finne frem, spesielt når man skal redegjøre for ti ulike planter.

1.1 Bakgrunn

Planter og medisin har hatt et uatskillelig forhold så langt man kan huske. Før nye teknologiske utvinninger gjorde det mulig å isolere et stoff for videreutvikling til det vi i dag kaller et virkestoff, var plantene mest sannsynlig den viktigste kilden vi mennesker hadde til å behandle sykdommer. I dag består legemiddelmarkedet av store legemiddelselskaper hvorav de største av dem handler på det globale nivået. Legemiddelutvikling er en stor industri preget med intens konkurranse samtidig som dette er en meget kostbar og

tidskrevende prosess. Parallelt med utvikling av nye legemidler blir også nye sykdommer oppdaget. Dette medfører at legemiddelforskningen kontinuerlig må bevege seg fremover. Syntetiske legemidler er ofte forbundet med bivirkninger og dette er blant en av grunnene til at interessen for planter i medisinsk sammenheng er blitt gjenopplivet i løpet av de siste årene. Sammenlignet med konvensjonelle medisiner som benyttes i vår tid har planter ofte lavere toksisitet og de er generelt mer tilgjengelig for verdensbefolkningen og spesielt i fattige land hvor mennesker ikke har råd til moderne medisiner. Derfor er det viktig at planteriket blir vitenskapelig undersøkt for å identifisere det medisinske potensiale plantene har. Isolering av nye aktive substanser er essensielt for å kunne fremstille nye legemidler for både i dag og for fremtiden. Rask nedhogging og ødeleggelse av skog i flere verdensdeler gjør denne jobben stadig viktigere og enda mer hastende.

Farmasøyter trenger også oppdatert kunnskap om planter basert på vitenskapelige studier for å kunne uttale seg riktig vedrørende bruk, effekt og sikkerhet med hensyn til plantebaserte legemidler, ernæring og kosttilskudd. Dette er et stort ansvar når man ser på hva som er av tilgjengelige produkter i helsekost og dagligvarebutikker. Vi må gå ut ifra at kjøpere av slike produkter fremstår som en sårbar forbrukergruppe da de ikke har den faglige forutsetningen for å kunne ta det rette valget. Derfor er det viktig at farmasøyter både i og utenfor apotekene kan bidra med å tilrettelegge informasjonen som utleveres slik at forbrukere skal kunne føle seg trygge.

1.2 Om Myanmar

Myanmar er en republikk i Sørøst-Asia, tidligere kjent som Burma. Staten grenser mot land som India i nordvest og Kina i nordøst, mens mot øst og sørøst finner vi hhv Laos og Thailand. Mot vest og sørvest har Myanmar en sammenhengende kystlinje som Andamanhavet og Bengalbukta. Det finnes tre naturgeografiske hovedregioner. Myanmar har fjell i vest som er en fortsettelse av Himalaya. Denne regionen er flere steder preget av dype elvedaler og tett skog. Mellom fjell og Shan-plataet i øst er det lavland omkring store elver med sletteland og deltaområder. I tillegg har landet også kystregionene.

Myanmar har ca. 53.26 millioner innbyggere [1]. Hovedstaden er Naypyidaw, men Yangon er den største byen. Omkring 70 % av befolkningen livnærer seg av jordbruk som også utgjør den viktigste næringsveien i Myanmar. Aller størst er risproduksjonen, men landet produserer

også matprodukter som hvete, mais og sesam og også bomull. Myanmar har også et betydelig skogbruk [2]. Befolkningen i Myanmar består av mange forskjellige etniske grupper hvor det offisielt blir anerkjent et antall på 135 grupper, men dette tallet har vært omstridt. Disse etniske gruppene er videre inndelt i 8 folkegrupper hvor burmanere utgjør omtrent 68% av befolkningen. Det finnes også ulike religioner som kristendom, islam og hinduisme, men buddhismen utgjør desidert den største religionen med omkring 85% [2]. Myanmar hører til blant verdens fattigste land etter tiår med militært styre og borgerkrig med etniske minoriteter, men nye reformer fra 2011 ledet landet i retning av demokrati [2]. Myanmar har tropisk monsunklima hvor temperaturen stort sett er høy utenom fjellområdene. Det er tre årstider i Myanmar hvor folket opplever fire måneder med kjølig temperatur mellom november og februar. Det er ekstra varmt i perioden mellom mars- og maimånedene etterfulgt av en regntid som kan vare opptil fem måneder fra mai til oktober. Myanmar har mangfoldig og rikt planteliv. Rundt halvparten av arealet er dekket med skog hvor det i lavlandet finnes tropisk regnskog, mens det 1000 meter over havet finnes skog med eik og furu og videre opptil 2000 meter over havet er landet dekket med buskvegetasjon. I tillegg finnes det mangroveskog ved kysten [2].



Figur 1 viser et kart av Myanmar [3].

1.3 Om professor Arnold Nordal

Arnold Nordal tok stilling som professor i farmakognosi i årene 1948-69 ved Universitetet i Oslo. Professor Nordal tilbrakte det meste av sitt yrkesaktive liv ved Avdeling for

farmakognosi ved Farmasøytisk institutt. Han avla apotekereksamen i 1936 og ble apotekarbeidene provisor. Året etter i 1937 fikk han et vikariat som vitenskapelig assistent. Fra dette tidspunktet skulle det gå ti år før han ble professor i farmakognosi i 1947. Denne stillingen beholdt han helt til han gikk ut med pensjon hvorav han i denne perioden hadde skrevet bortimot 150 vitenskapelige artikler [4].

Professor Nordal var i årene 1950-1960 FN-rådgiver vedrørende farmasøytiske spørsmål for regjeringen i det daværende Burma som i dag heter Myanmar. Han fikk oppdrag i å innsamle informasjon og kunnskap om burmesiske medisinerplanter for å vurdere hvilke av plantene som potensielt kunne inngå i storskalaproduksjon. Meningen var at Burma kunne bli en eksportør av råvarer for medisinske planter [4]. Dette var begynnelsen som dannet grunnlaget for det som skulle bli en database med rundt 400 planter fra Burma til Norge [5].

1.4 Referanseliste:

1. The World Bank.
URL:<http://data.worldbank.org/country/mm>. 2015.04.24.
2. Store Norske Leksikon.
URL:<https://snl.no/Myanmar>. 2015.04.24.
3. Wikipedia.
URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Burma>. 2015.04.24.
4. https://nbl.snl.no/Arnold_Nordal.
5. Nordal, A. (1963). The medicinal plants and crude drugs of Burma I: collection of research materials from indigenous sources during the years 1957-1961. *Oslo, Hellstrøm & Nordals boktrykkeri*.

2 *Abelmoschus esculentus* Linn.

2.1 Beskrivelse

Abelmoschus esculentus Linn. er det aksepterte navnet til en planteart hører til under slekten *Abelmoschus* og kommer fra plantefamilien *Malvaceae*. Planten har mange synonymnavn som er opplistet i "the Plant List", inkludert *Hibiscus esculentus* L.[1]. Vitenskapelige studier som omhandler denne planten har brukt forskjellige plantenavn og det er derfor viktig at dette blir kontrollert mot the Plant List for å være sikker på at det er riktig plante som blir omtalt. *A. esculentus* blir også vanligvis kalt for "lady's fingers" og "okra" og er blant de viktigste plantene som blir dyrket i Nigeria pga bladene og dets frukter [2].

A. esculentus vokser naturlig i alle tropiske landområder og blir dyrket i store mengder India [3]. *A. esculentus* finnes i store deler av Afrika, Asia, Sør-Europa og Amerika [2]. Planten foretrekker sur, nøytralt eller basisk jordsmonn, men kan også vokse i meget basisk jord. Stammen er forgrenet, urtelignende eller treaktig og sylindrisk i formen. Den urtelignende delen av stammen er tildekket med skjellaktige hår og de harde delene er fiberholdige. Bladene er alternerte med vekst av små blader nederst på bladstilken [3]. Blomstene har en svart- mørk fagre i senteret omgitt av gule kronblad. Frukten er en fiberrik og grønn med en lett bøyde sekskammet form som danner en kapsel med oljerike frø [2].



Figur 2 viser et bilde av *A. esculentus*. [4]

2.2 Tradisjonell bruk

Ulike plantedeler fra *A. esculentus* har tradisjonelt blitt brukt som et mykgjørende middel, slimhinnebeskyttende, vanddrivende, kjølede, afrodisiakum, antiseptisk og ved gonore [3]. I Asia brukes planten som et supplerende fortykningsmiddel i mat mot mage- tarm irritasjoner og ulike former for betennelse [2]. Den har også blitt brukt overfor tilstander som tretthet, utmattelse og depresjon, samt mot sår hals, lungebetennelse, magesår, irritabel tarm, astma, svingninger i blodsukker og forhøyet kolesterol [5]. I indisk folkemedisin blir *A. esculentus* i stor utstrekning brukt bevisst i matlaging for å forebygge det som lokalbefolkningen kaller for ”pitta” som betyr magesyre [6]. I Vietnam inngår *A. esculentus* som en vanlig ingrediens i matlaging pga det næringsrike innholdet men også fordi det tradisjonelt blir betrodd at planten har mange helsebringende egenskaper mot ulike tilstander med betennelse, forstoppelse og urinretensjon etc [7]. I Burma blir frukten fra denne planten brukt som magestyrkende og som mykgjørende midler [8].

2.3 Kjemiske substanser

<i>Abelmoschus esculentus</i> Linn.				
	plantedel			
stoffgruppe/ kjemisk substans	blomst	frukt/ frø	helplante	referanse review (r)
flavonoider:				
quercetin			x	[9]
katekin			x	[9]
epikatekin			x	[9]
(-)-epigallokatekin			x	[9]
procyanidin B1			x	[9]
procyanidin B2			x	[9]
quercetin-3- <i>O</i> -xylosyl(1'→2) glukosid			x	[10]

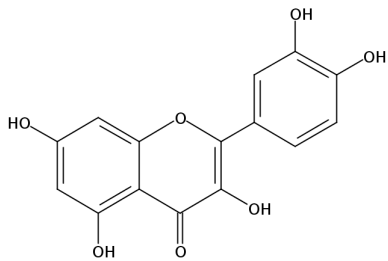
quercetin-3- <i>O</i> -glukosyl(1'→6')			x	[10]
glukosid				
quercetin-3- <i>O</i> -glukosid			x	[10]
quercetin-3- <i>O</i> -malonyl-glukosid			x	[10]
cyanidin-4'-glukosid		x		[11]
cyanidin 3,4-diglukosid		x		[11]
quercetin 3- <i>O</i> -glukosyl glukosid			x	[12]
lignaner:				
carolignan			x	[12]
boehmenan X			x	[12]
andre fenoliske forbindelser:				
<i>N</i> -trans-kumaroyltyramin			x	[12]
trans-feruloydopamin			x	[12]
4'-hydroksyfenetyl trans-ferulat				[12]
dimorfamid A			x	[12]
terpenoider:				
hibiscolakton A			x	[12]
proteiner:				
<i>A. esculentus</i> lektin (AEL)			x	[13]
glykosider:				
rutin			x	[9]
monosakkarider:				
rhamnose	x			[14]
galaktose	x			[14]
polysakkarider:				

rhamnogalakturonaner		x		[2]
fettsyrer:				
linolsyre		x		[15](r)
palmitinsyre		x		[16]
stearinsyre		x		[16]
andre organiske forbindelser				
oksalsyre			x	[17]
uronsyre		x		[2]
4- <i>O</i> -metylcedrusin			x	[12]
galakturonsyre				[2]

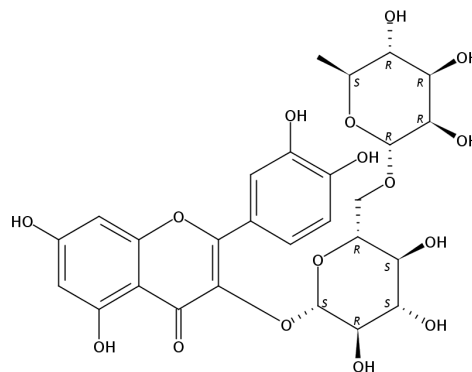
Zheng *et al.* 2014 [14] fant polysakkaridet som de kalte OFPS11 i blomst fra *A. esculentus*. Denne bestod hovedsakelig av galaktose og rhamnose med molarforholdet 2,23:1 og en molekylvekt 1700kD.

Soares *et al.* 2012 [13] isolerte for første gang *A. esculentus* lektin AEL fra frø tilhørende *A. esculentus*. AEL har en molekylmasse på 20.0 kDa. og er sammensatt av et 10.291 Da monomer og et 20.582 kDa dimer.

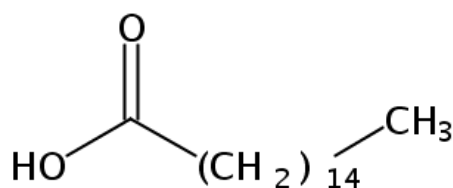
Liao *et al.* 2011 [18] identifiserte for første gang et nytt flavonon glykosid fra *A. esculentus* frukt sammen med en annen tidligere kjent forbindelse, men som her for første gang ble isolert fra denne planten. Disse forbindelsen var hhv 5,7,3',4''-*O*-metyl flavonol -3-*O*- β -D-glukopyranosid, og 5,7,3',4'-tetrahydroksy flavonol -3-*O*-[β -D-glukopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glukopyranosid.



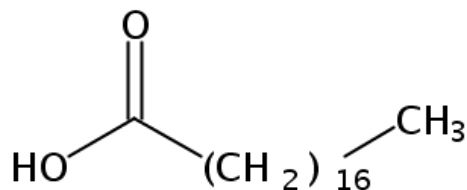
Figur 3 viser kjemisk struktur til quercetin [19].



Figur 4 viser kjemisk struktur til rutin [19].



Figur 5 viser kjemisk struktur til palmitinsyre [19].



Figur 6 viser kjemisk struktur til stearinsyre [19].

2.4 Biologisk aktivitet

2.4.1 Antimikrobiell aktivitet

Klafke *et al.* 2012 [20] gjorde forsøk med seks ulike sopparter hhv *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parasilosis*, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia pachydermatis*, *Rhodotorula* sp. og *Trichosporon* sp. for å teste deres følsomhet overfor ulike lektiner hentet fra seks forskjellige plantearter inkludert *A. esculentus*. Studien viste at *A. esculentus* demonstrerte lavest minimum inhibitorisk konsentrasjonen (MIC) blant de utvalgte planteartene overfor *C. parasilosis*, som også viste seg å være den eneste testorganismen som var sensitiv overfor de ulike lektinene. Interessant var at *A. esculentus* også hadde den høyeste verdien for minimum soppdrepende konsentrasjon (MFC) som var

opptil ti ganger høyere sammenlignet med lektinene fra de andre plantene. Denne studien var den første som hadde rapportert for antifungale effekter av lektiner fra bladene til *A. esculentus* [20]. *A. Esculentus* representerer en viktig matkilde over store deler av verden. Antifungale effekter fra lektiner i planter har vært rapportert fra tidligere studier, men de fleste av disse studiene omhandler sopparter som angriper planter [20]. Ut ifra disse studiene var det blitt foreslått mange forskjellige mekanismer bak de antifungale effektene [20]. Disse mekanismene kan potensielt anvendes analogt overfor sopparter som angriper dyreceller. Blant mekanismene som ble nevnt var at veksthemming av sopp med lektiner kunne ha vært relatert til gjenkjennelse av karbohydratstrukturer i celleveggen til soppen, at lektiner har evnen til å danne barrierer på soppens cellevegg som igjen medførte til strukturforandring og endret membranpermeabilitet og videre at lavmolekylære lektiner kan krysse plasmamembraner og utøve enzymhemmende aktiviteter som var forbundet med soppens morfogenese. Andre foreslåtte mekanismer var også lettere tilgang til membranoverflater relatert til antallet reseptorer som er assosiert med celleveggkarbohydrater [20]. Til tross for at de faktiske mekanismene ikke er avklart mente forskerne i det minste at det laveste MIC som de fikk med bladekstrakt fra *A. esculentus* var meget lovende, men at flere studier var nødvendige [20].

de Carvalho *et al.* 2011 [16] undersøkte for hvorvidt både frysetørket og vannekstrakt av *A. esculentus* frukt, med og uten skall, hadde antibakterielle egenskaper. Testorganismene som inngikk i den studien var *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus opacus*, *Mycobacterium* sp., *Mycobacterium aurum*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Xanthobacter* Py2 og *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstraktene utviste antibakteriell effekt overfor alle de ulike bakteriestammen utenom *R. erythropolis* og samtidig som vannekstraktet ga bedre effekter sammenlignet med frysetørket ekstrakt ved samme konsentrasjoner. Ferskt ekstrakt av frukten med en konsentrasjon på 97mg/ml var tilstrekkelig for å drepe alle *S. aureus* stammene og ekstraktet demonstrerte ytterligere inhiberende effekter mot begge *Mycobacterium* stammene, *X. Py2* og *S. aureus*, men hadde dessverre ingen sådan effekt mot verken *R. erythropolis* eller *E.coli*. Dessuten hadde det bare svak effekt mot *R. opacus*. Det interessante her var at vekstmediet som ble brukt for å dyrke bakteriene hadde innflytelse på den antibakterielle effekten, for det ble observert en signifikant forskjell i overlevelsen mellom *R. erythropolis* og *R. opacus* som var dyrket i ulike vekstmedier med hhv glukose og toluen og forskerne funderte om hvorvidt karbonkilden i disse vekstmediene kunne påvirke følsomheten av bakterielle cellemembraner når disse ble eksponert for *A. esculentus* ekstrakt.

For å teste dette ble *R. erythropolis* og *R. opacus* dyrket i tre ulike vekstmedier med hhv glukose, limonen og toluen, og forskerne fant at bakterienes overlevelsessevne etter eksponering var avhengig av karbonkilden fra vekstmediene. For begge bakteriestammene som ble dyrket i glukose og limonen var resultatene riktignok ganske like hvor begge bakteriestammene viste frem deres motstandsdyktighet mot ekstraktet. Den observerbare forskjellen mellom disse var at *R. opacus* viste seg å være mer sårbar overfor ekstrakteksponering sammenlignet med *R. erythropolis* når disse ble dyrket i toluen. Disse resultatene indikerte at både sammensetningen og egenskaper i bakterielle cellemembraner var i stor grad avhengig av karbonkilden, samtidig som denne kilden også kunne ha innvirkning på de antibakterielle effektene i frukten fra *A. esculentus* ekstrakt [16]. Det var praktisk talt ingen forskjell i effekt mellom ekstrakt med skall eller uten [16]. Fettfraksjonen av ekstraktet stod ansvarlig for de antibakterielle egenskapene, mens det for protein- og polysakkaridfraksjonen ga ingen tegn til noen form for antimikrobielle effekter [16]. Det ble også i denne forbindelse identifisert to kjemiske substanser hhv palmitin- og stearinsyre fra fettfraksjonen som tilsynelatende utgjorde de bioaktive komponentene i *A. esculentus* fruktene [16].

2.4.2 Leverbeskyttende aktivitet

Saravanan *et al.* 2013 [21] rapporterte at etanolekstrakt av *A. esculentus* roten hadde leverbeskyttende egenskaper overfor karbontetraklorid-induserte mus ved konsentrasjonene 200- og 400µg/ml. De viste at forbehandling med rotekstrakt kunne drastisk reverserte dødeligheten, sett ut ifra at overlevelsen hos de inkuberte levercellene ble signifikant restaurert sammenlignet med kontrollgruppen, samtidig som det også ble demonstrert en signifikant reduksjon i lekkasje av hepatiske enzymer med hhv alanin-aminotransferase (ALT), aspartat-aminotransferase (AST) og alkalisk fosfatase (ALP) [21]. Disse er biokjemiske markører som man ofte ser etter ved evaluering av en eventuell leverskade, hvor høye verdier er indikerer en negativ utvikling i lever. Den signifikante lekkasjereduksjonen talte sterkt for at *A. esculentus* reduserte den induserte leverskaden og resultatene ble ut ifra denne studien innhentet ved administrerte doser på hhv 100-, 200- og 400µg/ml [21].

Histopatologiske undersøkelser viste at mus som ble indusert med CCl₄ fikk massive forandringer i fettsammensetning, nekrotisering av leverceller med både diffust og

sentrilobulært degenerering. Man så også utvikling av biliær hyperplasi sammen med økt infiltrasjon av lymfocytter med tap av definerte cellevegger mellom cellene i leveren. For gruppen som var forbehandlet med *A. esculentus* ble den induerte effekten fra CCl₄ vurdert som mild til moderat og den fulgte en konsentrasjonsavhengig respons [21]. Ved induert leverskade ble leverens proteinsyntese forringet, hvilket var indikert med en etterfulgt reduksjon av proteinet albumin. En økning i albumin nivå ble observert sammen med *A. esculentus*, noe som igjen talte for at rotekstraktet gjenvant hepatisk funksjon hos testdyrene [21]. Økt deponering av leverfettstoffer ble også observert i forbindelse med den induerte leverskaden, trolig fordi leveren forskyves mot en fysiologisk tilstand hvor det oppstår ubalanse i forholdet mellom opptak fettsyrer, syntetisering av triglyserider samt eliminasjon av disse [21]. Mus som fikk administrert *A. esculentus* hadde fått en redusert akkumulering av triglyserider hvilket indikerte beskyttelse mot tap av normal leverfunksjon [21].

Denne studien viste imidlertid også at rotekstrakt av *A. esculentus* kunne beskytte leveren via inhibisjon av lipid peroksidase, hvilket ble observert ut ifra reduserte verdier av malondialdehyd (MDA), et nedbrytningsprodukt fra peroksidering av flerumettete fettsyrer i cellemembranen. Økningen av MDA som oppstod i fravær av *A. esculentus* rotekstrakt, antydte at lipidperoksidering utgjorde en av hovedårsakene til leverskade [21]. Det ble også vist at mus som ikke fikk *A. esculentus* hadde fått en overbelastning overfor endogent antioksidantkapasitet med følgende reduserte verdier av glutation (GSH), superoksid dismutase (SOD) og katalase (CAT). Denne utviklingen ble reversert når rotekstraktet ble ko-administrert [21]. Disse observasjonene tydet på at det fantes bioaktive komponenter i *A. esculentus* som hadde antioksidant effekt. Videre *in vivo* undersøkelser viste ingen negative bivirkninger opptil 2g/kg [21]. En annen biokjemisk markør som ble evaluert var tumornekrosefaktor alfa (TNF α). Etanolekstrakt av *A. esculentus* med konsentrasjoner på hhv 100- og 200mg/kg kunne signifikant redusere hepatisk TNF α nivå da dette ble sammenlignet med gruppen som ikke ble forbehandlet med rotekstrakt. Reduksjonen av hepatisk TNF α nivå indikerte at *A. esculentus* beskyttet leveren mot immunmediert skade [21]. Forskerne nevnte her at det var tilstedeværelsen av antioksidant egenskaper fra polyfenoler i rotekstraktet fra *A. esculentus* som stod bak de leverbeskyttende egenskapene som ble observert, men at det også her var nødvendig med videre undersøkelser for å karakterisere de aktive substansene samt bestemme hvilke virkningsmekanismer disse utøver biologiske effekter i menneskekroppen [21].

2.4.3 Antiulcerogen aktivitet

Lengsfeld *et al.* 2004 [2] isolerte en subfraksjon (AF III) med høy grad av antiadhesive egenskaper fra etanolisk presipitat av fersk *A. esculentus* frukt. Karbohydratanalyser viste at denne fraksjonen inneholdt rhamnogalakturonaner med en betydelig mengde galakturonsyre, mens de også fant at andre inaktive subfraksjoner inneholdt lite eller ingen galakturonsyre overhodet. Varmerbehandling av fersk juice eller proteinutfelling gjorde at den antiadhesive aktiviteten tilnærmet ble borte, hvilket indikerte at den aktive fraksjonen ikke bestod av polysakkaridene alene, men at proteinfraksjonen også medvirket til den antiadhesive effekten og forskerne nevnte også at de antiadhesive egenskapene trolig skyldtes en kombinasjon av glykoproteiner og sure sukkerforbindelser som sammen dannet et tredimensjonalt strukturkompleks som bare i den ferske frukten til *A. esculentus* [2]. Frysetørring av det native fruktekstraktet forringet aktiviteten ytterligere [2]. Det var tilsynelatende en korrelasjon mellom den antiadhesive effekten og tilstedeværelse av sure sukker med negative ladete funksjonelle grupper [2]. Inkubering av gastrisk vev med samtlige aktive fraksjoner i forkant økte ikke effekten ytterligere, noe som tydet på at virkningsmekanismen hadde sammenheng med blokkering av overflateresptorer hos *Helicobacter pylori*. Ingen av de aktive fraksjonene ga en veksthemmende effekt på bakteriene, og de videre implikasjoner som dette førte med var at *A. esculentus* ikke kunne forsvarlig anvendes mot kolonisering av *H. pylori* ut ifra hypoteser om at det hadde en direkte beskyttende effekt på slimhinnene. De aktive fraksjonene vil trolig ikke kunne eliminere verten for en allerede eksisterende infeksjon, men det kunne ha vært mulig som et profylaktisk supplement som beskytter mot en videre bakteriell kolonisering [2].

Joshi *et al.* 2011 [6] induserte magesår i rotter for å undersøke hvorvidt planteslim, trolig polysakkarider, fra frø av *A. esculentus* hadde antiulcerogene effekter. Det ble vist at planteslimet kunne signifikant hemme magesår indusert med indometakin, etanol og vannnedsenking av 48 timers fastende rotter. *A. esculentus* medførte ingen fysiologiske endringer i verken magevolum, syreproduksjon eller pH sammenlignet med cimetidin, som ytterligere var en indikasjon på at aktive komponenter i planteslimet utøvet den sårbeskyttende effekt via andre mekanismer enn ved innvirkning på selve syreproduksjonen. Det ble vist at en peroral dose på 1g/kg var tilstrekkelig nok for å signifikant hemme dannelsen av magesår, spesielt hos rotter som hadde fått sår indusert med etanol ble det observert en signifikant

økning i slimproduksjonen. Forskerne mente at det kunne være karbohydratholdige polymerer sammen med proteiner og visse andre mineraler som tilsynelatende var ansvarlig for den gunstige effekten. Slimet fra *A. esculentus* frø demonstrerte at det hadde en cellebeskyttende effekt, muligens ved å dekke mekanisk over sår med beskyttende lag samt stimulert slimsekresjon fra epitelcellene, dessuten viste planteslimet at det kunne motvirke den slimoppløselige effekten som etanol har overfor magesekkslimhinnen [6].

Messing *et al.* 2013 [22] utførte også en studie for å teste om hvorvidt de umodne fruktene til *A. esculentus* hadde antiadhesive egenskaper mot *Helicobacter pylori*. De fant at ferskt ekstrakt av fruktene hadde en konsentrasjonsavhengig inhibisjon overfor *H. pylori* i forhold til bakteriens bindingsevne på human adherent gastrisk adenokarcinom epitel celler, AGS celler. Her var den prosentvise effekten mellom 20-70% med konsentrasjoner mellom 270µg/ml–2.7mg/ml. Forbehandling av AGS celler ga ingen inhibisjon som var observerbar, hvilket talte for at ekstraktet kun utøvte effekt overfor bakterielle membranoverflater [22]. Det var heller ingen toksisitet som ble vist fra ekstraktet, verken overfor *H. pylori* eller AGS cellelinjer.

Ekstraktet hemmet spesifikke membranadhesive proteiner hhv BabA, SabA og HpA. Radiomerking av kjemiske komponenter fra ekstraktet avslørte et uspesifikt bindingsmønster overfor ulike *H. pylori* cellelinjer, men de bandt seg også til muterte defekte BabA og SabA. Forskerne mente at dette indikerte en interaksjon mellom de radiomerkede forbindelsene og andre ukjente strukturer i nærheten av det stedet der adhesjonen skjedde [22]. Det at ekstraktet hadde bindingsaffinitet til flere biologiske mål ble anset som meget positiv nettopp fordi summen av alle interaksjonene gjør at den totale inhibisjonen blir større. Det ble nevnt at hemming av bare et protein som BabA kun førte til adhesiv reduksjon mellom 20-30% fordi de øvrige adhesjonsfaktorer allikevel var tilstrekkelig for at *H. pylori* kunne binde seg og iverksette kolonisering. Såkalt ”multi-target oriented approaches” kunne ha en beskyttende effekt som var akkumulativ [22].

2.4.4 Antiinflammatorisk og antinociceptiv aktivitet

Soares *et al.* 2012 [13] isolerte et lektin fra *A. esculentus* AEL som ble testet for antiinflammatorisk og antinociceptiv aktivitet. AEL demonstrerte inhibitorisk aktivitet

overfor karragenan induisert inflammasjon, en substans som stimulerer ødemer karakterisert med intens infiltrasjon av nøytrofiler som igjen frigjør inflammatoriske mediatorer som prostaglandiner og nitrogenoksider. Overfor dekstran induisert inflammasjon demonstrerte AEL igjen hemmende effekter. Fordi dekstran stimulerer osmotiske ødemer ble det foreslått at AEL kun virker inhibitorisk under inflammasjonsprosesser med cellemigrasjon [13]. Det kom også frem at lignende resultater har blitt rapportert fra andre plantelektiner.

Når det kom til den smertestillende effekten fant de AEL reduserte antallet rykninger, smertelignende bevegelser i testdyrene, hvilket talte for at dette lektinet hadde en smertelindrende effekt.

2.4.5 Antioksidant aktivitet

Maganha *et al.* 2009 [23] utførte en review undersøkelse av *Hibiscus* slekten for å evaluere farmakologisk bevis vedrørende sekundære metabolitter fra de ulike ekstrakter. Det ble nevnt innledningsvis at antioksidanter utøver sine effekter hovedsakelig via tre mekanismer med hhv nøytralisering av reaktive oksygen spesier (ROS), lipid peroksidase inhibering og stimulering av cellulært antioksidant forsvar. I denne reviewen ble *A. esculentus* var referert som ”*Hibiscus esculentus* L.” og det ble uttrykt at denne arten fra *Hibiscus* slekten var blitt meget lite undersøkt i tidligere studier. Det eneste som kom fram av denne reviewen om *A. esculentus* angående biologiske effekter var at det hadde demonstrert *in vitro* antioksidant potensial, hvor de aktive substansene ble identifisert som quercetin derivater og (-)-epigallokatekin [23].

Ebrahimzadeh *et al.* 2010 [24] utførte undersøkelser med *A. esculentus* frøekstrakt og fant at antihypoksiske effekter overfor natriumfluorid induisert hypoksi i mus delvis kunne ha vært forbundet med antioksidative egenskaper i ekstraktet, muligens pga tilstedeværelse av flavonoider som kunne stimulere til økt cereberal sirkulasjon. Spesielt signifikant effekt ble demonstrert av metanol frøekstrakt etter et konsentrasjonsavhengig mønster. Denne studien viste at frøene hadde et høyt innhold av polyfenoliske forbindelser som også er kjent for å ha antioksidanteffekter [24]. I studien ble DPPH-modellen(1, 1-difenyyl, 2-picrylhydrazyl), et nitrogen sentrert og stabilt fritt radikal, benyttet for å evaluere om hvorvidt ekstraktet hadde radikaloppsøkende effekter. DPPH gjennomgår fargeforandring fra lilla til gul ved enten

hydrogen eller elektron donasjon til andre forbindelser. Disse forbindelsene blir som følgende konsekvens av denne reaksjonen betraktet som antioksidanter [24]. Det ble her funnet at ekstraktet hadde god, og konsentrasjonsavhengig effekt og at dette muligens skyldtes det høye flavonoid innholdet [24]. Det kom også frem av denne studien at *A. esculentus* frøekstrakt hadde svakt aktivitet overfor reaktive nitrogen spesier herunder nitrogenoksid (NO), som sammen med reaktive oksygen spesier er involvert i inflammasjon, kreft samt andre fysiologiske lidelser [24]. *A. esculentus* kan inneholde kjemiske produkter som motvirker de skadelige effektene assosiert med overproduksjon av nitrogenoksid, samtidig som disse antageligvis kunne bryte eventuelle kjedereaksjoner initiert av NO [24]. Da forskerne evaluerte de reduktive egenskapene til *A. esculentus* fant de ut at det var en proporsjonalitet mellom god effekt og økende konsentrasjon ved lave konsentrasjoner. For høyere doser viste frøekstraktet imidlertid at det var dårligere stilt og hadde derfor lite potensial som elektrondonor sammenlignet med C-vitamin [24]. Studien rapporterte også at *A. esculentus* hadde gode chelaterende egenskaper som kunne være av betydning med hensyn til at divalente metallioner spiller en vesentlig rolle som katalysatorer av oksidative prosesser [24]. Man fant også at *A. Esculentus* var kapabel til å oppsøke hydrogenperoksidmolekyler (H₂O₂). Denne effekten kunne tenkes å være av vesentlig betydning selv om hydrogenperoksid alene ikke var veldig reaktivt, men det kunne i enkelte tilfeller danne grunnlaget for produksjon av hydroksylradikaler (HO) som igjen var meget reaktivt og celledetoksisk [24]. Interessant nok var resultatene vedrørende aktivitet mot lipid peroksidering hvor effekt tilsynelatende uteble med signifikant forskjell sammenlignet med kontroll [24]. Dette virket noe motstridene med alt det andre som var funnet ut ifra denne studien.

Saravanan *et al.* 2013 [21] visste derimot at forbehandling med etanolekstrakt av *A. esculentus* rot overfor karbontetraklorid-induserte mus, hemmet lipid peroksidase og motvirket uttømming av det kroppsegne antioksidantet glutation [21], hvilket indikerer at rotekstraktet har antioksidant effekt.

2.4.6 Hypoglykemisk aktivitet

Saha *et al.* 2008 [3] undersøkte *A. esculentus* for å avklare hvorvidt frukten hadde hypoglykemiske egenskaper. I denne studien ble det brukt etanol- og vannekstrakt og de fant

at vannekstraktet viste maksimal effekt overfor alloxan-induserte mus med glibenclamid som standard. Det ble detektert kjemiske substanser hhv proteiner, fytosteroler, flavonoider, tanniner, fenoliske forbindelser sammen med andre flyktige stoffer, men det ble ikke her foreslått hvilken forbindelse som stod ansvarlig for den hypoglykemiske effekten som ble observert med *A. esculentus* fruktekstraktet. Videre farmakologiske undersøkelser ble anmodet [3].

Saravanan *et al.* 2013 [21] rapporterte at etanol rotekstrakt av *A. esculentus* kunne redusere forhøyede triglyseridnivåer hos karbontetraklorid-induserte mus, men at denne effekten var doseavhengig.

Sabitha *et al.* 2011 [5] gjorde forsøk med streptozotozin (STZ) induert diabetes i rotter for å studere nærmere på eventuelle antidiabetiske og antihyperlipidemiske egenskaper fra pulverisert ekstrakt med både skall og frø av *A. esculentus*. STZ ble valgt pga dets selektive toksisitet overfor β -celler i pankreas, ledsaget med reduksjon av insulinfrigjøring hvilket medførte hyperglykemi hos rottene. Glibenclamid var brukt som referanse i denne studien. Blodprøver ble målt etter 28 dagers behandlingstid for å bestemme hemoglobin (Hb), glykosylert hemoglobin (HbA1c), serum glutamat-pyruvat-transferase (SGTP), total protein (TP) og ikke minst fettsammensetningsprofilen. Begge ekstraktene viste signifikant reduksjon i blodglukose allerede etter første uke og det ble også observert at de rottene som ble behandlet med *A. esculentus* gjenvant en økning i kroppsvekt sammenlignet med kontrollrotter. Det ble foreslått at ekstraktene hadde preventive effekter overfor strukturprotein-degradering [5]. Ingen av ekstraktene ga toksisitet eller celledød ved administrerte doser opptil 2000mg/kg peroralt, og ut ifra dette ble konsentrasjoner på hhv 100- og 200mg/kg tatt med videre i studien. Det ble demonstrert at doseringer på 200mg/kg ga signifikant større reduksjon i blodsukker sammenlignet med doseringer på 100mg/kg, og dessuten ga frøekstraktet bedre effekt i forhold til blodsukkersenkningen [5]. Dette tydet på at effekten som ble observert var konsentrasjonsavhengig, men at effekten også var forbundet med forskjellige kjemiske aktive komponenter i de ulike plantedelene av *A. esculentus*. Resultatene var også sammenlignbare med glibenclamid [5]. Det ble her nevnt for flere mekanismer for hvordan planteekstrakt kunne ha utøvd den antidiabetiske effekten som ble observert, som f.eks inhibisjon av karbohydrat metaboliserende enzymer, styrket insulinfølsomhet, regenerering av skadede β -celler i pankreas samt øke sekresjon og frigjøring av insulin. Forskerne mente at *A. esculentus* muligens kunne ha redusert

blodsukkeret i rottene via alle disse mekanismene [5]. Det ble ytterligere vist at total protein nivå økte signifikant etter behandling med begge ekstraktene samtidig som det også ga et signifikant fall i HbA1c verdier [5].

2.4.7 Kardiovaskulær aktivitet

Ngoc *et al.* 2008 [7] undersøkte hypolipidemiske effekter av ulike *A. esculentus* ekstrakter for å evaluere om hvorvidt det fantes tilstrekkelig vitenskapelig bevisgrunnlag som kunne underbygge plantens potensial som et antihyperlipidemisk middel, og/ eller eventuelt som funksjonell mat. I denne studien var hyperlipidemi hos mus induert etter 24 timer med en enkel intra-peritoneal injeksjon av 300mg/kg tyloxapol. Verdiene for både kolesterol og triglyserider var blitt mer enn doblet ved sammenligning med kontrollgruppen. Fire forskjellige ekstrakter ble sammenlignet med 20mg simvastatin som referanse, hhv helplanteekstrakt med diklormetan (AE1), helplanteekstrakt med metanol (AE2), fruktekstrakt med diklormetan (AE3) og fruktekstrakt med metanol (AE4). Ekstraktene ble gitt peroralt hvorav en dose tilsvarte 30g tørket ekstrakt. Resultatene viste at samtlige ekstrakter hadde signifikante kolesterolreducerende egenskaper hvor det ble funnet en reduksjon av total serumkolesterol med hhv 56.45%, 55.65%, 41.13% og 40.50% for ekstraktene i den nevnte rekkefølgen samt 53.63% reduksjon for simvastatin som også hadde sammenlignbare resultater med ekstraktene i forhold til triglyserider, utenom AE4 gruppen som fikk metanol fruktekstrakt [7]. Den totale lipidsenkende effekten var noe høyere for helplanteekstraktene sett i forhold til fruktekstraktene, men denne forskjellen ble ansett for å være signifikant [7]. For AE3 – og AE4-gruppene som fikk fruktekstrakt så forskerne ingen merkbar forskjell når det gjaldt den kolesterolreducerende effekten, bortsett fra at AE4 utviste mindre effekt vedrørende triglyseridreduksjon sammenlignet med simvastatin [7]. Det ble også foreslått at aktive komponenter i ekstraktene muligens utøver den kolesterolsenkende effekten ved å interferere med gallesyre og dermed redusere kolesterol opptaket direkte fra kostholdet. En annen foreslått virkningsmekanisme var at de aktive fraksjonene fra ekstraktene hemmet biosyntesen av kolesterol [7].

Sabitha *et al.* 2011 [5] viste at ekstrakt med både frø og skall fra *A. esculentus* kunne motvirke hyperlipidemiske effekter hos rotter som var blitt induert med diabetes ved bruk av

streptozotolin. Hyperlipidemi har lenge vært assosiert med diabetes og kan karakteriseres som en tilstand med økt triglyserid (TG) verdier med samtidig nedsatt verdier av high-density lipoprotein (HDL) [5]. Studien viste at diabetes induerte rotter hadde signifikant forhøyede verdier av total kolesterol (TC), TG, low-density lipoprotein (LDL) og very-low-density lipoprotein (VLDL) og reduserte HDL sammenlignet med normale rotter. Behandling med planteekstrakt reverserte signifikant alle disse parameterne og ved doseringer på hhv 100- og 200mg/kg [5]. Den antihyperlipidemiske effekten underbygger og støtter opp om at *A. esculentus* kunne motvirke dårlig sammensetning av blodlipider som igjen kan være av vesentlig betydning for utvikling av kardiovaskulære lidelser [5].

Fan *et al.* 2013 [25] viste at polysakkarider fra råekstrakt av *A. esculentus* frukten hadde gunstige kardiovaskulære effekter i høfettindusert overvekt i C57BL/6 mus. Denne studien demonstrerte at bioaktive polysakkarider både senket blodsukker- og fettverdier i testdyrene, til tross for at verdier for serum triglyserider var upåvirket, indikerte de øvrige resultatene for at polysakkaridene kunne ha innvirkning på reguleringen av glukose- og fettmetabolismen. Forskerne ønsket å vite om polysakkaridene kunne få anvendelse overfor metabolske lidelser. Etter tre måneder med høfettindusert overvekt hadde musene blitt overvektige med økte verdier av både blodsukker og total kolesterol. Polysakkarid behandling var initiert over ytterligere to uker først etter at tre måneder med bare høfettindusert overvekt var passert. Forskerne fant ut at mus som fikk polysakkarider fra *A. esculentus* blandet i høfettindusert overvekt hadde signifikant lavere kroppsvekt sammenlignet med mus som kun ble matet med høfettindusert overvekt, og det ble derfor foreslått at vektreduksjonen hos overvektige mus ikke kunne ha vært pga matinntak da begge gruppene fikk samme mengde høfettindusert overvekt [25]. Ved å studere nærmere på størrelsen til adipocytene i disse to gruppene fant forskerne at fettceller i høfettindusert overvekt gruppen var betraktelig større sammenlignet med fettceller hos mus som fikk polysakkarider i maten hhv $9702.10\mu\text{m}^2$ og $1673.09\mu\text{m}^2$, hvilket tydet på at den vektreduksjonen som ble observert kunne ha vært forårsaket av at polysakkaridene reduserte cellestørrelsen hos adipocytene som ble eksponert med *A. esculentus* ekstrakt [25]. Ved evaluering av blodsukkerstatus fant de at disse verdiene var signifikant lavere hos polysakkaridbehandlede mus, og ikke bare ved fastende tilstand, men også etter intraperitoneal injeksjon med glukose. Videre fikk denne gruppen økt insulinfølsomhet bestemt ut fra en insulin toleransetest, hvor det ikke ble sett noen forskjell mellom kontroll- og polysakkaridgruppen [25]. Alt dette talte for at polysakkarider fra *A. esculentus* hadde biologisk aktivitet i forhold til senkning av kroppsvekt, reduksjon av både serumlipider og

blodsukker samt stimulere til økt glukosetoleranse og insulinsensitivitet i overvektinduserte mus [25]. Studien vurderte også polysakkaridenes aktivitet overfor to viktige kjernereseptorer hhv lever-x-reseptorer (LXR) og peroksisomproliferator-aktiverede reseptorer (PPAR) som tilsammen var meget viktige for regulering av fett- og glukosehomeostasen. Det ble nevnt at LXR bidro til regulering av kolesterol- og fettsyremetabolisme i hepatisk vev, mens PPAR regulerer metabolismen for glukose og fett samt differensiering av adipocytter [25]. Resultatene viste en signifikant inhibisjon av LXR mRNA nivåer både i lever og fettvev, mens det for PPAR mRNA var observert lavere verdier i fettvev sammenlignet med overvektige mus som ikke fikk polysakkarider. Det ble foreslått at de gunstige effektene overfor vektreduksjon, reduksjon av både serumlipider og blodsukker muligens skyldtes inhiberende interaksjoner med disse kjernereseptorene. Forskerne mente at dette var det første beviset som var rapportert om at polysakkarider fra *A. esculentus* har innvirkninger overfor LXR kjernereseptorsignaler [25].

Soares *et al.* 2012 [13] rapporterte at AEL hemmet agglutinerings av kaninerytrocytter, humant type 0 røde blodceller og humant type B native erytrocytter.

2.4.8 Nevrobeskyttende aktivitet

Tongjaroenbuangam *et al.* 2011 [9] utførte studie med deksametason induert nerveskader i mus for å avklare om hvorvidt ekstrakt av *A. esculentus* eller dets derivater hhv quercetin og rutin, hadde nevrobeskyttende egenskaper som kunne forbedre både lærings- og hukommelseevnen i testdyrene. Resultatene viste at det var signifikant forskjell mellom mus som fikk tilleggsbehandling med ekstrakt i forhold til mus som kun fikk deksametason. Det var tydelig at mus som fikk forbehandling med planteekstrakt presterte bedre overfor labyrinttesten hvor de brukte signifikant kortere tid for gjennomføring av testen. Forskjellen i tiden testdyrene brukte til å gjennomføre labyrinttesten kunne ha være assosiert med hukommelsestap [9]. Derimot var det ingen signifikant forskjell mellom kontroll og mus som kun fikk ekstrakt, quercetin eller rutin uten etterbehandling med deksametason [9]. Dette tydet på at både quercetin, rutin og eventuelt andre aktive komponenter i ekstraktet kun har en beskyttende effekt overfor degenerative prosesser, men at de muligens ikke stimulerer til økt kognitiv funksjon utover en ellers frisk fysiologisk tilstand. Morfologiske undersøkelser

av pyramidale nevroner ble også evaluert etter 21 dager med deksametasonbehandling og her fant de at mus som ikke fikk *A. esculentus* ekstrakt, quercetin eller rutin hadde signifikant redusert pyramidale cellelag spesielt i regionen for CA3 hippokampale nerveceller. Sammenlignet med mus som fikk ekstrakt, quercetin eller rutin ble det observert at de morfologiske forandringene her var bremset og mindre synlige. Til sammenligning med friske nerveceller viste kontrollgruppen at nevronene i CA1-CA4 var både klare og runde eller ovale i formen med tydelige og distinkte cellekjerner. Ytterligere var nevronene i CA3 regionen arrangert lagvis bestående av 4-5 cellelag og det var nettopp her man så den mest signifikante forskjellen ved sammenligning med deksametasonbehandlede mus [9]. Forlenget behandling med deksametason demonstrerte en endret ekspresjon av N-metyl-D-aspartatreseptorer (NMDA) i hippocampus, mens denne prosessen viste seg å være forhindret da forskerne undersøkte mus i de andre gruppene hhv *A. esculentus* ekstrakt, quercetin eller rutin [9]. Resultatene som ble funnet i denne studien talte for at *A. esculentus* ekstrakt, quercetin og rutin kunne reversere kognitiv degradering og i tillegg beskyttet mot morfologiske forandringer i CA3 regionen i mus som gjennomgikk deksametason behandling [9].

2.4.9 Immunmodulerende aktivitet

Sheu *et al.* 2011 [26] viste at polysakkarider fra *A. esculentus* hadde stimulerende cytokinsekretoriske effekter ved 100µg/ml på dendrittiske celler hentet fra benmargen hos rotter. De benyttet både rå og hydrolysert ekstrakt. De isolerte polysakkaridene hadde tilstrekkelig lave verdier for endotoksiner hvilket utelukket muligheten for at den stimuleringen som ble observert hadde opprinnelse fra disse toksinene [26]. Uten stimulering med polysakkaridekstrakt forble immuncellene små og runde i formen med polymorfe cellekjerner, men etter at cellene var stimulert så man tydelig at cellekjernene ble enda mer polymorfe og små utstikkende membranstrukturer ble enda mer markante samtidig som immuncelle gikk over til å bli avlange i formen. Disse forandringene peker sterkt i retning av at *A. esculentus* polysakkarider promoter modning av dendrittiske immunceller [26]. Oppreguleringen av hovedhistokompatibilitetskompleks (MHC) klasse II og lymfocytffunksjon-assosiert antigen 1 (LFA-1) indikerte dendrittisk celleaktivering da dette ble sammenlignet med kontrollgruppen som ikke fikk administrert polysakkarider fra *A. esculentus*. Disse var viktige molekyler for både antigen formidling og aktivering av T-celler.

Effekten som her ble observert var konsentrasjonsavhengig og økte med hhv administrerte doser på 25-, 50- og 100µg/ml [26]. Høyere administrerte doser på hhv 200-, 400- og 800µg/ml ga ingen videre økning i effekt, trolig pga metning av membranreseptorer eller tilstedeværelse av andre uidentifiserte komponenter i *A. esculentus* [26]. Denne studien viste også en redusert endocytose hos dendrittiske celler etter behandling med polysakkarider, hvilket styrker beviset ytterligere for aktivering av disse cellene [26].

Dette var ifølge forskerne den første studien som har blitt gjort for å evaluere immunmodulerende aktivitet fra *A. esculentus* polysakkarider. Ved sammenligning med lipopolysakkarider (LPS) demonstrerte polysakkaridene fra *A. esculentus* en svakere stimulerende effekt overfor dendrittiske immuncellene, men dette ble ansett som en fordel dersom *A. esculentus* skulle bli brukt som adjuvant behandling fordi aktivering fra både lipopolysakkarider og polysakkarider fra *A. esculentus* ekstrakt kunne tenkes å ha vært mediert via ulike immunologiske reaksjonsveier [26], noe som igjen åpner for muligheten til at *A. esculentus* kan ha en supplerende effekt sammen med en eksisterende behandling. Selv om denne studien viser at polysakkarider har en stimulerende effekt overfor dendrittiske immunceller ble de aktive substansene som er ansvarlige for den biologiske effekten fremdeles ikke avklart. Fra tidligere studier har det blitt nevnt at β-glukaner har demonstrert immunstimulerende egenskaper via aktivering immunceller som makrofager, naturlig dreperceller samtidig som de også har en viss innvirkning på B-celler og T-celler [26]. Denne studien nevnte ytterligere at bindingsspesifisiteten til C3-reseptorer talte for at andre polysakkarider som inneholdt mannose, N-acetyl-D-glukosamin og glukose også kunne ha vært involvert i den immunstimulerende aktiviteten overfor dendrittiske immuncellene som resulterte i dannelsen av interleukin 12 (IL-12) og interferon gamma (INF- γ), som igjen ledet til type 1 T-hjelpecelle respons [26]. Fra dette ble det foreslått at *A. esculentus* polysakkarider potensielt kan brukes overfor allergirelaterte sykdommer [26].

Tsumbu *et al.* 2011 [27] undersøkte utvalgte tropiske matplanter for å se nærmere på hvordan immunmodulerende komponenter i disse plantene påvirket oksidativt aktivitet i nøytrofiler som var isolert fra hest. *A. esculentus* var blant de utvalgte matplantene og demonstrerte utallige ulike effekter overfor nøytrofilene. Den viste en konsentrasjonsavhengig responsreduksjon av lucigenin forbedret kjemiluminescens (CL) i heste nøytrofiler som på forhånd var blitt stimulert med forbol 12-myristat 13-acetat (PMA). Myeloperoksidase (MPO), et oksiderende enzym produsert av nøytrofiler ved overstimulering ble også målt, og det ble funnet at *A. esculentus* hemmet frigjøring av MPO og at denne effekten var

signifikant når nøytrofilene fikk administrert en konsentrasjon på 10µg/ml. Det var derimot ingen signifikant aktivitet ved lavere doser på 0,1µg/ml og videre ingen signifikant forskjell i forhold til temperaturpåvirkning ble demonstrert noen [27].

Monte *et al.* 2013 [28] evaluerte den selektive antitumor effekten av AEL, et nyoppdaget lektin fra *A. esculentus* frø overfor MCF7 humane brystkreftcellerlinjer. Forskerne fant ut at lektinet demonstrerte en selektiv egenskap ved å eksponere det overfor to ulike typer cellerlinjer hhv MCF7 brystkreftcellerlinjer og CCD-1059sk fibroblastcellerlinjer. Det ble laget en negativ kontroll (iAEL) hvor AEL ble inkubert med galaktose, hvilket blokkerte for alle karbohydratbindingsetene i AEL og som konsekvens av dette fikk opphevet dets antitumor effekter.

Resultatene etter 72 timers eksponering viste at AEL var celletoksisk overfor brystkreftcellene, men den negative kontrollen ga ingen toksisk effekt. Videre så det ut til at denne antitumor aktiviteten til AEL var både tids- og konsentrasjonsavhengig, hvor maksimal toksisitet, 63% ble nådd etter 72 timer og med en konsentrasjon på 0,1mg/ml. Verken AEL eller iAEL demonstrerte samme grad av toksisitet overfor fibroblastene 24%, hvilket var en indikasjon på at effekten av lektinet i tillegg også var avhengig av celletype [28]. Det ble nevnt at dette mekanismen kunne skyldes interaksjoner mellom domenet for karbohydratgjenkjennelse hos AEL og dets antiproliferative aktivitet, som igjen bekreftet at AEL interagerte med andre celler gjennom domene bindingssteder for sukkerbindinger [28]. Andre virkningsmekanismer som også ble nevnt var at lektiner kunne ha blitt tatt opp og akkumulert i mitokondrier og derfra utøve innflytelse på genekspressjon av vitale proteiner etterfulgt av apoptotisk celledød [28]. For å bestemme om hvorvidt AEL medierte den toksiske effekten via induksjon av nekrose ble MCF7 humane brystkreftcellerlinjer videre behandlet med AEL gjennom forskjellige tidsintervaller for å studere dets effekt på cellemembranen ved å måle opptak av det fluoriserende stoffet propidium iodid (PI) hvor økt opptak etter AEL eksponering tydet på tap av membranintegritet. AEL behandling med en konsentrasjon gitt ved 0,1mg/ml i 72 timer førte til økt opptak av PI, hvilket tydet på at induert nekrose hadde oppstått. iAEL viste ingen ytterligere økt opptak av PI som igjen styrket antakelsen om at AEL utøvde en selektiv effekt hvor lektinet var involvert i interaksjoner med karbohydratstrukturer som uttrykkes på celleoverflatene [28].

Zheng *et al.* 2014 [14] undersøkte immunmodulerende egenskaper med vannekstrakt av polysakkarider som fantes i *A. esculentus* blomst og identifiserte fra blomstene et

polysakkarid som de kalte OFPS11 som viste seg å ha gode antitumor egenskaper som trolig var mediert via stimulert makrofagaktivering gjennom nukleær faktor kappa-lettkjede-enhancer av aktiverte B-celler (NF- κ B) reaksjonsvei. Det ble vist at forbehandling av makrofag cellelinje fra mus (RAW264.7) celler med OFPS11, signifikant hemmet celleproliferasjon i hepatocellulært karsinom (HepG-2), i tillegg til at det ble observert en styrket fagocytose og induert økning av nitrogenoksid (NO) produksjon, samt økt sekresjon av tumornekrosefaktor α (TNF- α) og interleukin-1beta (IL-1 β). OFPS11 viste videre at det kunne promotere genekspressjonen av både proteinet iNOS, en isoform av enzymet nitrogenoksid syntase, samt iNOS- og TNF- α mRNA [14]. Videre viste denne studien at OFPS11 hadde ingen nevneverdige toksiske effekter verken på HepG-2 celler eller overfor RAW264.7 celler, hvilket indikerte for at den antitumoreffekten muligens ble mediert indirekte via andre mekanismer som muligens kunne være ”boosting” av immunsystemet [14]. Studien undersøkte også om hvorvidt makrofagmediert toksisitet fra OFPS11 kunne ha påvirket celleproliferasjonen av HepG-2 cellene og resultatene viste en distinkt og konsentrasjonsavhengig effekt som også var signifikant ved alle konsentrasjoner sammenlignet med kontrollgruppen [14]. Forskerne mente at OFPS11 viser meget gode immunologiske egenskaper ved å stimulere responser hos makrofager og at den immunmodulerende effekten tilsynelatende var blant en av de viktigste mekanismene bak dets antitumor aktivitet [14]. Studien monitorerte NO produksjonen overfor RAW264.7 cellelinje som var behandlet med OFPS11 og det ble funnet en signifikant konsentrasjonsavhengig respons med økt sekresjon. NO blir anset for å være en meget viktig komponent i drap av kreftceller pga dets inaktiverende effekter overfor mitokondrielle respiratoriske kjedeenzymer [14]. Dette bidrar ytterligere med å styrke beviset for immunmodulerende polysakkarider fra *A. esculentus*. I tillegg til dette ble også observert økt produksjon av TNF- α og IL-1 β fra aktiverte makrofager. Disse var viktige cytokiner i reguleringen av immunologiske responser [14]. Det ble nevnt mot slutten at det var behov for å avklare den kjemiske strukturen for OFPS11, nettopp fordi den biologiske aktiviteten for store molekyler som polysakkarider var meget avhengig av deres tredimensjonale oppførsel [14].

2.4.10 Fertilitetsregulerende aktivitet

Ashidi *et al.* 2013 [29] undersøkte *A. esculentus* for å evaluere dets biologiske effekter vedrørende fertilitet og rapporterte at både blad og rot kan ha abortfremmende aktivitet. Videre kan frukten inneholde komponenter som hemmer reproduktive parametere hos mannen. Riktignok så de også at det høye antioksidant innholdet hadde fertilitetsfremmende egenskaper som trolig ble mediert via redusert oksidativt stress overfor de reproduktive cellene [29]. Forskerne konkluderte med at det trengs flere studier for å kunne dokumentere fertilitetsregulerende egenskaper fra *A. esculentus*. Inntil videre ble det nevnt at dersom planter brukes i veldig små mengder har det en gunstig effekt overfor graviditet og motsatt kan dette resultere i abort og andre fysiologiske komplikasjoner. Det er verdt å merke seg at denne studien kun var en etnobotanisk spørreundersøkelse og at ingen testing for biologisk aktivitet var blitt gjort.

2.5 Toksikologiske studier

Jeg fant ingen studier som utelukkende beskrev den toksiske profilen til *A. esculentus*. Av praktiske grunner har jeg valgt å nevne toksiske opplysninger sammen med de farmakologisk studiene disse opplysningene hører til.

2.6 Kliniske studier

Kanlayavattanakul *et al.* 2011 [30] testet et alkoholbasert håndskrubbe som inneholdt polysakkarider fra *A. esculentus* ovenfor 36 frivillige for å evaluere produktets fuktgivende egenskaper. Resultatene demonstrerte at formuleringen som inneholdt *A. esculentus* ikke forårsaket hudirritasjoner og at den fuktgivende effekten var bedre enn for de formuleringene som ikke inneholdt polysakkarider fra *A. esculentus*. Det ble bekreftet at fuktigheten ble vedlikeholdt i ca. 210 minutter etter topikal applisering.

2.7 Konklusjon

Det finnes en betydelig mengde med vitenskapelige publikasjoner om *A. esculentus* og dets biologiske effekter. Gjennom den tradisjonelle bruken har planten blitt brukt mot mange forskjellige medisinske tilstander. Etter det som er beskrevet ovenfor mener jeg at deler av den tradisjonelle bruken valideres gjennom nyere vitenskapelig funn, spesielt med tanke på dets potensial som et profylaktisk antiulcerogent middel hvilket muligens også gjenspeiler den mest uttalte bruken planten har i medisinsk sammenheng. Det betyr også at den burmesiske påstanden om at *A. esculentus* som et middel mot mage- tarm lidelser basert på tradisjonell bruk er velbegrunnet. Bruken av planten som et mykgjørende middel i Burma er også blitt klinisk validert. Det ser også ut til å ha potensial som profylakse overfor negativ kardiovaskulær utvikling på bakgrunn av det høye innholdet av antioksidanter i planten. Den cellebeskyttende aktiviteten er samsvarende med det faktum at planten tradisjonelt har blitt brukt overfor sykdommer som preges av unormal cellemorfologi deriblant kreft. Det var noe motstridene resultater vedrørende den antimikrobielle aktiviteten, hvilket taler imot rettferdiggjøring av den tradisjonelle bruken på det området, men potensial foreligger. Flere studier er ønsket for å ytterligere avklare hva *A. esculentus* kan bidra med i medisinsk sammenheng i fremtiden.

2.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2609574>. 2015.05.12.
2. Lengsfeld, C., Titgemeyer, F., Faller, G., Hensel, A.: Glycosylated compounds from okra inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**(6), (2004), 1495-1503.
3. Saha, D., Jain, B., Jain, V.K.: Phytochemical evaluation and characterization of hypoglycemic activity of various extracts of *Abelmoschus esculentus* Linn. fruit. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**(2), (2011), 183-185.
4. Weblio.
URL: <http://www.weblio.jp/content/Abelmoschus+esculentus>. 2015.05.12.
5. Sabitha, V., Ramachandran, S., Naveen, K.R., Panneerselvam, K.: Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, **3**(3), (2011), 397.
6. Joshi, S.V., Kalyani, A.K., Urvashi, V.M., Sandesh, R.L., Payyal, D.S., Heta, G.V., Ruchi, B.V., Bhavin, A.V., Gajanan, G.K.: Alteration of gastric mucus secretion in rats treated with *Abelmoschus esculentus* seed mucilage. *Der Pharmacia Lettre*, **3**(5), (2011), 183-188.
7. Ngoc, T.H., Ngoc, Q.N., Van, A.T.T., Phung, N.V.: Hypolipidemic Effect of Extracts from *Abelmoschus esculentus* L.(Malvaceae) on Tyloxapol-Induced Hyperlipidemia in Mice. *Warasan Phesatchasat*, **35**, (2008), 42-6.
8. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
9. Tongjaroenbuangam, W., Ruksee, N., Chantiratikul, P., Pakdeenarong, N., Kongbuntad, W., Govitrapong, P.: Neuroprotective effects of quercetin, rutin and okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.) in dexamethasone-treated mice. *Neurochemistry International*, **59**(5), (2011), 677-685.
10. Shui, G., Peng, L.L.: An improved method for the analysis of major antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. *Journal of Chromatography A*, **1048**(1), (2004), 17-24..

-
11. Atawodi, S.E., Atawodi, J.C., Idakwo, G.A., Pfundstein, B., Haubner, R., Wurtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W.: Polyphenol composition and antioxidant potential of *Hibiscus esculentus* L. fruit cultivated in Nigeria. *Journal of Medicinal Food*, **12**(6), (2009), 1316-1320.
 12. Ying, H., Jiang, H., Liu, H., Chen, F., Du, Q.: Ethyl acetate–n-butanol gradient solvent system for high-speed countercurrent chromatography to screen bioactive substances in okra. *Journal of Chromatography A*, **1359**, (2014), 117-123.
 13. Soares, G.d.S.F., Assreuy, A.M.S., de Almeida Gadelha, C.A., de Moraes Gomes, V., Cavada, B.S., Leite, J.F., Nagano, C.S., Pinto, N.V.: Purification and biological activities of *Abelmoschus esculentus* seed lectin. *The Protein Journal*, **31**(8), (2012), 674-680.
 14. Zheng, W., Zhao, T., Feng, W., Wang, W., Zou, Y., Zheng, D., Takase, M., Li, Q., Wu, H., Yang, L., Wu, X.: Purification, characterization and immunomodulating activity of a polysaccharide from flowers of *Abelmoschus esculentus*. *Carbohydrate Polymers*, **106**, (2014), 335-42.
 15. Kumar, D.S., Tony, D.E., Kumar, A.P., Kumar, K.A., Rao, D.B.S., Nadendla, R.: A Review On: *Abelmoschus Esculentus* (Okra). *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, **3**(4), (2013), 129-132.
 16. de Carvalho, C.C.C.R., Cruz, P.A., da Fonseca, M.M.R., Xavier-Filho, L.: Antibacterial properties of the extract of *Abelmoschus esculentus*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **16**(5), (2011), 971-977.
 17. Sivasankari, B., Anandharaj, M., Gunasekaran, P.: An ethnobotanical study of indigenous knowledge on medicinal plants used by the village peoples of Thoppampatti, Dindigul district, Tamilnadu, India. *Journal of Ethnopharmacology*, **153**(2), (2014), 408-423.
 18. Liao, H., Liu, H., Yuan, K.: A new flavonol glycoside from the *Abelmoschus esculentus* Linn. *Pharmacognosy Magazine*, **8**(29), (2012), 12.
 19. SciFinder.
URL:<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>.
2015.05.12.
 20. Klafke, G.B., Moreira, G.M.S.G., Monte, L.G., Pereira, J.L., Brandolt, T.M., Xavier, M.O., Santi-Gadelha, T., Dellagostin, O.A., da Silva Pinto, L.: Assessment of plant lectin antifungal potential against yeasts of major importance in medical mycology. *Mycopathologia*, **175**(1-2), (2013), 147-151.

-
21. Saravanan, S., Pandikumar, P., Pazhanivel, N., Paulraj, M.G., Ignacimunthu, S.: Hepatoprotective role of *Abelmoschus esculentus* (Linn.) Moench., on carbon tetrachloride-induced liver injury. *Toxicol Mech Methods*, **23**(7), (2013), 528-36.
 22. Messing, J., Thöle, S., Niehues, M., Shevtsova, A., Glocker, E., Borén, T., Hensel, A.: Antiadhesive Properties of *Abelmoschus esculentus* (Okra) Immature Fruit Extract against *Helicobacter pylori* Adhesion. *Public Library of Science*, **9**(1), (2014), 84836.
 23. Maganha, E.G., Halmenschlager, R.d.C., Rosa, R.M., Henriques, J.A.P., Ramos, A.L.L.d.P., Saffi, J.: Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. *Food Chemistry*, **118**(1), (2009), 1-10.
 24. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Eslami, B.: Antihypoxic and antioxidant activity of *Hibiscus esculentus* seeds. *Grasas Aceites (Sevilla, Spain)*, **61**(1), (2010), 30-36.
 25. Fan, S., Gou, L., Zhang, Y., Sun, Q., Yang, B., Huang, C.: Okra polysaccharide improves metabolic disorders in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, **57**(11), (2013), 2075-2078.
 26. Sheu, S-C., Lai, M-H.: Composition analysis and immuno-modulatory effect of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) extract. *Food Chemistry*, **134**(4), (2012), 1906-1911.
 27. Tsumbu, C.N., Deby-Dupont, G., Tits, M., Angenot, L., Frederich, M., Kohnen, S., Mouithys-Mickalad, A., Serteyn, D., Franck, T.: Polyphenol content and modulatory activities of some tropical dietary plant extracts on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase. *International journal of molecular sciences*, **13**(1), (2012), 628-650.
 28. Monte, L.G., Santi-Gadelha, T., Reis, L.B., Braganhol, E., Prietsch, R.F., Dellagostin, O.A., e Lacerda, R.R., Gadelha, C.A.A., Conceição, F.R., Pinto, L.S.: Lectin of *Abelmoschus esculentus* (okra) promotes selective antitumor effects in human breast cancer cells. *Biotechnology Letters*, **36**(3), (2014), 461-469.
 29. Ashidi, J.S., Olaosho, E.A., Ayodele, A.E.: Ethnobotanical survey of plants used in the management of fertility and preliminary phytochemical evaluation of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, **5**(9), (2013), 164-169.

-
30. Kanlayavattanakul, M., Rodchuea, C., Lourith, N.: Moisturizing effect of alcohol based hand rub containing okra polysaccharide. *International Journal of Cosmetic Science*, **34**(3), (2012), 280-283.

3 *Acacia leucophloea* Willd

3.1 Beskrivelse

Acacia leucophloea (Roxb.) Willd er i henhold til the Plantlist [1] det aksepterte navnet på en planteart fra slekten *Acacia* og som tilhører plantefamilien *Leguminosae*. Planten er et tre av moderat størrelse og dekket med gulaktig bark. Unge grener er fløyelsmyke og dekket med fine og korte hår. Rette utstikkende pigger vokser i par på 3-25 mm [2]. Bladene er finnet og elliptiske og alternerende arrangert i klynger. To til tre blomster vokser sammen i klynger og har en kremet gul farge. Blomstringen skjer mellom august og september. Fruktene er fastsittende avlange kapsler med 10-20 frø på innsiden og kommer frem mellom oktober og februar [2].



Figur 7 viser et bilde av *A leucophloea* [3].

3.2 Tradisjonell bruk

Dabur *et al.* 2008 [4] rapporterte med henvisning til det ayurvediske systemet at barken fra *A. leucophloea* har vært brukt som et antimikrobielt middel. Det har også hatt en tradisjonell bruk mot innvollsorm, slimdannelse og det har også vært påstått at barken har blodrensende egenskaper. Det fremgår også at barken har vært brukt ved ulike hudsykdommer som spedalskhet, sår, blødning i tannkjøtt, munnsår, tørrhoste, dysenteri, diabetes og feber [4]. Imran *et al.* 2011 [5] skrev at barken fra *A. leucophloea* har vært brukt som hhv astringent, varmeavgivende middel, for å stoppe blødning, mot infeksjoner, febernedsettende, motgift ved slangebitt, bronkitt, hoste, oppkast, sår, magesår, diaré, dysenteri, både intern og ekstern blødning, karies, munnhulebetennelse og hudsykdommer. Ekstrakt med bark og blad blir brukt mot psoriasis, nyreødemer, hjerteødemer og fordøyelse. Juice fra bladene brukes mot feber, magesmerter og til å stoppe blødning [5]. Zia-Ul-Haq *et al.* 2013 [6] nevnte at *A. leucophloea* har hatt tradisjonell medisinske anvendelse overfor høyt kolesterol, diabetes, kreft, tannkjøttbetennelse, munnskold og betennelse i svelget. Utover det medisinske har *A. leucophloea* hatt vesentlig anvendelse i forbindelse med matlaging og foring av husdyr. Fibre fra barken brukes også til å lage tau og fiskegarn [6]. I Burma blir barken brukt som et astringerende middel [7].

3.3 Kjemiske substanser

<i>Acacia leucophloea</i> (Roxb.) Willd						
stoffgruppe/ kjemisk substans	plantedel					referanse
	rot	stamme/ bark	blad	bloms/ knopp	frukt/ frø	
flavonoider						
isookannin		x				
cyanin		x				
leucodelphinidin-3-O- α -L-		x				

rhamnopyranosid						
(-)-fisetinidol-(4 α ,8)-[(-)-fisetinidol-(4 α 6)]-(+)-katekin		x				[8]
quercetin				x		[9]
galangin-3-O- α -L-rhamnopyranosid	x					[10]
myricetin				x		[11]
prorobinetinidin		x				[12]
saponiner						
betulinsyre-3-O- β -D-maltosid	x					[13]
terpenoider						
leucoksol	x					[14]
lupeol				x		[9]
leucophleol	x					[15, 16]
leucophleoksol	x					[15, 16]
β -amyrin		x				[17]
friedelan-3-on		x				[17]
friedelan-3 β -ol		x				[17]
steroler						
β -sitosterol		x				[17, 18]
kinoner						
1,3-dihidroksy-5-metoksy-2-metylantrakinon-8-O- α -L-rhamnopyranosid	x					[10]
1-hidroksy-8-metoksy-2-metylantrkinon-3-O- α -L-rhamnopyranosid	x					[10]
1,5-dihidroksy-8-metoksy-2-metylantrakinon-3-O- α -L-	x					[10]

rhamnopyranosid						
aminosyrer						
L-Dopa					x	[19]
asparaginsyre					x	[20]
glutaminsyre					x	[20]
argininsyre					x	[20]
fettsyrer						
palmitinsyre					x	[21]
stearinsyre					x	[21]
linolsyre					x	[20, 21]
linolensyre					x	[21]
oleanolsyre					x	[20]
karbohydrater						
galaktomannan					x	[22]
andre organiske stoffer						
fytinsyre					x	[19]
gallesyre				x		[9]
hydrocyaninsyre			x	x	x	[23]
n-oktakosanol		x				[17]
n-hexakosanol		x				[17]

Joshi *et al.* 1977 [17] isolerte fra stamme og bark tilhørende *A. leucophloea* ulike forbindelser som var hhv n-oktakosanol, β -amyrin, friedelan-3-on, friedelan-3 β -ol, β -sitosterol og n-heksakosanol.

Perales *et al.* 1980 [14] isolerte leucoksol, et nytt diterpenoid fra roten tilhørende *A. leucophloea*.

Bansal *et al.* 1980 [15] isolerte to nye diterpenoider fra roten til *A. leucophloea*. Disse var hhv leucophleol og leucophleoksol.

Bhadoria & Gupta 1981 [23] rapporterte innholdet av hydrocyaninsyre i ulike plantedeler tilhørende i *A. leucophloea* gjennom forskjellige vekstadiet hos planten.

Mishra & Srivastava 1985 [13] isolerte betulinsyre-3-O- β -D-maltosid et nytt saponin fra roten til *A. leucophloea*.

Saxena & Srivastava 1986 [10] isolerte to nye antrakinoner fra roten tilhørende i *A. leucophloea*. Disse var hhv 1,3-dihydroksy-5-metoksy-2-metylantrakinon-8-O- α -L-rhamnopyranosid og 1-hydroksy-8-metoksy-2-metylantrakinon-3-O- α -L-rhamnopyranosid. De isolerte også 1,5-dihydroksy-8-metoksy-2-metylantrakinon-3-O- α -L-rhamnopyranosid og galangin-3-O- α -L-rhamnopyranosid.

Soni & Bose 1986 [22] isolerte et homogent galaktomannan fra avfattede frø tilhørende *A. leucophloea*.

Vadivel *et al.* 2011 [24] rapporterte tilstedeværelsen av fenoliske forbindelser og at det fantes variasjoner mellom det totale innholdet av fenoliske forbindelser i *A. leucophloea* frø, avhengig av hvordan frøene var blitt tilberedt ut ifra de lokale metodene som de innfødte i Sør India benyttet seg av herunder koking, oljefritering og pannesteking. Det viste seg at de fenoliske forbindelsene ble best bevart gjennom fritering med olje. .

Khan *et al.* 2012 [21] undersøkte variasjoner i oljesammensetning med frø fra blant ni *Acacia* arter, inkludert *A. leucophloea* og rapporterte for tilstedeværelse av både mettede og umettede fettsyrer herunder palmitinsyre, stearinsyre, linolsyre og linolensyre. Det ble funnet at *A. leucophloea* var blant *Acacia* artene som hadde høyest andel mettede fettsyrer i forhold til de umettede fettsyrene selv om alle plantearter som ble undersøkt generelt hadde en oljesammensetning i frøene som hovedsakelig bestod av umettede fettsyrer.

Gautam *et al.* 2012 [19] gjorde undersøkelser med frø fra forskjellige plantearter inkludert i *A. leucophloea* for å teste α -amylase inhibisjon og antioksidant aktivitet hvorav det fremgår fra denne studien at *A. leucophloea* inneholder L-Dopa og fytinsyre.

Leela & Saraswathy 2013 [9] utførte en kvantitativ analyse av farmakologisk aktive markører med blomster fra *A. leucophloea*. Disse markørene var hhv gallesyre, quercetin og lupeol hvorav de respektive mengdene utgjorde 124.31, 580.40 og 24.89 µg/ml. Quercetin utgjorde den største andelen blant disse tre markørene.

Zia-Ul-Haq *et al.* 2013 [6] utførte en relativ omfattende studie for å avklare den kjemiske sammensetning i frukt og frø tilhørende *A. leucophloea*. De rapporterte at karbohydrater utgjorde omtrent halvparten av den kjemiske sammensetningen. Proteiner og fiber utgjorde omtrent en tredjedel og resten vann, lipider og andre stoffer.

Ahmed *et al.* 2014 [8] isolerte forbindelsen (-)-fisetinidol-(4 α ,8)-[(-)-fisetinidol-(4 α 6)]-(+)-katekin, et trimerisk proantocyanidin fra barken tilhørende *A. leucophloea*.

3.4 Biologisk aktivitet

3.4.1 Antimikrobiell aktivitet

Rao & Rao 1986 [12] undersøkte antifungale effekter av proantocyanidiner fra seks ulike plantearter inkludert *A. leucophloea*. Samtlige proantocyanidiner ble testet ved ulike konsentrasjoner hhv 50, 100, 200 og 400 ppm. Prorobinetinidin, et proantocyanidin fra *A. leucophloea* var blant to testede planter som hadde høyest inhibisjon mot soppen *Rhizoctonia solani* ved en konsentrasjon på 400 ppm som tilsvarte 84.2% inhibisjon.

Dabur *et al.* 2008 [4] screenet 24 planter, inkludert *A. leucophloea* for antimikrobielle egenskaper. Evalueringen ble gjort med fem forskjellige ekstrakter hhv n-heksan, kloroform, aceton, metanol og vann. Testorganismene som ble brukt i denne studien var hhv *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, , *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus vulgaris* og *Shigella boydis*. For *A. leucophloea* hadde vannekstrakt antibakteriell aktivitet overfor *E. coli*, *B. cereus*, *K. aerogenes* med en MIC-verdi på 300µg/ml. Vannekstraktet hadde også effekt over *S. boydis*, men her kunne de ikke bestemme MIC. Metanolekstraktet ga kun effekt overfor *E. coli* med 300µg/ml MIC, mens acetonekstraktet

hadde kun antibakteriell effekt overfor *S. aureus* men en MIC på 600µg/ml. I denne studien var *A. leucophloea* ikke blant de beste plantene når det gjaldt den antibakterielle effekten og heller ble ingen antifungale effekter observert [4].

3.4.2 Antioksidant aktivitet

Vadivel *et al.* 2011 [24] rapporterte at det fantes variasjoner mellom det totale innholdet av fenoliske forbindelser i *A. leucophloea* frø og frø fra ni andre planter, avhengig av hvordan planten var blitt tilberedt ut ifra de lokale metodene som de innfødte i Sør India benyttet seg av herunder koking, oljefratering og pannesteking. Det viste seg at de fenoliske forbindelsene ble best bevart gjennom fratering med olje [24]. Disse plante inngikk deretter videre i forskjellige antioksidanttester for å teste hvilket av tilberedningsmetodene som var mest hensiktsmessig i forhold til konsum forbundet med ernæring. Resultatene viste at frøene fra *A. leucophloea* inneholdt varierende grad av antioksidant aktivitet avhengig av tilberedningsmetoden. Det er verdt å nevne at *A. leucophloea* var blant de testede plantene som hadde høyest innhold av fenoliske forbindelser noe som igjen var positivt assosiert med de antioksidative effektene som ble observert [24].

Gautam *et al.* 2012 [19] utførte antioksidantstudier med *A. leucophloea* sammen med seks andre plantearter og rapporterte at L-Dopa ekstraktet med *A. leucophloea* hadde størst radikalsøkende kapasitet ut fra en DPPH assay. Forskerne nevnte ikke uttrykkelig for at antioksidant aktiviteten var signifikant hvilket gjaldt felles for alle planteartene som ble undersøkt, men det fremgår at alle frøekstraktene ga markante resultater i den jern reduserende testen selv om det var en stor variasjon mellom 7-145 mM FeSO₄ per mg ekstrakt. Forsøket ga også markante resultater i DPPH testen med en variasjon fra 16-95% mellom de ulike ekstraktene.

Sulaiman *et al.* 2013 [25] undersøkte antioksidant aktivitet med etanolekstrakt fra *A. leucophloea* og to andre planter, også fra *Acacia* slekten. Alle aerobiske levende systemer produsere frie radikaler som følge av cellulær metabolisme og disse radikalene har vist å ha en sentral rolle i sykdomsutviklingen for en rekke sykdommer [25]. Oksidativt stress inntreffer først når generering av reaktive oksygen spesier (ROS) overgår systemets endogene

antioksidant forsvar [25]. Fra denne studien ble det funnet at *A. leucophloea* hadde lavest aktivitet både som antioksidant og som radikalsøker, men at antioksidant effekten var allikevel større enn standarden katekin [25]. Denne studien viste imidlertid at det var en klar positiv korrelasjon mellom det totale innholdet av fenoliske forbindelser og den radikalsøkende effekten. *A. leucophloea* hadde lavest totalt innhold av fenoliske forbindelser, men forskerne mente allikevel at også *A. leucophloea* kan være en viktig kilde for utvinning av nye bioaktive forbindelser med antioksidant egenskaper [25].

Zia-Ul-Haq *et al.* 2013 [6] evaluerte i en studie næringspotensialet for *A. leucophloea* som en naturlig matkilde for antioksidanter. I denne studien brukte de metanolekstrakt med plantedeler fra hhv blad, frukt og frø. Det fremgår at eksogene antioksidanter er påkrevd for å avlaste stresspåkjenningen fra reaktive oksygen- og nitrogen spesier (ROS/RNS), samtidig som syntetiske antioksidanter ofte er forbundet med bivirkninger og bør dermed erstattes med antioksidanter fra naturlige kilder [6]. De positive resultatene som ble funnet ut ifra ulike antioksidant tester indikerte klart at *A. leucophloea* hadde nok potensial til å bli videre utviklet til et naturlig antioksidant produkt. Fruktekstrakt fra *A. leucophloea* hadde høyest antioksidant aktivitet etterfulgt av blad- med frøekstrakt til slutt [6].

Sowndhararajan *et al.* 2013 [26] utførte antioksidant studier med fire forskjellige *Acacia* arter inkludert *A. leucophloea*. De brukte både aceton og metanol ekstrakt med barken fra disse fire artene. Bakgrunnen for denne studien var å finne naturlige antioksidanter som potensielt kunne bli videreutviklet til funksjonell mat.

A. leucophloea bark viste seg å inneholde størst andel av både det totale fenoliske forbindelser og flavonoider, og ut ifra de ulike antioksidantestene som ble utført ga forskerne uttrykk for at de var en klar relasjon mellom mengden av disse forbindelsene og de antioksidative egenskapene som de her hadde testet [26]. Generelt viste resultatene at samtlige acetonekstrakt hadde bedre antioksidant effekter sammenlignet med metanolekstraktene. I jernredueringstesten (FRAP) ga *A. leucophloea* størst aktivitet blant plantene. Denne effekten ble målt ut fra 1mmol Fe (II) ekvivalent hvorav den jernreduerende effekten til *A. leucophloea* i denne studien ble bestemt til 2953mmol Fe (II)/g ekstrakt [26].

A. leucophloea demonstrerte også høyest aktivitet ut ifra en annen test som gikk ut på evnen til å chelatere metaller. Det fremgår at metallioner i biologiske systemer kan katalysere Haber-Weiss og Fenton-type reaksjoner med dannelse av hydroksylradikal, men at disse

metallionene kan chelateres med antioksidanter som igjen vil resultere i en undertrykkelse av hydroksylradikal dannelse og dermed hemme peroksidering av biologiske molekyler [26]. Det blir også her nevnt ut ifra tidligere studier om at chelaterende agenser kan anses som sekundære antioksidanter nettopp fordi disse reduserer redokspotensialet ved å stabilisere den oksiderte formen av metallioner. Forskerne skriver også om annen litteratur som har fremhevet at binding av et metallion som jern til flavonoid fører til en undertrykkelse av ionets tilgjengelighet overfor oksygen [26].

Resultatene fra en DPPH-test viste også at *A. leucophloea* hadde størst radikalsøkende effekt blant plantene som ble testet. Det ble også testet for evnen til å oppsøke hydroksylradikaler blant ekstraktene. Hydroksylradikalet er et ekstremt reaktivt fritt radikal som dannes i biologiske systemer og er blitt ansett for å være blant de mest skadelige spesier av radikaler i forbindelse med sykdomsutvikling da de er i stand til å skade nesten ethvert molekyl i levende celler. Hydroksylradikalet er kapabel til å denne brudd i DNA molekyler, noe som igjen kan føre til karsinogenese, mutasjoner og celletoksisitet. Eliminering av dette radikalet er derfor viktig for beskyttelsen av levende systemer [26]. Resultatene fra denne studien viste at *A. leucophloea* hadde størst aktivitet vedrørende evnen til å oppsøke hydroksylradikaler og at denne aktiviteten også var doseavhengig [26].

Under testen med β -karoten blekning ble dert registrert for en lineær sammenheng mellom inhibisjon mot oksidering og antioksidant kapasitet. Det fremgår at oksidasjon av linolsyre frigir linolsyre peroksider i form av frie radikaler som igjen kan oksidere β -karoten, noe som resulterer i nedsatt absorbansverdi og dermed kan detekteres i form av tap i fargeintensitet [26]. Forskerne nevnte for at en motvirkende effekt av fargetap trolig skyldtes tilstedeværelse av antioksidanter som virket på frie radikaler som ble dannet i det testede systemet [26].

3.4.3 Hypoglykemisk aktivitet

Vadivel *et al.* 2011 [24] undersøkte inhibitoriske effekter over både α -amylase og α -glukosidase med frø fra ti forskjellige planter, inkludert *A. leucophloea*. Hensikten var å finne ut om disse frøene kunne inneholde gunstige effekter som ernæringsmidler overfor mennesker med diabetes type II. Ulike metanolekstrakt med de forskjellige frøene ble fremstilt og akarbose ble brukt som standard [24].

Resultatene viste at ekstraktene hadde lave inhibitoriske effekter overfor α -amylase. Det fremgår at den lave inhibisjonen var en ønsket egenskap nettopp fordi lav inhibisjon mot α -amylase har ut ifra tidligere studier med frukter og grønnsaker vært rapportert for å være uten bivirkninger [24]. Forskerne mente at frøekstrakt fra *A. leucophloea* og de øvrige plante kan være ønsket enten i behandling eller til forebygging av diabetes type II [24]. Det fremgår at α -amylase katalyserer hydrolyseringen av glykosidbindingene i stivelse som igjen frigjør hydrolyserte produkter og at disse produktene utgjør det første steget i den enzymatiske degraderingen av stivelse [24]. Videre ble det også nevnt for at inhibitorer av α -amylase utøver sine effekter ved å blokkere stivelse. Disse kan binde seg til det aktive setet i α -amylase enzymet og dermed endre dets katalytiske effekter som igjen kan ha en gunstig betydning for kontroll av blodsukkeret [24].

Forskerne undersøkte også inhibitoriske egenskaper i frøekstraktene over enzymet α -glukosidase og fant ut at disse ga høyere inhibitoriske verdier sammenlignet med inhibisjon overfor α -amylase [24], og forskerne mente at frøekstraktene kunne bli utviklet til matprodukter som supplement til personer med diabetes type II [24]. Det ble nevnt for at inhibitorer av α -glukosidase kan forsinke absorpsjonshastigheten av glukose over tynntarmen ved både kompetativt og reveribelt inhibisjon [24].

Gautam *et al.* 2012 [19] testet *in vitro* for inhibitoriske effekter med ulike plantearter inkludert *A. leucophloea* overfor type II diabetes relaterte enzymer, herunder α -amylase og α -glukosidase og fant ut at *A. leucophloea* hadde kun inhibitorisk aktivitet overfor det førstnevnte enzymet selv om denne aktiviteten ikke var høyest blant de testede plantene. Det var en variasjon mellom 28-40% mellom de forskjellige ekstraktene.

3.4.4 Kardiovaskulær aktivitet

Imran *et al.* 2012 [27] undersøkte effekter mot blodplateaggregering overfor humane blodplater med metanolekstrakt fra barken tilhørende *A. leucophloea*. Det fremgår at blodplater er cellefragmenter som motvirker eksessivt blødning ved å danne plugg sammen med andre konstituenten som finnes i blod på stedet der blodårer er blitt skadet. Under denne prosessen blir blodplatene klebrige og kommer sammen omkring stedet der skaden har skjedd. Denne prosessen er en normal respons og utgjør en beskyttelsesmekanisme for at en

person ikke skal blø ustanselig [27]. Resultatene viste at metanolekstrakt med bark fra *A. leucophloea* hemmet blodplateaggregering overfor adenosin 5' difosfat (ADP)-indusert plateaggregering og at denne aktiviteten var konsentrasjonsavhengig ved doser mellom 0.3-3 mg/ml. Forskerne mente at metanol råekstrakt med bark fra *A. leucophloea* kan være en kandidat for isolasjon av naturlige forbindelser til behandling mot blodplateaggregering i forbindelse med kardiovaskulære sykdommer [27].

3.4.5 Leverbeskyttende aktivitet

Sowndhararajan *et al.* 2013 [28] undersøkte hvorvidt acetonekstrakt med barken fra tre *Acacia* arter inneholdt leverbeskyttende effekter overfor hydrogenperoksid induserte HepG2 humane celler hvorav *A. leucophloea* utgjorde en av de testede planteartene. Hensikten bak denne studien var å avgjøre om acetonekstraktet med bark fra disse plantene kunne påvirke genekspresjonen av enzymatiske antioksidanter som superoksid dismutase inneholdende kobber, zink og mangan hhv CuZnSOD og MnSOD, glutation peroksidase (GPx) og katalase (CAT) [28]. Disse forbindelsene blir ansett for å være en del av førstelinje forsvaret i antioksidantsystemet mot ROS mediert oksidativt stress [28]. Overlevelsen av HepG2 celler ble evaluert ved bruk av MTT (3-(4,5-Dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid)-assay. Bakgrunnen er at MTT blir redusert av mitokondriell dehydrogenase for å bli omdannet til formazan, en uløselig forbindelse som har lilla farge. For å bestemme overlevelsen av HepG2 celler ble disse inkubert sammen med ulike konsentrasjoner med barkekstrakt fra samtlige planter i 24 timer hvorav forskerne etterpå fant ut at acetonekstraktet hadde en inhibisjon på HepG2 cellevekst med IC₅₀ verdi større enn 100µg/ml [28]. Ytterligere ble det heller ikke påvist noen toksisitet overfor HepG2 cellene med konsentrasjoner på til 60µg/ml.

Resultatene viste at testgruppene som kun ble behandlet med hydrogenperoksid hadde fått signifikant reduksjon i gennuttrykk av disse enzymene sammenlignet med kontrollgruppen med en prosentvis nedgang på 54.7%, 49.3%, 43.3% og 53.3% for hhv CuZnSOD, MnSOD, CAT og GPx [28]. Derimot hadde gruppene som var forbehandlet med ekstrakt med ulike konsentrasjoner ved hhv 25, 50 og 75 µg/ml oppnådd en effektiv beskyttelse samtidig som disse gruppene demonstrerte en konsentrasjonsavhengig oppregulering av enzymatiske antioksidanter [28]. Ved konsentrasjonen 75 µg/ml barkekstrakt hadde de endogene

antioksidantene blitt oppregulert med 86.0-91.3%, 75.0-88.7%, 68.3-72.0% og 71.3-74.3% for hhv CuZnSOD, MnSOD, CAT, GPx [28]. Det ble nevnt ut ifra tidligere studier at bioaktive stoffer fra planter kan utøve antioksidant aktivitet enten direkte via nøytralisering av ROS eller indirekte via oppregulering av endogene antioksidanter og det fremgår også at tidligere studier har foreslått at dyreceller bruker antioksidant egenskaper fra planteekstrakt for å frigjøre intracellulære antioksidant enzymer [28]. Forskerne mente at den økte aktiviteten i genekspressjon av antioksidant enzymer som følge av behandling med ekstrakt kunne ha vært forårsaket av tilstedeværelsen av bioaktive metabolitter og deres antioksidant potensial. De konkluderte med at barkekstrakt med *Acacia* arter inkludert *A. leucophloea* muligens har beskyttende egenskaper mot stress-medierte sykdommer, men at det er nødvendig med flere studier [28].

3.4.6 Nevrobeskyttende aktivitet

Sulaiman *et al.* 2013 [25] utførte en studie med etanolekstrakt fra tre *Acacia* arter inkludert *A. leucophloea* for å undersøke hvorvidt noen av disse hadde inhibitoriske egenskaper overfor acetylkolinesterase og oksidativt stress i forhold til Alzheimers sykdom. Det fremgår at acetylkolin er en viktig signalsubstans som i synapser blir hydrolysert av acetylkolinesterase til å danne produktene acetyl og kolin og videre at legemidler som i dag brukes mot Alzheimers virker hovedsakelig via inhibisjon av acetylkolinesterase [25]. Resultatene viste at samtlige planter hadde noe inhibitorisk effekt overfor acetylkolinesterase, men at *A. leucophloea* generelt var blant de mindre potente inhibitorene [25]. Til tross for dette mente forskerne avslutningsvis at alle tre testede plantene kan ha en plass i behandlingen mot Alzheimers fordi alle ekstraktene hadde anti acetylkolinesterase aktivitet [25].

3.4.7 Antiastmatisk aktivitet

Imran *et al.* 2011 [5] utførte *in vitro* undersøkelser for antiastmatiske effekter med metanolekstrakt fremstilt fra barken tilhørende *A. leucophloea*. Den spasmolytiske aktiviteten ble testet overfor tyntarmsprøver isolert fra hhv kanin og marsvin. Her ville de undersøke om den underliggende virkningsmekanismen var mediert via kalsiumkanal blokade. Det

fremgår at høye konsentrasjoner av kaliumioner K^+ ($>30\text{mM}$) er kjent for å skape sammentrekning av glattmuskulatur gjennom åpning av spenningsavhengige L-type Ca^{2+} kanaler som fører til innfluks av ekstracellulær Ca^{2+} ioner med etterfølgende muskelkontraksjon. En substans som fremprovoserer inhibisjon av K^+ induisert kontraksjon blir ansett for å være en Ca^{2+} kanaler blokker [5]. For å teste om hvorvidt denne aktiviteten var et resultat av kalsiumkanal blokade ble det tilført en 80mM K^+ løsning til testbadet og forskerne brukte nifedipin og dicyklomin som positive kontroller [5].

Resultatene viste at metanol råekstrakt av bark fra *A. leucophloea* ga en konsentrasjonsavhengig relaksering av spontane kontraksjoner fra $0.1\text{-}3\text{mg/ml}$ ekstrakt. Det ble også vist at nifedipin, en kalsiumkanal blokker, potenserte den relakserende effekten av barkekstraktet og forskerne mente at barkekstraktet inneholdt substanser som blokkerte Ca^{2+} kanaler. Det ble nevnt at det var en synergistisk effekt mellom nifedipin og *A. leucophloea* på bakgrunn av at den totale muskelrelakseringen ikke kunne ha blitt gjort av barkekstrakt alene [5]. Det ble også nevnt at blokkering av Ca^{2+} kanaler ville ha resultert i redusert influks av Ca^{2+} ioner inn til det sarkoplasmatiske retikkelet som igjen ville ført til en redusert konsentrasjon av Ca^{2+} ioner i cytosol, noe som igjen ville ha ført til en redusert binding mellom kalsium og proteinet calmodulin. Kalsium-calmodulin komplekset aktiverer myosin lett-kjede kinase. Fosforylering av dette komplekset fører til interaksjon mellom aktin og myosin som igjen resulterer i muskelsammentrekning av glatt muskulatur. Inhibisjon av kalsium vil føre til brudd i denne kaskaden [5]. Lignende resultater ble også observert for dicyklomin, men her var effekten mindre potent sammenlignet med nifedipin [5]. Det ble avslutningsvis foreslått at den antispasmodiske aktiviteten som ble observert kunne ha vært mediert både via blokkering av acetylkolin reseptorer og Ca^{2+} kanaler [5].

3.4.8 Antidiaré effekter

Imran *et al.* [5] 2011 utførte *in vivo* undersøkelser med mus for å studere hvorvidt barkekstrakt med *A. leucophloea* inneholdt substanser som kunne motvirke diaré. Loperamid og dicyklomin var standardlegemidlene i dette forsøket og barkekstraktet ble testet ved hhv konsentrasjonene 100 , 300 og 500mg/kg en time før diaré ble induisert med lakserolje 10ml/kg [5]. Resultatene viste at barkekstrakt med *A. leucophloea* ga en doseavhengig beskyttelse ved doser mellom $100\text{-}500\text{mg/kg}$, overfor lakserolje-indusert diaré. Dette ble sett

ut ifra en reduksjon av det totale antallet avføringer. Det ble foreslått at barkekstraktet stimulerte reabsorpsjonen av vann fra tarmen, hvilket førte til en normalisering av vanntransport langs de slimproduserende cellene i tarmen. Forskerne mente at barkestrakt inneholdt stoffer som hemmet tarmbevegelsen [5].

3.5 Toksikologiske studier

På grunn av lite informasjon vedrørende toksisitet er dette beskrevet sammen med aktuelle studier hvor dette blir omtalt.

3.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet.

3.7 Konklusjon

Det er tilsynelatende blitt gjort mange studier med *A. leucophloea*, men de fleste av disse var antioksidantstudier. Resultatene fra disse studiene var riktignok entydig i den forstand at *A. leucophloea* demonstrerte en antioksidant aktivitet ut ifra samtlige studier, men at disse resultatene blir noe sprikende når aktiviteten blir sammenlignet med andre planter som ble testet samtidig. Jeg fant ingen studier som kunne bekrefte den burmesiske påstanden om at *A. leucophloea* har astringerende effekter og kan dermed ikke validere den tradisjonelle bruke. Her er det behov for flere vitenskapelige studier for at vi skal kunne si noe konkret.

3.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/ild-32523>. 2015.05.12.
2. Encyclopedia of Life.
URL:<http://www.eol.org/pages/643763/details>. 2015.05.12.
3. Flora of the Nilgiris.
URL:<http://opendata.keystone-foundation.org/acacia-leucophloea-roxb-willd>
2015.05.12.
4. Dabur, R., Gupta, A., Mandal, T.K., Singh, D.D., Bajpai, V., Gurav, A.M., Lavekar, G.S.: Antimicrobial activity of some Indian medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **4**(3), (2008), 313-318.
5. Imran, I., Hussain, L., Zia-Ul-Haq, M., Janbaz, KH., Gilani, A.H., De, F.V.: Gastrointestinal and respiratory activities of *Acacia leucophloea*. *Journal of Ethnopharmacology*, **138**(3), (2011), 676-82.
6. Zia-Ul-Haq, M., Cavar, S., Qayum, S., Khan, I., Ahmad, S.: Chemical composition and antioxidant potential of *Acacia leucophloea* Roxb. *Acta Botanica Croatica*, **72**(1), (2013), 133-144.
7. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
8. Ahmed, S., Lin, H-C., Nizam, I., Khan, N.A., Lee, S-S., Khan, N.U.: A trimeric proanthocyanidin from the bark of *Acacia leucophloea* willd. *Records of Natural Products*, **8**(3), (2014), 294-298.
9. Leela, V., Saraswathy, A.: Quantification of pharmacologically active markers gallic acid, quercetin and lupeol from *Acacia leucophloea* willd flowers by HPTLC method. *International Research Journal of Pharmacy*, **4**(2), (2013), 146-150.
10. Saxena, M., Srivastava, S.K.: Anthraquinones from the roots of *Acacia leucophloea*. *Journal of Natural Products*, **49**(2), (1986), 205-9.
11. Mukerjee, S.K., Murty, V.V.S.: Chemical investigation of the flowers of *Acacia leucophloea*. *Journal of Scientific & Industrial Research*, **11B**, (1952), 125-6.
12. Rao, S.S.R., Rao, K.V.N.: Fungitoxic activity of proanthocyanidins. *Indian Journal of Plant Physiology*, **29**(3), (1986), 278-80.
13. Mishra, M., Srivastava, S.K.: Betulinic acid-3-O- β -D-maltoside from *Acacia leucophloea* Wild. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **47**(4), (1985), 154-5.

-
14. Perales, A., Martinez-Ripoll, M., Fayos, J., Bansal, R.K., Joshi, K.C., Patni, R., Rodriguez, Benjamin.: Leucoxol, a new diterpenoid from *Acacia leucophloea*. X-ray structure determination. *Tetrahedron Letters*, **21**(29), (1980), 2843-4.
 15. Bansal, R.K., Garcia-Alvarez, M.C., Joshi, K.C., Rodriguwz, Benjamin., Patni, R.: Diterpenoids from *Acacia leucophloea*. *Phytochemistry*, **19**(9), (1980), 1979-83.
 16. del Carmen, A.R.M., Cano, F.H., Rodriguez, B.: Diterpenoids from *Acacia leucophloea*: revision of the structures of leucophleol and leucophleoxol. *Journal of Natural Products*, **64**(7), (2001), 899-902.
 17. Joshi, K.C., Sharma, M.T.: Chemical constituents of the roots of *Dichrostochys cinerea* Macb. and the stem bark and heartwood of *Acacia leucophloea* Willd. *Journal of the Indian Chemical Society*, **54**(6), (1977), 649-50.
 18. Misar, A., Mujumdar, A.M., Ruikar, A., Deshpande, N.R.: Quantification of β -sitosterol from barks of 3 *Acacia* species by HPTLC. *Journal of Pharmacy Research*, **3**(11), (2010), 2595-2596.
 19. Gautam, B., Vadivel, V., Stuetz, W., Biesalski, H.K.: Bioactive compounds extracted from Indian wild legume seeds: antioxidant and type II diabetes-related enzyme inhibition properties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **63**(2), (2012), 242-245.
 20. Bhadoria, B.K., Gupta, R.K., Pachauri, V.C.: Amino acid and fatty acid compositions of seed kernels of *Acacia leucophloea*. *Journal of the Indian Chemical Society*, **79**(1), (2002), 88-89.
 21. Khan, R., Srivastava, R., Ali Khan, M., Alam, Pravej., Abdin, M.Z.M.: Variation in oil content and fatty acid composition of the seed oil of *Acacia* species collected from the northwest zone of India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **92**(11), (2012), 2310-2315.
 22. Soni, S.K., Bose, S.: Structure of new galactomannan from seeds of *Acacia leucophloea* Willd. *Indian Journal of Chemistry -Section B*, **25B**(2), (1986), 123-6.
 23. Bhadoria, B.K., Gupta, R.K.: A note on hydrocyanic acid content in *Acacia leucophloea* Roxb. Willd. *Current Science*, **50**(15), (1981), 689-90.
 24. Vadivel, V., Stuetz, W., Scherbaum, V., Biesalski, H.K.: Total free phenolic content and health relevant functionality of Indian wild legume grains: Effect of indigenous processing methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, **24**(7), (2011), 935-943.

-
25. Sulaiman, C.T., Sadashiva, CT., George, Satheesh., Goplakrishnan, V.K., Balachandran, I.: Chromatographic Studies and in vitro Screening for Acetyl Cholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of three Acacia Species from South India. *Analytical Chemistry Letters*, **3**(2), (2013), 111-118.
 26. Sowndhararajan, K., Hong, S., Jhoo, J-W., Kim, S., Chin, N.L.: Effect of acetone extract from stem bark of Acacia species (A. dealbata, A. ferruginea and A. leucophloea) on antioxidant enzymes status in hydrogen peroxide-induced HepG2 cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, (2013), Ahead of Print.
 27. Imran, I., Hussain, L., Ahmed, S., Rasool, N., Rasool, S., Abbas, G., Ali, M.Y.: Antiplatelet activity of methanolic extract of Acacia leucophloea bark. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(25), (2013), 4185-4192.
 28. Sowndhararajan, K., Joseph, J.M., Manian, S.: Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Indian Acacias: Acacia Leucophloea (Roxb.) Willd., Acacia Ferruginea Dc., Acacia Dealbata Link. and Acacia Pennata (L.) Willd. *International Journal of Food Properties*, **16**(8), (2013) 1717-1729.

4 *Callicarpa macrophylla* Vahl.

4.1 Beskrivelse

Callicarpa macrophylla Vahl. er ifølge The Plantlist det aksepterte navnet på en planteart fra slekten *Callicarpa* og som tilhører plantefamilien *Lamiaceae* [1]. *C. macrophylla* er en rettstående busk som globalt er fordelt utover India, Nepal, Bhutan, Myanmar, Sør-Øst Asia og Kina. I noen områder i India har planten vært funnet i høyder på 1800 meter. Stammen er treaktig, sylindrisk og vokser seg vanligvis til å bli mellom 30-120 cm med en diameter på omtrent mellom 5-15 mm. Stammens overflate er brunaktig og grønn og tildekket med ullaktige hår. Stammen avgir en svakt lukt og har en bitter smak [2]. Bladene er mellom 12,55-23 cm lange. De er eggformede eller en mellomting mellom egg- og lansettformede og trekantet eller avrundet ved basen. Bladoverflaten er rynkete, men disse blir utglattet etter hvert som bladene modnes. Undersiden er dekket med hårlignende strukturer. Bladstilken vokser til mellom 6-13 cm lange. Blomstring skjer mellom august og november og planten bærer frukt mellom oktober og desember månedene [3].



Figur 8 viser et bilde av *C. macrophylla* [4].

4.2 Tradisjonell bruk

C. macrophylla er blitt nevnt i aryuvediske og andre folkemedisinske tekster til behandling av forskjellige lidelser heriblant kreft, polydipsi, diaré, diabetes, dysenteri, feber og rensning av blod [2]. Blader fra i *C. macrophylla* har vært rapportert å ha hatt en medisinsk anvendelse overfor gikt og andre revmatiske lidelser. Avkok av blader har vært brukt i behandlingen mot diaré, dysenteri og for å stoppe blødning. Juice fremstilt med *C. macrophylla* blader har vært brukt overfor gastriske plager, hodepine og å stoppe blødning [3]. Tu *et al.* 2013 [5] skrev en review som omhandlet forskjellige *Callicarpa* arter og bruken av disse i forhold til den tradisjonelle bruken i Kina, hvorav det fremgår at *C. macrophylla* blir sammen med andre plantearter brukt til behandling av gastrointestinal blødning, revmatisme og blødning i livmor. I Burma blir det hevdet at olje fra roten tilhørende *C. macrophylla* kan brukes for å opprettholde eller styrke magefunksjonen [6].

4.3 Kjemiske substanser

<i>Callicarpa macrophylla</i> Vahl.						
	plantedel					
stoffgruppe/ kjemisk substans	overjordisk	frukt	stilk	blad	hele plante	referanse
flavonoider			x			[2]
CMF1 (isorhamnetin 3,7-dimeyleter)				x		[7]
luteolin				x		[3]
apigenin				x		[3]
apigenin-7-O-diglukuronid					x	[8]
tanniner			x			[2]

terpenoider						
ursolsyre						[3]
16 α ,17-isopropylideno-3-oxo- phyllocladan				x		[3, 9]
3 β ,16 α ,17-trihydroksy- phyllocladan						[3]
calliterpenon	x					[3, 10]
calliterpenon monoacetat	x					[3, 10]
betulinsyre						[11, 12]
α -amyrin					x	[11]
ursolsyre					x	[11]
2 α , 3 α , 19 α -trihydroksy-12-en- 28-ursolsyre					x	[11]
α -selinen		x		x		[13]
β -selinen		x		x		[13]
glykosider			x			[2]
dekaffeoylakteosid					x	[8]
cistanosid F					x	[8]
forsytosid B						
β -OH-forsytosid B					x	[8]
campneosid I					x	[8]
campneosid II					x	[8]
2'-acetyl-campneosid II					x	[8]
isocampneosid I					x	[8]
acteoside					x	[8]
2'-acetyllakteosid					x	[8]
isoacteosid					x	[8]
eukovosid					x	[8]
martinosid					x	[8]

karbohydrater			x			[2]
steroider			x			[2]
β -sitosterol		x				[11, 14]
stigmasterol		x				[14]
oleanolsyre		x				[14]
β -sitosterol-3-O- β -D-glukosid		x				[11, 14]
daucoosterol						[11]
fettsyrer						
linolsyre		x				[14]
stearinsyre		x				[14]
myristinsyre		x				[14]
oktacosan syre		x				[14]
Andre organiske forbindelser						
sitronsyre					x	[8]
kannelsyre					x	[8]
L(+)- α -amino- β -(p-metoksyfenyl)-propionsyre				x		[15]

Chatterjee *et al.* 1972 [10] isolerte to nye tetrasykliske diterpenoider om var hhv calliterpenon og calliterpenon monoacetat fra overjordiske deler av *C. macrophylla*.

Chaudhury *et al.* 1978 [7] isolerte fra bladene til *C. macrophylla* et flavon som ble kalt for CMF 1.

Zhang *et al.* 1985 [15] identifiserte for aminosyren L(+)- α -amino- β -(p-metoksyfenyl)-propionsyre fra bladene til *C. macrophylla*.

Chung *et al.* 2006 [14] isolerte fire fettsyrer fra frukten tilhørende *C. macrophylla*. Disse var hhv linolsyre, stearinsyre, myristinsyre og oktacosan syre. I tillegg til disse fettsyrene isolerte de også fire steroider hvilket var hhv β -sitosterol, stigmasterol, oleanolsyre og β -sitosterol-3-O- β -D-glukosid.

Pan *et al.* 2006 [11] undersøkte for kjemiske forbindelser i *C. macrophylla* og isolerte seks forbindelser som var hhv α -amyrin, ursolsyre, 2 α , 3 α , 19 α -trihydrokso-12-en-28-ursolsyre, betulinsyre, β -sitosterol og daucosterol. Den første og tredje oppførte forbindelsen ble for første gang isolert fra denne planten.

Pan *et al.* 2007 [16] identifiserte euscaphic syre fra *C. macrophylla*. Dette forskningsteamet identifiserte året etter også for betulinsyre fra samme plante under en annen studie [12].

Singh *et al.* 2010 [13] sammenlignet sammensetningen av flyktige forbindelser i oljer hentet fra frukt og blader fra *C. macrophylla*. Oljene var rike på selenen derivater.

Verma *et al.* 2012 [9] isolerte et nytt kauran-diterpen kalt 16 α -hydrokso-17-isopropylidino-3-okso-phyllocladan fra blader tilhørende *C. macrophylla* ved bruk av kloroformekstrakt.

Shi *et al.* [8] 2013 utførte en planteanalytisk screening med rå plantemateriale fra tre *Callicarpa* arter inkludert *C. macrophylla*. I denne studien identifiserte de for 33 forbindelser hvorav 23 av disse var rapportert fra disse plantene for første gang. De kjemiske forbindelsene som fantes i *C. macrophylla* er angitt i tabellen.

4.4 Biologisk aktivitet

4.4.1 Antimikrobiell aktivitet

Yadav *et al.* 2012 [17] utførte en studie med ekstrakt fremstilt med stammen fra *C. macrophylla* hvor hensikten var å evaluere om hvorvidt plantematerialet fra stammen hadde antibakterielle effekter. Til dette formålet ble det fremstilt to ekstrakter hhv etanol og vann. Gram positive bakterier som var tatt med i denne studien var hhv bakteriestammer fra

Streptococcus pyogenes, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium sporogenes*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* og *Bacillus subtilis*. Blant de Gram negative bakteriene hadde forskerne brukt bakteriestammer fra hhv *Argobacterium tumifaciens*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcesens*, *Enterobacteria aerogens*, *Proteus vulgaris* og *Escherichia coli* [17]. Den antibakterielle effekten ble testet ved bruk av en agar diffusjonstest hvorav ekstraktene ble testet med konsentrasjoner på hhv 200µl/disk og 400µl/disk. Standardlegemidlet var ciprofloksacin 10µg/disk. Diameter av inhibisjonssonen ble målt i mm [17]. Resultatene viste at etanolekstraktet hadde effekt mot både Gram positive og Gram negative bakteriestammer selv ved en konsentrasjon på 200µg/disk sammenlignet med standardlegemidlet ciprofloksacin. Den største inhibisjonssonen var på 17mm, og ble observert med etanolekstrakt overfor *B. subtilis*. Vannekstrakten var overraskende inaktivt mot alle bakteriestammer unntatt mot *S. typhimurium*. Forskerne mente at vannekstraktet måtte inneholde en unik aktiv substans som virket spesielt kun på *Salmonella*, mens etanolekstraktet hadde et generelt bredt antibakterielt spekter [17]. Den antibakterielle aktiviteten som ble observert ut ifra denne studien ble kun ansett for å være moderat og ikke signifikant [17]

I en annen studie undersøkte Yadav *et al.* 2012 [18] for potensielle antifungale effekter med ekstrakt fremstilt fra stammen tilhørende *C. macrophylla*. Forskerne lagde to ekstrakter hhv etanol og vann. Soppstammene som ble brukt i testen var hhv *Gibberella fujikoroii*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Myrothecium verrucaria*, *Aspergillus niger*, *Neurospora crassa* og *Rhizopus oligosporus*. Disse ble videre testet i en agar diffusjonstest. Standardlegemidlet var flukonazol testet ved 10µg/disk. Planteekstraktene ble testet ved hhv 200µg/disk og 400µg/disk. Det ble funnet at etanolekstraktet ga effekt i mot seks av soppstammene ved begge testede konsentrasjoner. Den største inhibisjonssonen var på 17mm i diameter og det var mot *G. fujikoroii*. Vannekstraktet demonstrerte ingen antifungale effekter [18].

4.4.2 Antioksidant aktivitet

Singh *et al.* 2012 [19] undersøkte *in vitro* for antioksidant egenskaper med ekstrakt fra stammen tilhørende *C. macrophylla*. Forskerne fremstilte tre ulike ekstrakter hhv aceton, etanol og vann. Quercetin, garvesyre og katekin ekvivalenter ble brukt til å måle antioksidant aktiviteten i ekstraktene. Det de fant var at mengden av fenoliske forbindelser, flavonoider og proantocyanidiner varierte sterkt mellom de ulike ekstraktene, men felles var at fraksjonen med fenoliske forbindelser var større enn fraksjonene for flavonoider og proantocyanidiner. Resultatene viste at etanolekstraktet hadde høyest antioksidant aktivitet etterfulgt av acetonekstraktet, mens vannekstraktet ga minst antioksidant aktivitet blant ekstraktene. Korrelasjonen mellom det totale innholdet av fenoliske forbindelser og antioksidant aktiviteter indikerte at det var de fenoliske forbindelsene som hovedsakelig stod bak den antioksidant aktiviteten som ble observert. Forskerne konkluderte med at *C. macrophylla* hadde sterke antioksidant egenskaper, men også fri radikalsøkende aktivitet [19].

Cai *et al.* 2013 [20] studerte korrelasjonen mellom det totale innholdet av fenoliske forbindelser og flavonoider i fem *Callicarpa* arter og deres antioksidant egenskaper. Blant disse var *C. macrophylla* også tatt med i studien og det ble rapportert at det fantes en positiv korrelasjon mellom det totale innholdet av de nevnte forbindelsene og antioksidant aktiviteter selv om det var en variasjon i dette forholdet blant de fem planteartene samt de metodene som ble brukt. Korrelasjonen gjaldt ikke når det kom til lipidperoksidering [20]. Forskerne mente at alle fem *Callicarpa* arter var rike på fenoliske forbindelser og flavonoider og at det dermed fantes et potensial for videreutvikling av disse til nye naturlige antioksidanter [20]

4.4.3 Antiinflammatorisk aktivitet

Yadav *et al.* 2011 [3] undersøkte for antiinflammatoriske effekter med bladekstrakt fra *C. macrophylla*. I denne studien ble det fremstilt to ekstrakter med hhv vann og etanol med blader fra *C. macrophylla* som på forhånd var blitt skyggetørket i 15 dager og deretter redusert til et grovt pulver. Testdyrene i denne undersøkelsen utgjorde albino rotter fra begge kjønn som var delt inn i ti grupper med seks testindivider i hver gruppe. Standardlegemidlet som ble brukt var diklofenak natrium testet med en konsentrasjon på 20mg/ml.

Konsentrasjonene for begge bladekstraktene var hhv 200mg/kg og 400mg/kg. Inflammasjon ble induert via injeksjon med en 1% (w/v) karragenan suspensjon i 0.9% (w/v) natriumkloridløsning i testdyrenes venstre bakpote en time etter at rottene var blitt forbehandlet med bladekstrakt. Karragenan er en inflammatorisk agens som ofte brukes i antiinflammatoriske studier [3]. Det ble nevnt at karragenan induert inflammasjon korresponderer med de fysiologiske hendelsene som inntreffer i den akutte fasen i en betennelsesprosess, mediert av histamin, bradykinin og prostaglandin gjennom en innvirkning på cyklooksxygenase [3]. Begge ekstraktene samt standardlegemidlet ble administrert peroralt. Endringer i volum av potene til dyrene ble målt hhv 60, 120, 180 og 240 minutter etter tidspunktet for injeksjonen [3]. Resultatene viste at begge ekstraktene med både etanol og vann demonstrerte signifikante antiinflammatoriske effekter ved begge konsentrasjonene som ble testet, sammenlignet med standarden diklofenak, men at etanol bladekstrakt hadde en sterkere antiinflammatorisk profil enn vannekstraktet.

Det fremgår også fra denne studien at foregående screening av både etanol- og vannekstrakt avslørte innholdet av kjemiske forbindelser som karbohydrater, steroider, flavonoider og tanniner og ut ifra dette ble det foreslått at den antiinflammatoriske effekten kunne ha vært fremmet på bakgrunn av et eller flere av disse stoffgruppene samtidig. Det ble avslutningsvis nevnt at disse stoffene kunne muligens kunne ha en inhibitorisk aktivitet overfor histamin, bradykinin og prostaglandinsyntesen og forskerne mente at etanolekstraktet kunne bli et alternativ ved behandling av inflammasjon [3].

Yadav *et al.* 2012 [21] undersøkte også for antiinflammatorisk aktivitet med rotekstrakt fra *C. macrophylla* etter samme metode som beskrevet ovenfor. Resultatene viste at både vann- og etanolekstrakt ved begge testede konsentrasjoner hhv 200mg/kg og 400mg/kg ga signifikant antiinflammatorisk effekt under akutfasen av inflammasjonsprosessen sammenlignet med standarden diklofenak. Den antiinflammatoriske aktiviteten som ble observert ut etanol rotekstrakt ble derimot karakterisert som overlegent i sammenlignet med aktiviteten fra vannekstraktet [21].

Yu *et al.* 2013 [22] gjennomførte en optimalisering av en ekstraksjonsmetode for totalt flavonoid innhold i *C. macrophylla* (TFCM). Ekstraktet ble så testet for antiinflammatoriske, analgetiske og hemostatiske egenskaper ved bruk av xylen-indusert øreødem, eddiksyre induert smerte og glass kapillarrør i mus. Resultatene viste at det var en doseavhengig

respons mellom biologisk aktivitet og TFCM. Konsentrasjoner på hhv 200mg/kg og 400mg/kg ga signifikant antiinflammatoriske aktivitet [22].

4.4.4 Antinociceptiv aktivitet

Yadav *et al.* 2012 [21] undersøkte også for smertestillende effekter med rotekstrakt fremstilt fra *C. macrophylla*. Til denne testen ble det fremstilt to ekstrakter med hhv etanol og vann. Ekstraktene ble videre testet med konsentrasjoner på hhv 200mg/kg og 400mg/kg. Standardlegemidlet var pentazocin gitt med en konsentrasjon på 30mg/mg. Testdyrene som ble brukt var albino rotter som ble inndelt i seks grupper. Den ytterste delen av halen ble nedsenket i varmt vann med en vedlikeholdt temperatur på 55 ± 0.5 °C. Reaksjonstiden ble bestemt til å være den tiden det tok for rottene til å trekke opp halen fra vannbadet og denne tiden ble målt ved hhv 0, 15, 30, 45 og 60 minutter etter behandling med rotekstrakt. Resultatene viste en doseavhengig og signifikant aktivitet fra begge ekstraktene selv om vannekstraktet hadde en bedre smertestillende effekt sammenlignet med etanolekstraktet. Det ble foreslått at tilstedeværelse av flavonoider i ekstraktene kunne være en mulig forklaring på den aktivitet som ble observert [21].

Det poengteres at denne studien inneholdt noen uoverensstemmelser. Det fremgår av tittelen at det var roten fra *C. macrophylla* som var det testede plantematerialet, men under avsnittet om autentifisering av plantematerial var det bladene som ble innhentet og deretter pulverisert etter tørk. Videre under avsnittet med resultater fremgår det at den signifikante smertestillende effekten som ble observert fra etanol- og vannekstraktet var fremstilt med både blad og rot tilhørende *C. macrophylla* [21].

Yadav *et al.* [23] 2012 utførte også samme studie med bladekstrakt fra *C. macrophylla* for å se om hvorvidt bladene fra denne planten hadde smertestillende aktivitet. Metoden forskerne brukte her var også varmebad og prosedyren er identisk med det som allerede er beskrevet ovenfor om rotekstrakt fra *C. macrophylla* [21]. Det de fant var at både vann- og etanolekstrakt ga en signifikant smertestillende effekt, men at effekten var doseavhengig. Vannekstraktet gitt ved 400mg/kg ga bedre smertestillende effekter etter 60 minutter sammenlignet med standarden pentazocin og også her var det flavonoidene som ble foreslått for å utøve den biologiske aktiviteten. [23].

Yu *et al.* [22] 2013 rapporterte også at planteekstrakt med *C. macrophylla* hadde smertestillende effekter.

4.4.5 Antipyretisk aktivitet

Yadav *et al.* 2012 [23] undersøkte også for antipyretiske effekter med bladekstrakt fra *C. macrophylla*. Her ble det benyttet en testmodell med rotter som fikk ølgjærindusert feber via en 15% (w/v) ølgjærsuspensjon som ble administrert med subkutan injeksjon i dyrenes nakke. Den rektale temperaturen ble målt 18 timer før og etter tidspunktet for injeksjonen og den videre temperaturmålingen etter at feber var konstatert ble gjort ved hhv 30, 60, 120, 180 og 240 minutter etter behandling med bladekstrakt gitt ved hhv 200mg/kg og 400mg/kg. Standardlegemidlet som ble brukt var paracetamol gitt med en konsentrasjon på 150mg/kg. Resultatene viste en doseavhengig febernedsettende effekt som inntraff en time etter at bladekstrakt var administrert og at effekten samtidig ble vedlikeholdt i fire timer. Sammenlignet med standarden paracetamol var de observerte effektene fra både etanol- og vannekstraktet ansett som signifikant [23]. Det ble nevnt at ikke-steroide antiinflammatoriske legemidler generelt utøver den antipyretiske effekten gjennom inhibisjon av prostaglandinsyntesen i hypotalamus og ut ifra dette ble det foreslått at bladekstrakt fra *C. macrophylla* medierte den antipyretiske effekten etter samme virkningsmekanisme og videre at kjemiske forbindelser som karbohydrater, steroider, flavonoider og tanniner enten alene sammen stod bak den febernedsettende aktiviteten [23].

4.4.6 Leverbeskyttende aktivitet

Patel *et al.* 2014 [24] undersøkte for leverbeskyttende egenskaper med et 60% alkoholekstrakt fremstilt med overjordisk del fra *C. macrophylla*. I denne studien fikk albino rotter indusert levertoksisitet med både paracetamol 3g/kg kroppsvekt peroralt i 3 dager og karbontetraklorid 2ml/kg kroppsvekt administrert subkutan i 4 dager. Standardlegemidlet som ble brukt var 25mg/kg silymarin gitt peroralt. Konsentrasjonene for planteekstraktet som ble testet var 100mg/kg og 200mg/kg kroppsvekt [24].

I testen med paracetamol induisert leverskade ble rotter fra begge kjønn inndelt i fem grupper med fem testindivider i hver gruppe. Paracetamol ble administrert sammen silymarin og planteekstrakt kun en gang daglig i tre påfølgende dager. Dyrene ble ofret 24 timer etter den siste administrerte dosen hvorav blodprøver ble innsamlet og bearbeidet til serum som ble undersøkt for biokjemiske markører hhv SGPT, SGOT, total og direkte bilirubin [24]. Resultatene viste at alkoholekstrakt med *C. macrophylla* signifikant reduserte verdier av serum leverenzymmer forbundet med leverskader [24]. Det fremgår også at bilirubin er blant de meste brukte biologiske markørene ved evaluering av alvorligheten på en eventuell leverskade hvorav dets binding, konjugering og ekskretorisk kapasitet utgjør viktige parametere for måling av levercellefunksjonen. Det at planteekstrakt med *C. macrophylla* reduserte serum bilirubin etter paracetamol induisert leverskade talte for at ekstraktet var med på å opprettholde normal leverfunksjon [24].

Histologiske undersøkelser av lever etter paracetamol induisert toksisitet viste at den cellulære integriteten av levercellene hadde blitt forringet med uklare strukturer og irregulær form og infiltrert med forsvarsceller. Sammenlignet med gruppene som fikk silymarin og planteekstrakt var de histologiske observasjonene markant annerledes. Her var den cellulære integriteten blitt bevart [24].

Den samme testen ble utført med karbontetraklorid. Forskerne fant lignende resultater slik som beskrevet ovenfor med en forskjell som bestod av at 200mg/kg planteekstrakt ga moderat effekt, mens 100mg/kg planteekstrakt ga en signifikant effekt. Det ble foreslått at flavonoider i planteekstraktet muligens var ansvarlig for den leverbeskyttende aktiviteten fordi karbontetraklorid blir omdannet av cytokrom P-450 systemet til triklorometyl, et fritt radikal som forårsaker leverskade [24]. En annen viktig mekanisme som ble foreslått var at det fantes tilstedeværelse av konstituenten i planteekstraktet som muligens hadde inhibitoriske effekter overfor aromatase aktiviteten av cytokrom P-450, og som dermed favoriserer regenerering av leveren [24].

4.4.7 Hemostatisk aktivitet

Yu *et al.* 2013 [22] rapporterte at planteekstrakt med *C. macrophylla* hadde blodstillende effekter ved at det signifikant reduserte koagulasjonstiden i mus.

4.5 Toksikologiske studier

Barkatullah *et al.* 2015 [25] utførte toksisitetstudier med bark(CBE)- og blad(CLE) ekstrakt fra *C. macrophylla*. For å teste celletoksisiteten ble det benyttet en dødelighetstest overfor levende krepsdyr som i denne studien var reker plassert i tre testrør med forskjellige konsentrasjoner av planteekstrakt som var hhv 10, 100 og 1000µg/ml. Etter 24 timer inkubasjon målte de for dødeligheten og LD₅₀ ble bestemt ut ifra dette. Resultatene viste at metanolekstrakt med bark fra *C. macrophylla* ga en signifikant celletoksisk effekt ved 1000µl hvorav LD₅₀ ble beregnet til 975.22µl/ml, selv om det her ble påpekt at CBE ikke ga toksisitet ved alle konsentrasjoner som ble testet. Ingen signifikant celletoksisk aktivitet ble observert for CLE [25]. Det ble nevnt at kjemiske forbindelser som er celletoksiske har et potensial når det kommer til behandlingen av kreft. I denne studien ble det ikke observert noe signifikant celletoksisk aktivitet, hvilket indikerte at tilstedeværelse av konstituentene i med antikreft potensial utelukkes [25].

Under testen for akutt toksisitet med *C. macrophylla* brukte de en dyremodell med albino mus fra begge kjønn. I dette avsnittet fremgår det at begge ekstraktene ble testet ved hhv 500, 1000 og 2000mg/kg. Her ble det funnet en mulig uoverensstemmelse ved at et av ekstraktene ble referert som fruktekstrakt, mens det i avsnittet med resultatene fremgår det at det var kun CBE og CLE som ble undersøkt [25]. Uansett ble det ikke funnet noen form for akutt toksisitet fra ekstraktene opp mot høyeste testdose. Ingen testdyrene kom til skade under denne testen [25].

Det ble videre i denne studien også testet for fytotoksiske effekter fra *C. macrophylla*. *Lamna minor* utgjorde plantearten som de toksiske effektene ble testet mot. CBE og CLE ble testet ved hhv 10, 100 og 1000µg/ml. Resultatene viste at CLE ga signifikant inhibisjon av *L. minor* ved 1000µl hvilket ga en FI₅₀ verdi på 464.55µl/ml. Ingen signifikant effekt ble oppdaget med CBE [25]. Forskerne konkluderte med at *C. macrophylla* generelt har en meget lav toksisitetsprofil med en absolutt og sikker anvendelighet ut ifra både *in vitro* og *in vivo* modeller [25].

4.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet.

4.7 Tilleggsinformasjon

Det var overraskende få studier med *C. macrophylla* forhold til det antallet treff som ble funnet ved søk i SciFinder. Flesteparten av disse var patenter som inneholdt *C. macrophylla*, innlemmet i ulike formuleringer sammen med en rekke andre plantearter. Ingen av disse patentene omhandlet *C. macrophylla* alene. Jeg har dermed valgt å ikke ta med disse patentene i beskrivelsen da patenter ikke er helt det samme som vitenskapelige studier samtidig som medisinske formuleringer som består av mange planter ikke egner seg til å si noe konkret vedrørende den biologiske aktiviteten til *C. macrophylla* alene.

4.8 Konklusjon

Det fantes relativt få vitenskapelige studier med *C. macrophylla*. De fleste som er blitt gjort ser ut til å være relatert i biologiske effekter i forhold til betennelse hvilket korresponderer med det faktum at denne planten har en tradisjonell medisinsk anvendelse ved revmatiske lidelser. Jeg kunne ikke finne noen studier som underbygger den burmesiske påstanden om at *C. macrophylla* har biologisk aktivitet mot gastriske plager og kan derfor ikke validere den tradisjonelle bruken. Det kan tenkes at tilstander som magesår og magesmerter på logisk vis er forbundet med betennelse, og at *C. macrophylla* dermed kan ha en medisinsk anvendelse på dette området. Uavhengig trengs det flere konkrete vitenskapelige studier for at vi skal kunne bekrefte den burmesiske påstanden.

4.9 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-30869>. 2015.05.12.
2. Kumar, Y.V., Swaha, S., Arjun, P.: Pharmacognostical studies of *Callicarpa macrophylla* Vahl. stem. *International Journal of Phytotherapy Research*, **2**(1), (2012), 35-41.
3. Yadav, V., Jayalakshmi, S., Siingla, R.K., Patra, A.: Preliminary assessment of anti-inflammatory activity of *Callicarpa macrophylla* Vahl. leaves extracts. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1**(3), (2011), 219-222.
4. Plants For A Future.
URL:<http://www.pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Callicarpa+macrophylla>.
2015.05.12.
5. Tu, Y., Sun, Lianna., Guo, M., Chen, W.: The medicinal uses of *Callicarpa* L. in traditional Chinese medicine: An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, **146**(2), (2013), 465-481.
6. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155.185.
7. Chaudhury, A., Bhattacharyya, A., Mitra, S.R., Adityachaudhuri, N.: Phytochemical investigation of the leaves of *Callicarpa macrophylla* Vahl. *Journal of the Indian Chemical Society*, **55**(6), (1978), 628-9.
8. Shi, Y., Wu, C., Chen, Y., Liu, W., Feng, F., Xie, N.: Comparative analysis of three *Callicarpa* herbs using high performance liquid chromatography with diode array detector and electrospray ionization-trap mass spectrometry method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **75**, (2013), 239-247.
9. Verma, V.K., Siddiqui, N.U., Aslam, M.: A new kaurane diterpene from the leaves of *Callicarpa macrophylla* Vahl. *Biomedical and Pharmacology Journal*, **5**(1), (2012), 189-191.
10. Chatterjee, A., Desmukh, S.K., Chandrasekharan, S.: Diterpenoid constituents of *Callicarpa macrophylla* vahl: The sturctures and stereochemistry of calliterpenone and calliterpenone monoacetate. *Tetrahedron Letters*, **28**(16), (1972), 4319-4323.
11. Pan, P., Sun, Q.: Chemical constituents of *Callicarpa macrophylla* vahl. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao*, **23**(9), (2006), 565-567.

-
12. Pan, P., Jia, L., Sun, Q.: RP-HPLC determination of betulinic acid in *Callicarpa macrophylla*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **33**(7), (2008), 753-755.
 13. Singh, A.K., Chanotiya, C.S., Yadav, A., Kalra, Alok.: Volatiles of *Callicarpa macrophylla*: a rich source of selinene isomers. *Natural Product Communications*, **5**(2), (2010), 269-272.
 14. Chung, I-M., Upadhyaya, K., Ahmad, A.: Isolation of fatty acids and other constituents from *Callicarpa macrophylla* fruits. *Asian Journal of Chemistry*, **18**(3), (2006), 1751-1758.
 15. Zhang, R., Wu, H., Lin, Y., Li, Q.: Chemical constituents of *Callicarpa*. *Zhongcaoyao*, **16**(12), (1985), 556.
 16. Pan, P., Jia, L., Sun, Q.: RP-HPLC determination of euscaphic acid in *Callicarpa macrophylla* Vahl. *Yaowu Fenxi Zazhi*, **27**(6), (2007), 841-843.
 17. Yadav, V., Jayalakshmi, S., Singla, R., Patra, A.: Evaluation of antibacterial activity of *Callicarpa macrophylla* Vahl. stem extracts. *WebmedCentral Ayurvedic Medicine*, **3**(8), (2012).
 18. Yadav, V., Jayalakshmi, S., Singla, R.K., Patra, A.: Ex vivo screening of stem extracts of *Callicarpa macrophylla* Vahl. for antifungal activity. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2**(2), (2012), 103-107.
 19. Singh, A., Sarathe, A.K., Tiwari, R.L., Sharma, R., Khan, S.P.: Total phenolic content and in-vitro antioxidant property of the stem extracts of *Callicarpa macrophylla*. *International Research Journal of Pharmacy*, **3**(5), (2012), 452-456.
 20. Cai, H., Wu, C-P., Sun, X-M., Peng, G-T., Xie, Z-Y., Liao, Q-F.: Correlation of the contents of total phenols and total flavonoids and antioxidant activities of five *Callicarpa* species. *Zhongguo Shiyang Fangjixue Zazhi*, **19**(20), (2013), 55-60.
 21. Yadav, V., Jayalakshmi, S., Singla, R.K., Patra, A., Khan, S.: Assessment of anti-inflammatory and analgesic activities of *Callicarpa macrophylla* Vahl. roots extracts. *WebmedCentral Pharmacology*, **3**(5), 2012.
 22. Yu, X., Xu, S-Q., Ma, D-Q., Hu, Xia-M.: Optimization of extraction technology and investigation of anti-inflammatory, antalgic and hemostatic activities of total flavonoids from *Callicarpa macrophylla*. *Zhongguo Shiyang Fangjixue Zazhi*, **19**(12), (2013), 8-11.
 23. Yadav, V., Jayalakshmi, S., Patra, A., Singla, R.K.: Investigation of analgesic & anti-pyretic potentials of *Callicarpa macrophylla* Vahl. leaves extracts. *WebmedCentral Medical Education*, **3**(6), 2012.

-
24. Patel, R., Jawaid, T.: Hepatoprotective activity of aerial parts of plant extract of *Callicarpa macrophylla* in rats. *Netjournals, Pharmacy and Pharmacology Research*, **2**(1), (2014) 1-8.
 25. Barkatullah, M.I., Nafees, M., Rauf, A., Haroon, K.: Cytotoxic, acute toxicity and phytotoxic activity of *Callicarpa macrophylla* in various models. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, **3**(2-1), (2015) 1-4.

5 *Clerodendrum indicum* (L.) Kuntze

5.1 Beskrivelse

Clerodendrum indicum (L.) Kuntze er det aksepterte navnet på en planteart som tilhører slekten *Clerodendrum* og kommer fra plantefamilien *Lamiaceae* [1]. *C. indicum* er en helårlig busk som blir funnet i områder med moderat temperatur som finnes i store deler av India, Nepal, Myanmar, Malaya, Indokina, Indonesia og Bangladesh [2]. Planten vokser til omtrent 2,5m høy og har hvite blomster. Bladene kan bli mellom 6-23cm lange og 1-5cm bred. Bladene er lansettformede og smalnet ved bladstilken og hel rundt bladkanten [3]. De har forblad som er på 5-10mm lange. Blomstene er rød i fargen når de er unge [4].



Figur 9 viser et bilde av *C. indicum* [5].

5.2 Tradisjonell bruk

Ekstrakt av *C. indicum* har vært brukt til å behandle ulike infeksjose tilstander og hudsykdommer. Det er blitt rapportert at bladene og den overjordiske delen av *C. indicum* har vært brukt mot forskjellige medisinske tilstander som astma, bronkitt, feber, innvollsorm, artritt, epilepsi, kramper, tarmkreft, hematuri, hysteri, impotens, lipom, nesepolypper, smertefull vannlating og revmatisme [2, 3]. Fra bladene har det blitt fremstilt en pasta som appliseres på sår for å fremme sårtilheling og tilheling av infiserte lymfeknuter. Pulver av bladene har vært brukt i forbindelse med fordøyelse og andre tilstander som er knyttet opp mot mage og tarm. Det er også blitt påstått at planten har en rensende effekt av blod samtidig som det gir økt blodsirkulasjon og undertrykker alle form for hevelsestilstander i kroppen. Planten har også vist seg for å ha gunstige effekter overfor det respiratoriske systemet hvor den har vært brukt som slimløsende, hostedempende, forkjølelse og astmatiske symptomer [2]. Pulverisert rot fra planten har vært blandet med honning for behandling mot astma og andre respiratoriske tilstander [6]. Piller av maserert blanding fra planten har blitt fremstilt og gitt mot astma og pustevansker [6]. Maserert blanding av fersk rot sammen med blader blir gitt mot innvollsorm [6]. Barken fra den ferske roten blir blandet med tørket rot sammen med varmt vann og brukes ved brystmerter i forbindelse med forkjølelse [6]. Juice fra bladene har også blitt brukt mot utbrudd av utslett med hepatisk bakenforliggende årsak og pemfigus [3]. Planten har også hatt en tradisjonell bruk mot malaria [7, 8]. Det har også blitt rapportert at lokalbefolkningen i Thoubal distriktet i Manipur ved Nord-Øst India har brukt kokte blader fra *C. indicum* til behandling av diabetes [6]. Det er også videre blitt rapportert at roten og bladene har vært brukt mot hikke, som et appetittøkende middel, dempende for eksessivt seksuallyst, oppblåsthet, syreplager, vannansamling og bekjempelse mot flatulens [9]. I Burma blir roten og bladene brukt ved utgassing for å kontrollere skadedyr etter fødsel og rapporteres også å ha blitt brukt mot astma og feber [10].

5.3 Kjemiske substanser

<i>Clerodendrum indicum</i> (L.) Kuntze	
	plantedel

stoffgruppe/ kjemisk substans	rot	stilk	blad	overjordisk	referanse review(r)
flavonoider			x		
pectolarigenin	x	x			[3]
hispidulin	x	x		x	[3, 7, 11]
4'-O metyl hispidulin				x	
eupafolin					[11]
scutellarein				x	[11]
nepetin					[12]
apigenin					[12]
scutellanin 7-O- β -D-glukuronid					[12]
tanniner			x		[3]
saponiner			x		[3]
alkaloider			x		[3]
terpenoider		x			[7]
clerodendron		x		x	[7, 11]
oleanolsyre		x			[7]
oleanolaldehyd acetat		x			[7]
oleanolsyre acetat		x			[7]
glykosider					
hispidulin 7-O-glukuronid				x	[11, 12]
lariciresinol 9-O- β -D-glukosid				x	[11]
roseosid				x	[11]
verbascosid			x		[13]
steroler					

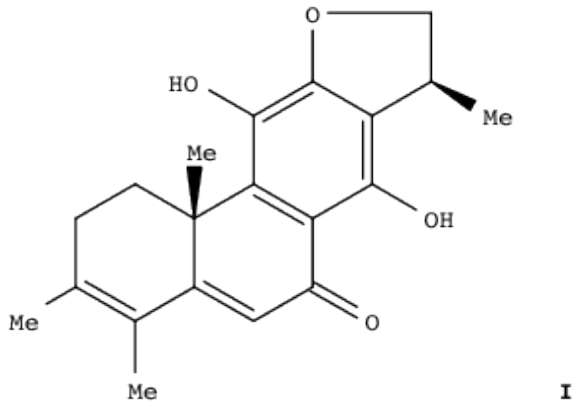
β -sitosterol		x			[14]
Andreorganiske forbindelser					
cleroindicin A				x	[8]
cleroindicin B				x	[8]
cleroindicin C				x	[8]
cleroindicin D				x	[8]
cleroindicin E				x	[8]
cleroindicin F				x	[8]

Tian *et al.* 1997 [8] isolerte seks nye forbindelser fra fraksjonert etanol ekstrakt fra den overjordiske delen av *C. indicum*. Disse forbindelsene ble kalt for cleroindicin A-F (1-6).

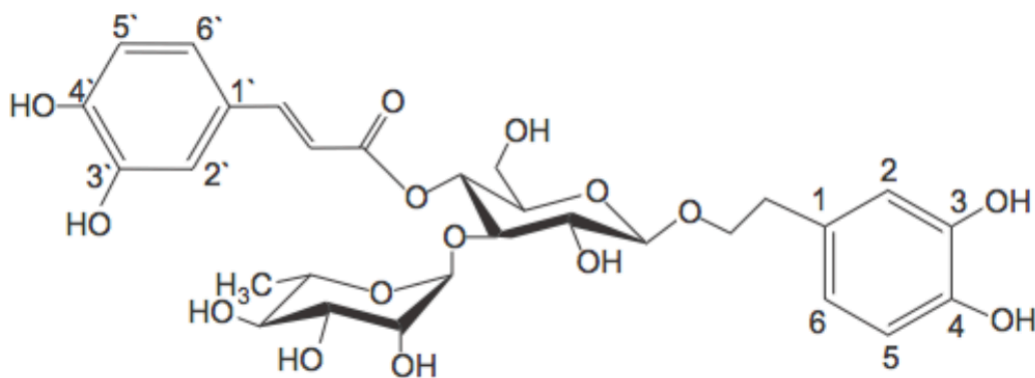
Tian & Sun 1999 [11] isolerte åtte kjemiske forbindelser hvor samtlige var for første gang rapportert fra *C. indicum*. Disse forbindelsene var hhv hispidulin, hispidulin 7-O-glukuronid, eupafolin, scutellarein, clerodendrol, roseosid, lariciresinol 9-O- β -D-glukosid. Blant disse utgjorde clerodendrol hovedkomponenten.

Ravindranath *et al.* 2003 [7] rapporterte for første gang et nytt hydrokinon diterpenoid, clerodendron fra stammen tilhørende *C. indicum* sammen med to kjente flavoner hispidulin og 4'-O metyl hispidulin i tillegg til andre også kjente terpenoider herunder oleanolsyre, oleanolaldehyd acetat og oleanolsyre acetat. Utenom hispidulin ble alle de øvrige forbindelsene isolert for første gang fra *C. indicum*, men kun clerodendron var en helt ny forbindelse som viste seg å være en sjelden forbindelse funnet fra plantefamilien *Verbenaceae* fordi den inneholdt en β -metyl dihydrofuran fremfor en α -metyl hydrofuran hvilket var mere vanlig blant kjemiske forbindelser i denne serien [7].

Raihan *et al.* 2012 [3] utførte fytokjemiske undersøkelser for å evaluere smertestillende effekter fra *C. indicum* og de rapporterte at etanolekstrakt av bladene inneholdt alkaloider, steroider, saponiner, tanniner, reduserende sukker og gummi.



Figur 10 viser den kjemiske strukturen for clerodendrol [11].



Figur 11 viser den kjemiske strukturen for verbascosid [13].

5.4 Biologisk aktivitet

5.4.1 Antibakteriell aktivitet

Pal *et al.* 2012 [2] evaluerte potensielle antimikrobielle egenskaper i blader tilhørende *C. Indicum* ut ifra *in vitro* studier hvor ble det utført en agar diffusjonstest. Her ble det brukt fire ulike bladekstrakter, herunder metanolekstrakt og fraksjoner av denne hhv petroleumseter, kloroform og karbontetraklorid. Standarden som ble brukt i denne studien var kanamycin som ble testet med en konsentrasjon på 30µg. Blant Gram positive bakterier som ble tatt med i denne studien var *Bacillus sereus*, *B. Megaterium*, *B. Subtilis*, *Staphylococcus aureus* og *Sarcina lutea*, mens Gram negative bakterier bestod av *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Salmonella paratyphi*, *S. Typhi*, *Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *Vibrio mimicus* og *V. Parahemolyticus*. Denne studien testet også tre sopparter hhv *Candida albicans*, *Aspergillus niger* og *Sacharomyces cerevisiae* [2].

Bladekstraktet med metanol og de øvrige fraksjonene ble opparbeidet til en konsentrasjon på 400µg som ble videre applisert på sterile disk med 6mm i diameter sammen med standard. Disse ble så plassert i næringsagar som var inokulert med testorganismene og videre oppbevart ved 4°C i 24 timer for at prøvene skulle diffundere ut i mediet etter hvert som diskene med testprøvene absorberte vann fra det omkringliggende mediet. Deretter ble agarplatene inkubert i 24 timer ved 37°C for å tillate maksimal vekst av testorganismene hvorav forskerne etterpå målte hemningssoner som hadde oppstått rundt testprøvene [2]. Resultatene viste at metanol råkstrakt av *C. Indicum* blader, karbontetrakloridfraksjonen og kloroformfraksjonen hadde moderat antimikrobiell effekt med hemningssoner på 9-13mm, 10-13mm og 10-13mm hhv. Den antimikrobielle effekten var moderat både med hensyn til hemningssone og det antimikrobielle spekteret hvorav det ble observert inhibitoriske effekter overfor både Gram positive og Gram negative bakterier og sopp. Fraksjonen med petroleumseter demonstrerte ingen antimikrobiell aktivitet [2].

AbouZid *et al.* 2013 [15] testet fire plantearter fra *Clerodendrum* slekten herunder *C. chinense*, *C. indicum*, *C. glabrum* og *C. splendens*, for antimikrobielle egenskaper over ulike parasitter, bakterier og sopp. Testorganismene som ble tatt med i denne studien var *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania infantum*, *Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum*, *Candida albicans*, *Microsporium canis*, *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus*. Til denne studien ble det fremstilt ulike ekstrakter fra blomster, blader og stammen med kloroform og metanol. Resultatene viste at blomsterekstrakt med kloroform fra *C. chinense* og *C. splendens* hadde større effekt mot *P. falciparum*, mens kloroform ekstrakt av stammen og blomstene fra *C. chinense* utviste signifikant effekt mot *T. cruzi*. Kloroform ekstrakt med bladene fra *C. chinense* og *C. splendens* viste lovende resultater mot *T. cruzi* uten celletoksiske effekter. Planteekstrakt med metanol hadde generelt lavere aktivitet sammenlignet med ekstrakt med kloroform. Det som var interessant var at ingen av de ut valgte plantene demonstrerte noe signifikant effekt mot verken Gram positive eller Gram negative bakterier i denne studien hvorav *C. indicum* ikke kunne vise at det hadde noe signifikant aktivitet i forhold til antimikrobielle effekter [15].

5.4.2 Sårtilhelende aktivitet

Das *et al.* 2014 [16] formulerte en urtekrem til sårbehandling av mus hvorav *C. indicum* inngikk som en av ingrediensene på bakgrunn dets antimikrobielle aktiviteter som var blitt rapportert fra tidligere studier. Ut fra denne studien ble det nevnt at sår involverer tap eller brudd på cellulær, anatomisk eller funksjonell kontinuitet av vev som kan være forårsaket av fysisk, kjemisk, termisk, immunologisk eller mikrobiell skade. Sårtilheling eller reparasjon av sår er en naturlig mekanisme hvor kroppen regenererer slikt skadet vev [16]. Det fremgår også at sårtilheling krever et samarbeid fra ulike celler og vev hvorav plateaggregering, koagulasjon, angiogenese, reepitelisering og andre inflammatoriske prosesser er involvert. En sårhelingsprosess er ikke fullstendig før den brutte overflaten har blitt gjendannet med kollagen [16].

I denne studien ble testdyrene inndelt inn i tre grupper som utgjorde hhv kontroll, standard og testprøven. Standarden som ble brukt var Betadine® (povidon-iodin). Et sårareal på 176mm² (1.5cm bred og 0.2cm dypt) ble induisert ved eksisjon på ryggen til testdyrene. De ulike testgruppene mottok sårbehandling en gang daglig hvorav progresjonen for sårtilheling ble monitorert på dag 3, 6, 9, 12, 15 og 18 etter sår dannelse. Under monitoreringen ble det registrert målinger for størrelsen av sårarealet og prosentvis gjennomsnittlig sårlukking [16].

En hudirritasjonstest avslørte at formuleringen av urtekremen ikke førte til hudirritasjon, erytem eller ødem hos noen av testdyrene etter 48 timer. Resultatene viste at både standard og urtekremformuleringen hadde signifikant sårtilhelende aktivitet sammenlignet med kontroll hvor sårarealet hos mus fra begge disse gruppene var blitt signifikant redusert. Histologiske undersøkelser ble utført for å studere det nydannede sårvevet som ble isolert fra musene etter dag 18. Undersøkelsen viste at både standard og testgruppen hadde en markant økning i parametere som fibroblastproliferasjon, granulasjonsvev, kollagenfibre og remodelering av vev med mer [16]. Forskerne mente at den sårhelende aktiviteten trolig skyldes et samlet bidrag fra radikalsøkende aktivitet, antioksidant aktivitet og antiinflammatorisk aktivitet pga tilstedeværelsen av polyfenoler og flavonoider i ekstraktene [16].

Denne studien er tatt med fordi den delvis er med på å støtte opp om den tradisjonelle bruken av *C. indicum* i forbindelse med sårbehandling som nevnt ovenfor, men fordi denne studien

ikke utelukkende var basert på *C. indicum* kan vi ikke gå ut ifra at denne planten alene står ansvarlig for den biologiske effekten som ble observert.

5.4.3 Gastrointestinal aktivitet

Pal *et al.* 2012 [2] undersøkte om hvorvidt bladekstrakt fra *C. indicum* hadde aktivitet mot diaré. Metanolekstrakt og ulike fraksjoner av denne hhv petroleumseter, kloroform og karbontetraklorid ble testet overfor lakserolje induisert diaré. I denne studien ble 30 randomiserte mus fordelt inn i seks grupper med fem testindivider for hver gruppe. Vekten til alle testdyrene ble målt. Gruppene en og to utgjorde hhv kontroll- og standardgruppen. Standarden som ble brukt under denne studien var legemidlet loperamid gitt med en konsentrasjon på 50mg/kg. De resterende gruppene tre, fire, fem og seks utgjorde testgruppene som fikk administrert 400mg/kg kroppsvekt med metanolekstrakt og fraksjon med petroleumseter, kloroform og karbontetraklorid. Etter 30 minutter med behandling av testprøvene og standard fikk dyrene 0,5ml lakserolje administrert peroralt. Videre ble dyrene plassert i transparente bur hvorav både frekvensen og konsistensen av avføringene som fulgte den induerte diarén ble målt i løpet av de neste tre timene. Resultatene viste at kloroformfraksjonen av råekstraktet hadde signifikant effekt mot diaré, mens metanolekstraktet bare hadde moderat effekt med prosentvise inhibisjoner på 26.96 % og 21.74% hhv. Den motvirkende aktiviteten mot diaré ble ansett for å være sammenlignbar med standardlegemidlet loperamid som hadde en inhibisjon på 37.39%. Minst effekt hadde karbontetraklorid- og petroleumseterfraksjonen som kun demonstrerte 16.65% og 17.69% inhibisjon hhv [2]. Det ble foreslått at aktiviteten mot diaré trolig var skyldtes tilstedeværelsen av tanniner, alkaloider, saponiner og terpenener, stoffer som fra tidligere studier har vært rapportert å inneha egenskaper som motvirket diaré [2].

5.4.4 Antiinflammatorisk aktivitet

Wahba *et al.* 2011 [13] undersøkte antiinflammatorisk aktivitet i *C. indicum* blader. Bladene ble lufttørke, pulverisert og deretter ekstrahert med kloroform hvorav det resterende plantematerialet etter den første ekstraksjonen igjen ble ekstrahert med metanol. Total 54 mus

ble delt opp i ni grupper med seks individer i hver gruppe. Gruppe en og to var kontroll og standard. Standardlegemidlet i denne studien var indometacin som ble testet med en konsentrasjon på 20mg/kg kroppsvekt. Gruppene tre til åtte utgjorde testprøvene som bestod av kloroform og metanol ekstrakt av *C. indicum*, pluss ekstrakter fra to andre plantearter fra *Clerodendrum* som også ble testet i denne studien. Disse var hhv *C. chinense*, og *C. glabrum*. Alle ekstraktene ble testet med konsentrasjon på 100mg/kg kroppsvekt. Den siste gruppen fikk administrert verbascosid 25/kg kroppsvekt, et fenyylpropanoid glykosid som i denne studien var isolert fra bladene til *C. chinense* [13]. Alle testprøvene ble gitt peroralt en time før administrering av en 1% karragenan injeksjon i høyre bakpote, mens venstre bakpote ble injisert med løsemiddel. Etter fire timer ble testdyrene ofret og potene ble avkuttet og innveid separat etterfulgt med målinger for graden på ødem og inhibisjon oppgitt i prosent [13].

Resultatene viste at ekstrakt med metanol generelt hadde bedre aktivitet enn ekstrakt med kloroform. Metanolekstrakt med bladene fra *C. indicum* demonstrerte nest høyest antiinflammatorisk aktivitet etter *C. chinense* blant ekstraktene, med prosentvis inhibisjon på 50.00% og 54.64% hhv. Denne inhibisjonen tilsvarte 77-89% av den antiinflammatoriske aktiviteten som standarden indometacin hadde i denne studien. Den mest potente aktiviteten, men lavere enn standard, hadde testgruppen som fikk administrert verbascosid som viste en prosentvis inhibisjon på 57.53% [13].

Det ble nevnt ut ifra denne studien at karragenan produserer akutt inflammasjon som består av to faser hvor flere mediatorer er involvert. Tidlig fase medieres av histamin og serotonin, mens senfasen i en inflammasjonsprosess er forbundet med frigjøring av cyklooksygenase og prostaglandiner. Karragenan induisert ødem under den inflammatoriske senfasen har vist å være sensitiv mot de fleste antiinflammatoriske midler som anvendes klinisk [13]. Det ble her foreslått at den antiinflammatoriske aktiviteten som ble observert trolig skyldtes hemming av enzymet cyklooksygenase som igjen fører til inhibisjon av prostaglandinsyntesen [13]. Dette indikerte at de aktive komponentene i bladekstraktet utøvde den antiinflammatoriske effekten i senfasen. Det ble avslutningsvis foreslått at substansen verbascosid fra *C. indicum* muligens stod ansvarlig for den antiinflammatoriske effekten [13].

5.4.5 Smertestillende effekter

Wahba *et al.* 2011 [13] gjorde studie med bladekstrakt fra *C. indicum* sammen med to andre plantearter fra *Clerodendrum* for å undersøke om hvorvidt det fantes smertestillende aktiviteter. I denne studien ble 54 mus oppdelt i ni grupper, hver med seks testindivider. Gruppene en og to bestod av kontroll og standard. Novalgin® med virkestoffet metamizol natrium ble brukt som standardlegemiddel og testet ved 50mg/kg kroppsvekt. Gruppene tre til åtte fikk bladekstrakt fra de tre forskjellige plantene. De ulike ekstraktene ble fremstilt med kloroform og metanol og samtlige testet med en konsentrasjon på 100mg/kg kroppsvekt. Den siste testgruppen fikk administrert verbascosid med en dose på 25mg/kg kroppsvekt. Alle gruppene fikk prøvene administrert peroralt og testdyrene fikk deretter smerten induisert ved hjelp av en strømkilde som overførte et elektrisk støt til halen hvorav den minste påkrevde spenningen som måtte til før testdyrene ga fra seg lyd ble målt ved 0, 1 og 2 timer. Resultatene viste at *C. indicum* hadde smertestillende egenskaper, men at denne var mindre enn *C. chinense* og verbascosid.

Raihan *et al.* 2012 [3] undersøkte for smertestillende aktivitet overfor eddiksyre induisert smerte i mus med etanol råkstrakt av *C. indicum* blader som på forhånd var blitt tørket og malt ned til et grovt pulver. I denne studien ble de randomiserte testdyrene oppdelt i fire grupper med fem mus til hver gruppe. Gruppe en og to utgjorde hhv kontroll- og standard, mens gruppe tre og fire fikk etanol bladekstrakt med to ulike doser. For å induisere smerten fikk musene en intraperitoneal injeksjon eddiksyre gitt med en konsentrasjon på 1%, hvorav forskerne i ettertid målte for abdominale sammentrekninger eller rykninger som var forårsaket av den induiserte smerten [3].

Studien viste at råkstraktet hadde signifikant doseavhengig effekt med hhv 38.91% og 55.24% inhibisjon hhv for konsentrasjonene 250mg og 500mg/kg kroppsvekt. Standard legemidlet som var benyttet i denne studien var diklofenak administrert ved 25mg/kg kroppsvekt som viste 68.3% inhibisjon. Forskerne så at antallet abdominale sammentrekninger var signifikant redusert ved begge konsentrasjonene av ekstraktet, men at effekten var sammenlignbar med diklofenak kun for testgruppen som fikk administrert ekstrakt med 500mg/kg kroppsvekt [3].

Det var nevnt fra denne studien at inflammatoriske responser bestod av kompliserte biologiske hendelser hvorav enzymaktivering, mediatorfrigjøring, væskelekkasje,

cellemigrasjon, nedbrytelse og gjenoppbygging av vev er involvert. Det har fra tidligere studier vært foreslått at mekanismen bak den smertestillende effekten kunne ha vært forårsaket av en blokkering eller en hemmet frigjøring av endogene enzymer som stimulerer nerveendinger for smerte, herunder lipoksygenase og/eller cyklooksigenase [3]. Det var også nevnt fra denne studien at eddiksyre stimulerer til produksjon av prostaglandiner og at det til syvende og sist er disse substansene som forårsaker smerteindusert sammentrekning. Det ble dermed foreslått ut ifra denne studien at bladekstraktet muligens inneholdt aktive komponenter med perifer smertestillende aktivitet da det ble observert at etanolekstrakt med bladene fra *C. indicum* signifikant opphevet eddiksyreindusert smerterespons hos testdyrene. Det ble også her nevnt at kjemiske forbindelser som saponiner, flavonoider og polyfenoliske forbindelser som f.eks tanniner fra tidligere studier har vist å inneholde mange farmakologiske egenskaper inkludert aktivitet mot smerte [3]. Ut ifra dette ble det også foreslått at tilstedeværelsen av saponiner og tanniner i bladekstraktet fra *C. indicum*, bidro til den smertestillende effekten som forskerne observerte og i tillegg mente forskerne at det måtte være aktive konstituenten i planteekstraktet som enten hemmet prostaglandinsyntesen eller som gjennom andre spesielle virkningsmekanismer motvirket eddiksyreindusert smerte [3]. Det var i alle fall ingen tvil om at forskerne gikk god for den tradisjonelle bruken av *C. indicum* ved smertebehandling, men de mente samtidig at det var nødvendig med flere studier for å avklare de kjemiske substansene som var ansvarlig for den farmakologiske effekten og deres terapeutiske verdi [3].

Pal *et al.* 2012 [2] utførte en lignende studie med eddiksyreindusert smerte overfor mus med etterfølgende målinger av endrede muskelbevegelser forårsaket av smerte for å undersøke om bladekstrakt av *C. indicum* inneholdt smertestillende egenskaper. Forskjellen her var at forskerne fremstilte to ulike ekstrakter som ble brukt under testen, herunder ekstrakt fremstilt med metanol og karbontetraklorid som var fraksjonert fra metanolekstraktet. Standard legemidlet som ble brukt i denne studien var også diklofenak. Testdyrene ble oppdelt i fem grupper hvorav gruppe en og to utgjorde kontroll og standard. Diklofenak ble administrert med en konsentrasjon på 50mg/kg kroppsvekt. Gruppene tre og fire utgjorde testgruppene for metanolekstrakt administrert med hhv 200mg- og 400mg/kg kroppsvekt og til sist hadde gruppe fem fått administrert karbontetraklorid fraksjonen gitt med en konsentrasjon på 200mg/kg kroppsvekt. Samtlige testsubstanser ble gitt peroralt etterfulgt med en 0.7% intraperitoneal injeksjon med eddiksyre etter 40 minutter for å sikre god absorpsjon av

testsubstansene. Videre lot forskerne 5 minutter passere etter tidspunktet for injeksjonen før de begynte å registrere for målinger.

Resultatene fra denne studien viste at den smertestillende effekten med metanol bladekstrakt både var signifikant og konsentrasjonsavhengig med en inhibisjon på 62.57 og 70.76% hhv for de forskjellige doseringene på 200mg og 400mg/kg kroppsvekt som viste seg å være bedre sammenlignet med standarden diklofenak som ga en inhibisjon på 55.56% sammenlignet med kontroll. Maksimal inhibisjon derimot hadde karbontetraklorid fraksjonen med en inhibisjon på 73.09% [2].

Det ble i denne studien foreslått at den smertestillende effekten som ble observert muligens skyldes at ekstraktene inneholdt aktive stoffer som interfererte med biosyntese, frigjøring og/eller virkning av stoffer som er sentrale i forhold til smertesignaloverføring herunder prostaglandiner og leukotriener fra enzymene cyklooksygenase og lipoksygenase hhv. Det ble også foreslått at tilstedeværelsen av stoffer som tanniner, saponiner og steroider muligens kunne forklare for den smertestillende aktiviteten fordi disse stoffene fra tidligere studier har vært rapportert for å inneholde analgetiske effekter gjennom inhibisjon av prostaglandinsyntesen [2].

5.4.6 Antioksidant aktivitet

Kumar & Müller 1998 [17] testet 28 forskjellige nepalske planter for å studere hvorvidt disse hadde biologisk aktivitet mot lipidperoksidering, en reaksjon som oppstod når aktiverte polymorfnukleære leukocytter produserer oksygen radikaler som igjen kan peroksidere flerumettede fettsyrer i biologiske membraner i fravær av enzymer. I denne studien ble det brukt liposomer med fosfolipider fra oksehjerne [17]. Resultatene viste at den mest potente inhibitoriske effekten kom fra ekstraktet med barken tilhørende *C. indicum* som hadde en IC₅₀ på 0.93µg/ml. Det som var interessant var at *C. indicum* kun hadde moderat effekt mot 5-lipoksygenase (5-LO), mens ekstrakt som hadde god effekt overfor 5-LO igjen viste mindre beskyttelse mot lipidperoksidering. Dette var en indikasjon for at *C. indicum* var mindre effektiv mot enzymassistert peroksidering, men det ble også nevnt at det generelt ikke fantes en korrelasjon mellom inhibisjon av 5-LO og inhibisjon av lipidperoksidering [17].

5.5 Toksikologiske studier

Ingen studier funnet.

5.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet.

5.7 Konklusjon

Det var relativt lite vitenskapelige studier om *C. indicum*. Jeg fant ingen studier som kunne validere for den tradisjonelle bruken i Burma. Det fantes lovende resultater med hensyn til antiinflammatorisk aktivitet hvilket igjen kunne ha vært korrelert med det faktum at *C. indicum* blir i Burma brukt mot astma, som er en medisinsk tilstand hvor betennelse alltid er involvert. Den smertestillende effekten ligger trolig nært knyttet opp mot den antiinflammatoriske aktiviteten. Når det kommer til den antimikrobielle aktiviteten var resultatene noe svingende, og sett i forhold til den gode sårhelende effekten som ble observert taler dette for at sårheling muligens var mediert gjennom andre mekanismer enn hemming av mikrobiell vekst, selv om en sådan inhibisjon ikke helt kan utelukkes. Det er ut til at det er en sammenheng mellom den tradisjonelle bruken av *C. indicum* og tilstander med betennelse. Uavhengig finnes det per i dag ikke stilstrekkelig vitenskapelig belegg for å validere den burmesiske bruken av *C. indicum*. Flere studier er ønsket.

5.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-42702>. 2015.05.12.
2. Pal, A., Al Mahmud, Z., Akter, N., Islam, S., Bachar, S.C.: Evaluation of Antinociceptive, Antidiarrheal and Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of *Clerodendrum indicum*. *Pharmacognosy Journal*, **4**(30), (2012), 41-46.
3. Raihan, S.Z., Biswas, P., Monir, M.M., Biswas, S.K., Showdhury, A., Rahman, A.K.: Phytochemical investigation and in vitro antinociceptive activity of *Clerodendrum indicum* leaves. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **15**(3), (2012), 152.
4. Encyclopedia of Life.
URL:<http://eol.org/pages/579765/details>. 2015.05.12.
5. Kurerodendorumu-Indikumu.
URL: <http://www.botanic.jp/plants-ka/cleind.htm>. 2015.05.12.
6. Khan, M.H., Yadava, P.: Antidiabetic plants used in Thoubal district of Manipur, Northeast India. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, **9**(3), (2010), 510-514.
7. Ravindranath, N., Ramesh, C., Kishore, K.H., Murty, U., Das, B.: Clerodendrone, a novel hydroquinone diterpenoid from *Clerodendrum indicum*. *Journal of Chemical Research*, **2003**(7), (2003), 440-441.
8. Tian, J., Zhao, Q.S., Zhang, H.J., Lin, Z.W., Sun, H.D.: New cleroidincins from *Clerodendrum indicum*. *Journal of Natural Products*, **60**(8), (1997), 766-769.
9. Rahmatullah, M., Mollik, M.A.H., Islam, M.K., Islam, M.R., Jahan, F., Khatun, Z., Seraj, S., Chowdhury, M.H., Islam, F., Miajee. Z.: A survey of medicinal and functional food plants used by the folk medicinal practitioners of three villages in Sreepur Upazilla, Magura district, Bangladesh. *American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, **4**, (2010), 363-373.
10. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
11. Tian, J., Sun, H.: Chemical constituents of *Clerodendrum indicum*. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*, **11**(3), (1999), 1-5.
12. Gunasegaran, R., recio, M.C., Alcaraz, M.J., Nair, A.G.R.: Additional constituents from *Clerodendrum indicum* L. (Verbenaceae). *Pharmazie*, **48**(2), (1993), 151-2.

-
13. Wahba, H.M., AbouZid, S.F., Sleem, A.A., Apers, S., Pieters, L., Shahat, A.A.: Chemical and biological investigation of some Clerodendrum species cultivated in Egypt. *Pharmaceutical Biology*, **49**(1), (2011), 66-72.
 14. Prakash, L., Garg, G.: Chemical constituents from the stem heartwood of *Guazuma tomentosa*, Kunth (DC) and stem of *Clerodendron indicum* (Linn) Kuntze. *Journal of the Indian Chemical Society*, **58**(7), (1981), 726-7.
 15. AbouZid, S.F., Wahba, H.M., Elshamy, A., Cos, P., Maes, L., Apers, S., Pieters, L., Shahat, A.A.: Antimicrobial activity of some Clerodendrum species from Egypt. *Natural Product Research*, **27**(11), (2013), 1032-1036.
 16. Das, T., Debnath, J., Nath, B., Dash, S.: Formulation and Evaluation of an Herbal Cream for Wound Healing Activity. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, **6**(2), (2014).
 17. KC, S.K., Müller, K.: Medicinal plants from Nepal; II. Evaluation as inhibitors of lipid peroxidation in biological membranes. *Journal of Ethnopharmacology*, **64**(2), (1998), 135-139.

6 *Ficus rumphii* Blume

6.1 Beskrivelse

Ficus rumphii Blume er det aksepterte navnet til en planteart fra slekten *Ficus* og som tilhører plantefamilien *Moraceae* [1]. Andre synonymnavn er *F. cordifolia*, *F. conciliorum*, *F. popouliformis*, *Urostigma cordifolium* og *U. Rumphii* .[1, 2].

F. rumphii er epifyttisk ved starten og kan vokse til å bli et tre på omtrent 20 meter høyt. Stammen er solid, forgrenet og glatt. Barken er gulgrå eller brun. Bladene kan være mellom 16,5 - 23 cm i lengden og alternerer i en spiral. Fruktene vokser i par og er runde og glatte. De er grønne når de er umodne, men går over til mørk eller rødsvart i fargen etter hvert som de modnes. Hannblomstene er små og få imellom seg, mens hunnblomstene er flere i antall og noe større. *H. rumphii* er distribuert over nordlige og sentrale deler av India, Nepal, Bhutan, Kina, Myanmar, Indokina og Malaysia [2].



Figur 12 viser et bilde av *F. rumphii* [3].

6.2 Tradisjonell bruk

Fruktjuice fra *H. rumphii* blir blandet med gurkemeie, pepper og ghee, en type klarnet smør, og brukt til behandling mot innvollsorm og astma [2, 4]. Barken blir brukt mot slangebitt, leukoderma, sår, spedalskhet, kløe, mage- og tarmlager og blodsykdommer [4]. Blader av *H. rumphii* kokes i olje og kan tildekkes over sår og småskader [4]. Gupta *et al.* 2006 [5] rapporterte at *H. rumphii* ifølge aryurvediske tekster blir brukt til behandling mot hoste og vannlating, samt stimulering til oppkast. Dette var en review artikkel. Kunwar *et al.* 2006 [6] rapporterte også i en review artikkel at lokalbefolkningen i Nepal ga *H. rumphii* til kuene ved behandling av sykdommer i fot og munn. Chander *et al.* 2014 [7] rapporterte at en innfødt stamme av Andaman og Nicobar-øyene brukte *H. rumphii* til behandling i forbindelse med oppkast. Yadav *et al.* 2104 [8] studerte den tradisjonelle bruken av medisinske trearter i Renuka skogområde i det vestlige Himalaya og rapporterte at frukten til *H. rumphii* ble brukt til behandling av astma, mens frukt i tillegg til rot og blad hadde anvendelse overfor hudsykdommer, giftige bitt [4, 8] og gulsott [8]. Gazi *et al.* 2013 [9] rapporterte at lokalbefolkningen fra ulike landsbyer i Jhenidah distriktet av Bangladesh benytter barken av *H. rumphii* til behandling ved hematuri, hvorav juicen fra den knuste barken blir gitt sammen med honning. Frukten av *H. rumphii* er også blitt påstått for å ha febernedsettende egenskaper i den burmesiske tradisjonelle bruken [4, 10].

6.3 Kjemiske substanser

<i>Ficus rumphii</i> Blume						
stoffgruppe/ kjemisk substans	plantedel					referanse
	rot	stilk	blad	blomst	frukt/ frø	
flavonoider					x	[4, 11]
tanniner					x	[4, 11]

terpenoider		x				[12]
kumariner						
3-acetyl-2H-kromen-2-on			x			[13]
Fenoliske forbindelser					x	[4, 11]
1-isopentyl-3,4-dioksometylen-2-fenol			x			[13]
3-(2-hydroksyfenyl)-1-(piperidin-1-yl) propan-1-on			x			[13]
steroler		x				[12]
β -sitosterol		x				[14]
stigmast-5-en-3-yl acetat			x			[13]
glykosider						
3-hydroksy-3-metoksyflavon		x				[14]

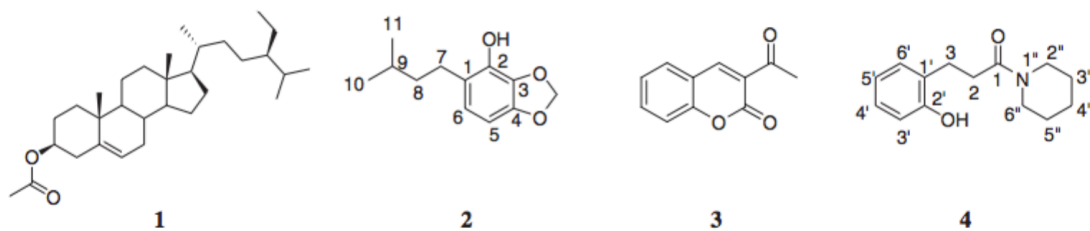
Baslas 1979 [14] isolerte β -sitosterol og et flavonol glykosid, 3-hydroksy-3-metoksyflavon fra barken fra trestammen til *F. rumphii*.

Mukherjee & Ray 1980 [12] analyserte 74 indiske planter, iblant dem *F. rumphii*, for å studere hvorvidt plantene inneholdt steroider, terpenoider, flavonoider, alkaloider og saponiner. De fant ut at barken fra trestammen inneholdt steroider og terpenoider, men ikke de andre nevnte forbindelsene.

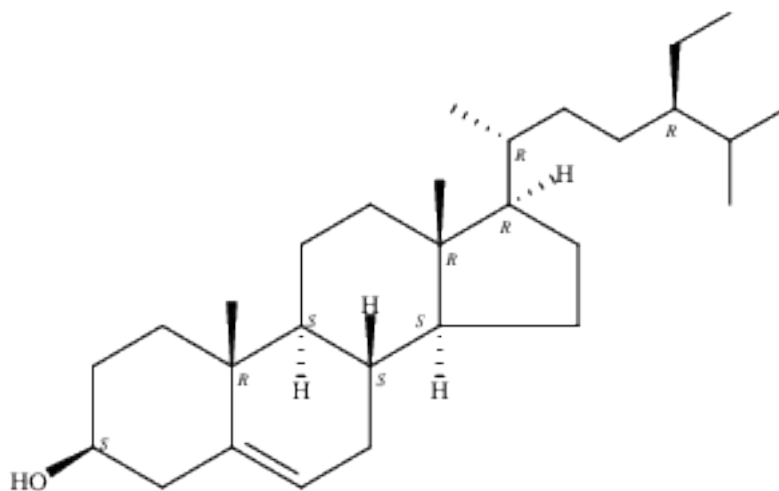
Maskey & Shah 1982 [11] undersøkte sukkerforbindelser i ville, men spiselige nepalske frukter og rapporterte at *F. rumphii* inneholdt flavonoider, tanniner og fenoliske forbindelser.

Parveen *et al.* 2014 [13] isolerte til sammen fire forbindelser **1, 2, 3 og 4** fra bladene tilhørende *F. rumphii*. To av disse forbindelsene var fenoliske forbindelser som ble isolert

for første gang fra denne planten. Forbindelse **2** var en helt ny forbindelse og bestemt til å være 1-isopentyl-3,4-dioksometylen-2-fenol. Forbindelse **4**, 3-(2-hydroksyfenyl)-1-(piperidin-1-yl) propan-1-on, var blitt tidligere registrert, men var i denne studien for første gang isolert fra *F. rumphii* blader. Forbindelsene **1** og **3** var kjente forbindelser hhv stigmast-5-en-3-yl acetat og 3-acetyl-2H-kromen-2-on.



Figur 13 viser kjemiske strukturer for hhv 1-4 [13].



Figur 14 viser kjemisk struktur til β -sitoterol [15]

6.4 Biologisk aktivitet

6.4.1 Antioksidant aktivitet

Pal *et al.* 2010 [4] undersøkte *in vitro* antioksidant egenskaper hos bladene fra *F. rumphii*. Til dette formålet hadde forskerne tilberedt fem ulike bladedstrakter fra *H. rumphii* herunder med petroleumseter, kloroform, etylacetat, etanol og destillert vann. Antioksidant aktiviteten fra de ulike ekstraktene målt ved to konsentrasjoner hhv 0,5mg/ml og 1mg/ml, ble sammenlignet med D- α -tokoferol (vitamin E) og askorbinsyre (vitamin C). Resultatene viste at kloroform og vannekstraktet demonstrerte bedre antioksidative egenskaper sammenlignet med de andre øvrige ekstraktene. Resultatene var sammenlignbare med standardene. Det var ukjent for forskerne hvilke kjemiske stoffer som var ansvarlig for antioksidant aktiviteten, men at det fra tidligere fytokjemiske analyser er blitt rapportert at *H. rumphii* inneholder flavonoider, tanniner og fenoliske forbindelser hvilket kan stå bak den antioksidative effekten som ble observert under denne studien [4].

6.4.2 Antikarsinogen aktivitet

Parveen *et al.* 2014 [13] undersøkte etter aktive substanser som kunne motvirke celleproliferasjon med fire ulike kjemiske forbindelser hhv **1**, **2**, **3** og **4** overfor ulike kreftcellerlinjer A459, HepG2, HL-60 og MDA-MB-361, og ikke-kreftcellerlinjer HEK-293 og MCF-10A. De fant ut at de to nye fenoliske forbindelsene som var ekstrahert for første gang fra *F. rumphii* blader, hadde signifikant effekt spesielt mot HL-60 kreftcellerlinje med IC₅₀ på 3.3 μ M og 2.3 μ M for hhv for 1-isopentyl-3,4-dioksometylen-2-fenol og 3-(2-hydroksyfenyl)-1-(piperidin-1-yl) propan-1-on, hhv **2** og **4**. Alle forbindelsene ble ekstrahert med 95% metanolekstrakt. Doxorubicin ble brukt som referanse.

Forbindelsene **1-4** demonstrerte forskjellige nivåer for inhibisjon i forhold til celleproliferasjon når disse ble testet mot de fire kreftcellerlinjene. Forbindelsene **1** og **3** hhv stigmast-5-en-3-yl acetat og 3-acetyl-2H-kromen-2-on, ga kun moderat anti proliferativ aktivitet. Den celletoksiske effekten ble bekreftet ved at forbindelsene **1-4** også ble testet overfor ikke-kreftcellerlinjer. Resultatene viste at ingen av de øvrige forbindelsene hadde

noen merkbar toksisitet på de to ikke-kreftcellelinjene og i denne sammenhengen ble det foreslått at forbindelse **2** og **4** selektivt kunne brukes i behandling mot kreft uten og påvirke normale celler [13]. Forbindelse **4** hadde tilsynelatende bedre effekt enn de øvrige forbindelsene og forskerne mente at denne hadde potensial til å bli en medisin mot kreft. Etter det forskerne visste har forbindelsene **2** og **4** ikke tidligere blitt rapportert fra andre plantekilder [13].

6.4.3 Andre biologiske aktiviteter

Valerio & Awad 2011 [16] rapporterte også at β -sitosterol hadde antiinflammatoriske egenskaper gjennom nedregulering av pro-inflammatorisk signal transduksjon ved å øke tyrosin fosfatase SHP-1 aktivitet i J773A.1 murine makrofager.

Nazir *et al.* 2013 [17] rapporterte at β -sitosterol hadde antimikrobielle egenskaper overfor bakteriene *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* og soppen *Aspergillus niger*, men her var β -sitosterol isolert for første gang fra *Ranunculus muricatus* og ikke *F. rumphii*.

Kim *et al.* 2014 [15] har også rapportert at β -sitosterol kunne oppheve de skadelige effektene av høfett diett induisert intestinal inflammasjon i mus gjennom inhibisjon av binding mellom lipopolysakkarid og toll-lignende reseptor 4 i NF- κ B reaksjonsveien.

Ganapathy *et al.* 2014 [18] rapporterte at forbehandling med β -sitosterol hadde kardiobeskyttende egenskaper overfor isoproterenol-indusert hjerteinfarkt hos rotter. Det var her foreslått at den beskyttende effekten muligens skyldes at β -sitosterol hadde både fri radikalsøkende effekt og antioksidant egenskaper for øvrig. Forskerne fant at β -sitosterol kunne motvirke degenerative fysiologiske forandringer som følge av lipidperoksidering. Histopatologiske undersøkelser viste også at β -sitosterol motvirket forandringer i antioksidant status overfor rotter som fikk isoproterenol-indusert hjerteinfarkt.

Disse studiene er tatt med fordi de omhandler β -sitosterol, en kjemisk substans kjent for å ha biologisk aktivitet, og som også er blitt funnet i trestammen fra *F. rumphii*, men det fremgår ikke uttrykkelig at det nettopp er denne plantekilden som ble benyttet under disse studiene.

6.5 Toksikologiske studier

Toksiske effekter beskrives sammen med de studiene de blir omtalt fordi det etter min mening er en bedre plassering av informasjonen, og fordi det sjeldent finnes studier som utelukkende omhandler kun toksiske effekter uten at dette relateres til en større farmakologisk studie av biologiske komponenter i planter.

6.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet.

6.7 Konklusjon

Det var svært lite vitenskapelig litteratur vedrørende *F. rumphii*. Det ser ut til ekstrakt fra planten kan ha antioksidant effekt. Videre ser det ut til at 3-(2-hydroksyfenyl)-1-(piperidin-1-yl) propan-1-on har potensial til å bli tatt med videre i forhold til kreftbehandling. Jeg fant ingen studier som omhandlet *F. rumphii* og dets nedkjølede effekter ved feber og i denne sammenhengen har jeg sett på β -sitosterol fra andre studier hvor substansen rapporteres for å ha antiinflammatoriske effekter, som igjen kan ha sammenheng med den febernedsettende aktiviteten som påberopes av den burmesiske tradisjonelle bruken. Inntil flere vitenskapelige funn foreligger kan den tradisjonelle bruken i Burma ikke valideres.

6.8 Referansliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2812142>. 2015.05.12.
2. Kumar, A., Bajpai, O., Mishra, A.K., Sahu, N., Behere, S.K., Chaudhary, L.: Assessment of Diversity in the Genus Ficus L.(Moraceae) of Katarniaghat Wildlife Sanctuary, Uttar Pradesh, India. *American Journal of Plant Sciences*, **2**(01), (2011), 78.
3. Carderno do Oriente.
URL:<http://caderno-do-oriente.blogspot.no/2010/07/ficus-rumphii.html>. 2015.05.12.
4. Pal, D., Maity, P., Samanta, K.: In vitro antioxidant activity of leaves of Ficus rumphii Blume. *Asian Journal of Chemistry*, **22**, (2010), 8246-8248.
5. Gupta, M., Biswas, T.K., Saha, S., Dednsth, P.: Therapeutic utilization of secretory products of some Indian medicinal plants: a review. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, **5**(4), (2006), 569-575.
6. Kunwar, R.M., Bussmann, R.W.: Ficus (Fig) species in Nepal: a review of diversity and indigenous uses. *Lyonia*, **11**(1), (2006), 85-97.
7. Chander, M.P., Kartick, C., Gangadhar, J., Vijayachari, P.: Ethno medicine and healthcare practices among Nicobarese of Car Nicobar–An indigenous tribe of Andaman and Nicobar Islands. *Journal of ethnopharmacology*, **158**, (2014), 18-24.
8. Yadav, V.K., Deoli, J., Rawat, L., Adhikari, B.: Traditional Uses of Medicinal Tree Species in Renuka Forest Division, Western Himalaya. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*, **1**(2), 2014, 72-77.
9. Masum, G.Z.H, M.G., Priyanka, S., Abu, N., Mafizur, R.M., Mizanur, R.M Medicinal plants used by Kabiraj of fourteen villages in Jhenaidah District, Bangladesh. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, **2**(1), (2013), 10-22.
10. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155.185.
11. Maskey, K., Shah, B.: Sugar in some Nepalese edible wild fruits. *Journal of the Nepal Chemical Society*, **2**, (1982), 23-30.
12. Mukherjee, K., Ray, L.: Screening of some Indian plant species. *Pharmaceutical Biology*, **18**(2), (1980), 77-82.

-
13. Parveen, M., Malla, A.M., Alam, M., Ahmad, F., Silva, P.S.P., Silva, M.R.: Two new phenolic compounds from *Ficus rumphii* and their antiproliferative activity. *Natural Product Research*, **28**(9), (2014), 646-652.
 14. Baslas, R.K.: Isolation and characterisation of beta-sitosterol and flavonol glycoside from the trunk bark of *Ficus rumphii*. *Current Science*, **48**(3), (1979), 113.
 15. Kim, K-A., Lee, I-A., Gu, W., Hyam, S.R., Kim, D-H.: β -Sitosterol attenuates high-fat diet-induced intestinal inflammation in mice by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to toll-like receptor 4 in the NF- κ B pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, **58**(5), (2014), 963-972.
 16. Valerio, M., Awad, A.B.: β -Sitosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase SHP-1 in J774A.1 murine macrophages. *International Immunopharmacology*, **11**(8), (2011), 1012-7.
 17. Nazir, S., Li, B., Tahir, K., Khan, A., Ul Haq Khan, Z., Khan, S.: Antimicrobial activity of five constituents isolated from *Ranunculus muricatus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7**(47), (2013), 3438-3443.
 18. , P., Rajadurai, M., Ashokumar, N.: Cardioprotective effect of b-sitosterol on lipid peroxides and antioxidant in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: a histopathological study. *International Journal of Current Research*, **6**(6), (2014), 7260-7266.

7 *Hibiscus schizopetalus* (Dyer) Hook.f.

7.1 Beskrivelse

Hibiscus schizopetalus (Dyer) Hook.f. er det aksepterte navnet av en planteart som tilhører slekten *Hibiscus* og kommer fra plantefamilien *Malvaceae* [1]. *H. schizopetalus* er også kjent som ”*Jhumko Jaba*”, ”Japanese Lantern” og ”Coral Hibiscus”. Planten hører naturlig hjemme i det tropiske øst Afrika i Kenya, Tanzania og Mosambik, men vokser også i subtropiske områder som det indiske subkontinentet og Burma [2, 3].

H. schizopetalus er en glattbladet grønn busk som kan bli omtrent 3 meter høy med smale og tynne forgreninger. Bladene er elliptiske og avlange og har en lang spiss ved enden [4]. Blomstene henger ut ifra resten av planten og er svært dekorative. De har findelte kronblad som kommer i forskjellige farger hvor rød er blant de mest vanligste [2]. Blomstene henger adskilt fra en 10-14 cm lang stilk og er bygget og av fem kronblad med utvekst av et tynt og glatt støvbærerrør som på mellom 9-10 cm lang. Kapselen er sylindrisk og avlang inneholder myke frø [4]. *Hibiscus* slekten består omtrentlig av 275 arter hvor *H. Schizopetalus* er blant de minst undersøkte [5, 6].



Figur 15 viser et bilde av *H. schizopetalus* [7].

7.2 Tradisjonell bruk

Holdsworth *et al.* 1980 [8] undersøkte tradisjonelle medisinplanter i New Ireland og Papua Ny-Guinea og rapporterte at lokalbefolkningen drakk saften fra bladene fra *H. schizopetalus* for å indusere arbeid. Det ble trolig ikke differensiert mellom *H. schizopetalus* og *Hibiscus rosa-sinensis*, for det ble rapportert at både blomster og blader fra *H. rosa-sinensis* var nedsenket i kokosnøttvann og drukket for å fremme arbeidskapasitet i de nordlige områdene og Samoa [8]. Det at disse to planteartene ikke var adskilt kunne vært pga at *H. rosa-sinensis* er en art som lett hybridiseres med *H. schizopetalus* [4], for også i Malaysia blir disse to artene heller ikke differensiert fra hverandre [4]. *Hibiscus rosa-sinensis* var. *schizopetalus* Dyer er også synonymnavnet til *H. schizopetalus* [1].

Rahmatullah *et al.* 2010 [9] studerte den etnomedisinske praksisen i Bangladesh blant en kristen minoritetsgruppen som bor i landsbyen Mirzapur i Dinjapur distriktet, hvor det ble rapportert at lokalbefolkningen tygget på rå frukt fra *H. schizopetalus* for å behandle urinveisproblemer i forbindelse med endokrin sykdom, diabetes og dysenteri hos barn. Sen *et al.* 2011 [10] utførte en etnobotanisk undersøkelse av medisinplanter brukt av det etniske folket i vest- og sørdistriktet av Tripura i India. Undersøkelsen var relativ omfattende og inkluderte 113 medisinplanter fra 56 ulike plantefamilier. Fra denne studien ble det rapportert at *H. schizopetalus* tradisjonelt i dette området var blitt mye brukt for behandling av ferske sår. Plantedelen som lokalbefolkningen brukte var blomstene og bladene og det var også rapportert at ferskt juice fra *H. schizopetalus* blader ble applisert på nydannende sår for å stoppe blødning. Zahid *et al.* 2014 [11] nevnte at ulike plantedeler av *H. schizopetalus* var blitt brukt mot forkjølelse, hosting og feber. I Burma blir fukten fra denne planten brukt som et magestyrkende middel og også som et fuktgivende middel [3].

7.3 Kjemiske substanser

<i>Hibiscus schizopetalus</i> (Dyer) Hook.f.			
	plantedel		
stoffgruppe/ kjemisk substans	blad	blomst	referanse review(r)

flavonoider:			
Cyanidin-3-sambusophorosid		x	[4](r)
triterpenoider	x		[2, 6]
22-hydroksytaraxeryl acetat	x		[4, 12]
22-hydroksytaraxeryl- <i>cis-p</i> -kumarat	x		[4, 12]
steroider	x		[2, 6]
glykosider	x		[2, 6]
tanniner	x		[2]
fenoliske forbindelser	x		[2]
karbohydrater	x	x	[6]
saponiner	x	x	[6]
alkaloider	x	x	[6]
fettsyrer	x	x	[6]

Jose & Vijayan [12] 2006 isolerte to nye triterpen estere fra bladene tilhørende *H. schizopetalus*. Disse var hhv 22-hydroksytaraxeryl acetat og 22-hydroksytaraxeryl-*cis-p*-kumarate.

Pal *et al.* 2011 [2] gjorde fytokjemiske studier av *H. schizopetalus* bladekstrakt via tynnsjikt-kromatografi med hhv kloroform, petroleum og metanol. De viste at ekstrakt med både kloroform og petroleum inneholdt triterpenoider og steroider. Videre inneholdt metanolekstraktet glykosider, tanniner samt andre fenoliske forbindelser, men det ble i studien ikke nevnt hvilke kjemiske substanser disse bestod av.

7.4 Biologisk aktivitet

7.4.1 Antimikrobiell aktivitet

Wong *et al.* 2010 [13] studerte seks ulike *Hibiscus* arter for potensielle antibakteriell- og antioksidant aktivitet, men her viste det seg at denne studien hadde tatt med *H. Schizopetalus* i antioksidanttesten, men planten ble ikke inkludert i den antibakterielle testen.

Zahid *et al.* 2014 [11] studerte hvorvidt metanolekstrakt med blomst og blad fra *H. schizopetalus* hadde inhibitoriske effekter overfor enzymet urease som finnes naturlig i bakterier, sopp og planter. Dette var en *in vitro* studie hvor forskerne hadde ekstrahert og tilberedt en urease-løsning fra jack-bønner. Ekstraktene var ikke testet direkte overfor noen bakteriestammer, men resultatene viste at aktiviteten var sammenlignbar med tiourea som utgjorde standarden [11]. Grunnen til at denne studien ble tatt med i dette avsnittet til tross for at ingen levende bakterier ble testet på var fordi det i utgangspunktet ikke fantes særlig litteratur som omhandlet forholdet mellom *H. schizopetalus* og dets antimikrobielle effekter, men fordi urease er et enzym som er viktig for bakteriell overlevelse i surt miljø [11], indikerer en signifikant inhibitorisk aktivitet mot nettopp dette enzymet at potensialet for eventuelle antimikrobielle egenskaper er tilstedeværende.

Tidligere studier har også vist at *Helicobacter pylori* som ikke er utstyrt med urease ikke er kapabel til å forårsake infeksjon. Enzymet urease blir dermed en forutsetning for at kolonisering kan gjennomføres slik at patogenesen kan iverksettes [11].

7.4.2 Antiinflammatorisk aktivitet

Pal *et al.* 2011 [2] undersøkte for antiinflammatoriske effekter i blad fra *H. schizopetalus* ved karragenan indusert væskeansamling i ekstremiteter hos rotter. Forskerne hadde forberedt tre ulike ekstrakter av blad med hhv kloroform, petroleum og metanol. Testdyrene ble oppdelt i fem grupper hvorav tre av disse fikk administrert 200 mg/kg av de ulike ekstraktene. De to gjenværende gruppene utgjorde kontroll- og referansegruppen som i denne studien var indometacin. Akutt inflammasjon var indusert allerede etter 30 minutter fra injeksjonstidspunktet med 1 % karragenan suspensjon og det ble gjort målinger for hver time i

fire timer. Det ble nevnt at akutt inflammasjon ble ansett for å være en bifasisk respons hvor den tidlige fasen var mediert av histamin og serotonin hvilket gjenspeilte de første to timene, mens senfasen utgjorde de to siste timene av en fire timers periode og var mediert av bradykinin, leukotriener, polymorfonukleære celler samt prostaglandiner fra makrofager. Resultatene viste at samtlige ekstrakter hadde signifikant antiinflammatorisk aktivitet etter fire timer. Metanolekstraktet hadde den mest potente effekten etterfulgt av kloroform med petroleum til slutt, men ingen av ekstraktene hadde bedre effekt enn referansen [2]. Det ble foreslått at den antiinflammatoriske effekten skyldtes en akkumulert tilstedeværelse av flere aktive konstituent, men det ble ikke uttrykt fastslått for hvilke stoffer disse kunne være [2].

7.4.3 Antioksidant aktivitet

Wong *et al.* 2010 [13] undersøkte seks ulike *Hibiscus* arter inkludert *H. schizopetalus* for antioksidant aktivitet. Plantemateriale som ble tatt i bruk under denne studien stammet fra både blomst og blad fra de utvalgte planteartene. Antioksidant aktivitet ble evaluert ut ifra total fenolisk innhold (TPC), total antocyanin innhold (TAC), askorbinsyre ekvivalent antioksidant kapasitet (AEAC), jern-redusering kraft (FRP), chelateringssevne (FIC) og inhibisjon av lipid peroksidering (LPI).

H. schizopetalus ble rangert nest sist blant de seks artene når det kom til antioksidant aktivitet som i denne studien også var korrelert til TPC og AEAC. Bladekstrakt av planten demonstrerte bedre potensial når det gjaldt FIC. Ut ifra dette ble det foreslått at den kjemiske sammensetningen i bladene hadde svakt radikalsøkende aktivitet, men på den andre siden demonstrerte planten at den hadde god evne til å chelatere metaller, hvilket igjen kunne forhindre generering av hydroksyl radikaler via Fenton reaksjonen [13]. De røde blomstene fra *H. schizopetalus* var blant utvalgt plantematerial som hadde høyest TAC. Dette var igjen var relatert til den gode metall chelaterende egenskapen samt evnen til å inhibere lipid peroksidering. Forskerne mente at det her fantes en positiv korrelasjon mellom høy TAC verdier og høye verdier på både FIC og LPI, fordi det viste seg at *Hibiscus* arter som hadde lav TAC utviste lavt eller ingen FIC og LPI, men det ble ikke klart uttrykt for at *H. schizopetalus* hadde noe potensial som antioksidant [13].

Zahid *et al.* 2014 [11] utførte en studie med metanolekstrakt av blomst (HFE) og blad (HLE) tilhørende *H. schizopetalus* for se nærmere på antioksidant aktiviteter i planten. DDPH (1, 1-

difenyl, 2-picrylhydrazyl), et stabilt og fritt radikal som avfarges i oksidativt miljø ble brukt for å bestemme den radikalsøkende aktiviteten med askorbinsyre som standard. HFE hadde sammenlignbare resultater med askorbinsyre, mens HLE hadde den laveste aktiviteten. Derimot hadde begge ekstraktene lignende resultater når det kom til nitrogenoksid (NO), radikalsøkende testen. Her var aktiviteten observert som doseavhengig med maksimum effekt ved 150 µg/ml med inhibisjon av NO på 80.70% og 75.20% for hhv HFE og HLE [11].

7.4.4 Analgetisk- og antipyretisk aktivitet

Zahid *et al.* 2012 [5] gjorde studie med metanolekstrakt av både blomster (HFE) og blader (HLE) tilhørende *H. schizopetalus* for å undersøke hvor vidt disse hadde smertestillende og febernedsettende egenskaper. De ulike ekstraktene ble administrert peroralt til voksne albino rotter ved tre forskjellige konsentrasjoner med hhv 50, 100 og 200 mg/kg kroppsvekt og ingen toksisitet eller mortalitet ble demonstrert ved doser opp mot 5 g/kg kroppsvekt. Resultatene fra to ulike "hale-tilbaketrekning" tester ble registrert etter hhv 30, 60, 90, 120 og 150 minutter etter administrering av planteekstrakt. I den ene testen var halen til rottene eksponert for en varmestråle som konsentrerte seg om et punkt. Under den andre testen ble halen nedsenket i et varmebad på $50 \pm 0,5$ °C. Det var reaksjonstiden for tilbaketrekingen av halen som ble målt. Referansen som ble brukt i denne studien var diklofenak. Det forskerne fant var at begge ekstraktene ga signifikant forlenget reaksjonstid i begge testsystemene etter 30 minutter sammenlignet med kontrollgruppen. Når det gjaldt vannnedsenkningstesten observerte forskerne at den signifikante effekten var konsentrasjonsavhengig sammenlignet med kontroll [5]. Det ble nevnt at halens tilbaketrekningsrespons forårsakes hovedsakelig av algetiske stoffer som er selektivt virkende overfor sentralnervesystemet. Det ble også foreslått at virkningsmekanismen bak den analgetiske effekten i *H. Schizopetalus* ekstrakt muligens samsvarer med virkningsmekanismer for NSAIDs via inhibisjon av enzymet cyklooksigenase som medfører redusert syntese samt frigjøring av prostaglandiner, som igjen fører til redusert sensibilisering av afferente nevroner og dermed har en motvirkende effekt av de algetiske egenskapene til bradykinin og andre smertefremkallende stimuli. Den smertestillende effekten i *H. Schizopetalus* var betraktet for å være sentralvirkende [5].

Denne studien demonstrerte også at planteekstrakt inneholdt aktive komponenter med antipyretiske egenskaper. En subkutan injeksjon med ølgjær ble administrert testdyrene og

det ble målt en markant rektal temperaturstigning 19 timer etterfulgt av injeksjonen. Begge ekstraktene ga signifikant antipyretisk effekt, men det ble observert at responsen fra blomsterekstraktet HFE var doseuavhengig, mens det for bladekstraktet HLE fulgte et doseavhengig mønster med maksimum effekt ved 200 mg/kg kroppsvekt [5]. Feber oppstår når det skjer en forstyrrelse overfor det temperaturregulerende senteret i hypothalamus og er en naturlig regulatorisk funksjon kroppen iverksetter for å skape et miljø hvor infeksionse agens og skadet vev ikke kan overleve [5]. Det ble nevnt at infisert eller skadet vev normalt fremmer produksjonen av proinflammatoriske mediatorer som cytokiner, interleukiner og tumornekrosefaktor α (TNF- α) som igjen øker dannelsen av prostaglandin E2 (PgE2) i nærheten av hypothalamus og dermed trigger det temperaturregulerende senteret, hvilket resulterer i en økt kroppstemperatur [5]. Virkningsmekanismen bak de antipyretiske effektene som ekstraktene demonstrerte ble også her korrelert mot inhibisjon av feberfremkallende prostaglandiner [5]. Referansen som ble brukt i denne testen var legemidlet Aspirin® med virkestoffet acetylsalisylsyre [5].

7.4.5 Antihyperglykemisk og hypolipidemisk aktivitet

Zahid *et al.* 2014 [6] undersøkte for antihyperglykemisk- og hypolipidemisk aktiviteter i *H. schizopetalus*. Til denne studien ble det laget metanolekstrakt fra blomstene og bladene til behandling av alloxan induert diabetes i rotter. Alloxan er celletoksisk overfor insulinsekreterende β -celler i pankreas og er dermed en effektiv diabetesinduserende agens som dermed ofte blir brukt i tester hvor forskjellige dyremodeller er involvert [6].

Oral administrering 100 mg/kg kroppsvekt med begge ekstraktene til normal fastende rotter ga signifikant reduksjon av blodsukker to timer etter inntak. Glukosetoleransetesten viste også en signifikant reversering av forhøyede blodsukkerverdier hvilket var observert allerede 30- og 90 minutter etter administrering av hhv blomst- og bladekstrakt, sammenlignet med kontrollgruppen som i stor grad fikk glukosetoleransen svekket [6]. Hos alloxan-induserte rotter ble det først observert et signifikant forhøyet blodsukker etter at en intraperitoneal injeksjon ble gitt hvorav etterfulgt behandling med begge ekstraktene og tolbutamid som referanse, demonstrerte signifikant prosentvis reduksjon av blodsukker med hhv 59.94%, 45.14% og 35.50% [6]. Det ble foreslått flere virkningsmekanismer for den antihyperglykemiske effekten som var observert. En forklaring var at ekstraktene styrket

effekten av insulin ved å stimulere til økt insulinfrigjøring fra β -cellene i pankreas. Andre mulige forklaringer var at ekstraktene effektiviserte utnyttelsen av perifer glukose ved å stimulerer til økt glykolyse og glykogenese med samtidig redusering av glykogenolyse samt glukoneogenese [6]. Det som var interessant var at blomsterekstraktet tilsynelatende var mindre effektiv enn bladekstraktet med tanke på den antihyperglykemiske aktiviteten hvilket tilsier at den aktive fraksjonen i de to ekstraktene skiller seg fra hverandre på en måte som kan ha betydning for den biologiske effekten. Muligheten for at det foreligger en synergistisk effekt ble også nevnt [6].

Det ble også foretatt målinger av vektforandringer gjennom en periode på 7 dager og behandling med ekstraktene viste ingen økning i kroppsvekt hos rottene. Det ble nevnt at vekttap og diabetes henger sammen ved at glukose ikke er tilgjengelig for cellene som i stedet må tappe kroppen for alternative proteiner for å kunne produsere energi, og at eksessiv nedbrytning av vevsproteiner konsekvent vil resultere i vekttap [6].

Når det gjaldt den hypolipidemiske effekten var det kun *H. schizopetalus* blomsterekstrakt og referansen tolbutamid som demonstrerte en signifikant kolesterolsenkende effekt sammenlignet med både kontrollgruppen og gruppen som fikk administrert bladekstrakt hvor ingen nevneverdig effekt var observert. Derimot ga begge ekstraktene signifikant reduksjon når det kom til triglyseridverdier sammenlignet med kontroll [6]. Det ble foreslått at den hypolipidemiske effekten som ble observert muligens var relatert til reduksjon av blodsukker, enten direkte eller indirekte. En mulig forklaring som ble nevnt var at den høye unormale konsentrasjonen av serumlipider forbundet med *Diabetes mellitus* skyldes perifer deponering av frie fettsyrer pga at den inhibitoriske effekten som insulin har overfor lipaseenzymene ikke er tilstedeværende i like stor grad ved sukkersyke, og at man som følge av dette får en markant økt fettsammensetning i blodet siden hormoner som stimulerer lipolysen forblir uhemmet [6]. Forskerne mente her at *H. schizopetalus* kan ha potensial som terapeutisk agens for behandling av *diabetes mellitus*, men at flere studier er nødvendig for å avklare virkningsmekanismer og eventuelt hvilke aktive substanser som står bak [6].

7.5 Toksikologiske studier

Informasjon vedrørende toksisitet blir beskrevet sammen med studiene hvor dette blir omtalt. Dette er gjort av praktiske grunner mest fordi det generelt finnes svært få studier som

utelukkende omhandler toksisitet og at denne type informasjon fremgår som nokså beskjeden i de studiene hvor toksisitet blir nevnt.

7.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet.

7.7 Konklusjon

Det var meget lite vitenskapelig litteratur tilgjengelig som kunne underbygge den tradisjonelle bruken. Riktignok er det blitt gjort lovende studier vedrørende antiinflammatoriske- og hyperglykemiske effekter som kunne ha forklart at planten tradisjonelt er blitt brukt mot feber og ved diabetes, men det er nok for lite for oss til å kunne konkludere noe konkret om den biologiske effekten. Jeg fant ingen studier som kunne validere den tradisjonelle bruken i Burma der frukten blir påstått for å ha magestyrkende egenskaper, og heller fant jeg ingen studier om at frukten kan brukes som mykgjørende. Her er nødvendig med flere relevante studier for at den burmesiske tradisjonelle bruken kan bekreftes. Flere studier er også ønsket for å kunne avklare aktive substanser og deres virkningsmekanismer.

7.8 Referansliste:

1. The Plant List.
URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2850485>. 2015.05.12.
2. Pal, S., Sarkar, J., Bhattacharya, S., Biswas, M.: Thin layer chromatographic studies and assessment of anti-inflammatory of Hibiscus schizopetalus leaf extracts in rats. *Pharmacologyonline Newsletters*, **2** (2011), 1431-1436.
3. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
4. Lim, T.K.: *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*. Springer, **9**, (2014), 371-373.
5. Zahid, H., Rizwani, G.H., Shareef, H., Ahmed, M., Hina, B.: Analgesic and antipyretic activities of Hibiscus schizopetalus (Mast.) Hook. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4**(3), (2012), 218-221.
6. Zahid, H., Rizwani, G. H., Shareed, H., Khursheed, R., Huma, A., Hasan, S.M.: Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of Hibiscus schizopetalus (Mast) Hook in alloxan-induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **27**, (2014), 83-89.
7. Pixshark.
URL: <http://pixshark.com/japanese-lantern-hibiscus.htm>. 2015.05.12.
8. Holdsworth, D.K., Hurley, C.L., Rayner, S.E.: Traditional medicinal plants of New Ireland, Papua New Guinea. *Pharmaceutical Biology*, **18**(3), (1980), 131-139.
9. Rahmatullah, M., Kabir, A.A.B.T., Rahman, M., Hossan, S., Khatun, Z., Khatun, A., Janan. R.: Ethnomedicinal practices among a minority group of Christians residing in Mirzapur village of Dinajpur District, Bangladesh. *Advances in Natural and Applied Sciences*, **4**(1), (2010), 45-51.
10. Sen, S., Chakraborty, R., De, B., Devanna, N.: An ethnobotanical survey of medicinal plants used by ethnic people in West and South district of Tripura, India. *Journal of Forestry Research*, **22**(3), (2011), 417-426.
11. Zahid, H., Eizwani, G.H., Shareef, H., Ali, S.T.: Antioxidant and urease inhibition activity of methanol extract of Hibiscus schizopetalus (Mast) Hook. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **2**(6), (2014), 07-11.
12. Jose, E., Vijayan, K.: New taraxerane esters from Hibiscus schizopetalus leaves. *Indian Journal of Chemistry. Section B: Organic Chemistry, Including Medical Chemistry*, **45**(5), (2006), 1328-1331.

-
13. Wong, S., Lim, Y., Chan, E.: Evaluation of antioxidant, anti-tyrosinase and antibacterial activities of selected Hibiscus species. *Ethnobotanical Leaflets*, **2010**(7), 2010, 9.

8 *Hibiscus vitifolius* L.

8.1 Beskrivelse

Hibiscus vitifolius L. er det aksepterte navnet ifølge The Plantlist til en planteart i *Hibiscus* slekten tilhørende plantefamilien *Malvaceae* [1]. *H. vitifolius* er en ettårig eller toårig urtelignende busk som finnes viltvoksende i jungel eller krattskog fordelt over Indias varmere landområder og er også kjent som "bharadwaji" og "bankapas". Planten blir i noen verdensdeler også dyrket og avlet som fiber [2]. Planten har en bred distribusjon, men konsentrerer seg om de varmere tropiske områder av India, Afrika og Australia [3]. Andre navn som tildeles denne planten er også *Japa* og *Karupatti* [4]. Planten kan vokse i varierende jordsmonn og kan tolerere å leve i vannmettet jord til en viss utstrekning. Karakteristisk for planten er mange forgreninger helt nederst ved hovedstammen som er hard og grovt tildekket med små hår. *H. vitifolius* har grønne blader [3]. Blomstene kan bli funnet i mangfold under perioder av året hvor landskapet er vått og de er svovelgule i fargen og har røde flekker ved bunnen av ringblomstene [5].



Figur 16 viser et bilde av *H. vitifolius* [6].

8.2 Tradisjonell bruk

Ekstrakt av *H. vitifolius* har tradisjonelt i India blitt bruk til behandling av gulsott som assosieres med leverskade. Roten er rapportert for å være brukt til behandling mot hodelus, betennelse og pulserende fremre fontanelle. Blomstene har hatt anvendelse mot betennelse, hypoglykemi, bakteriell behandling og gynekologiske plager [2]. *H. vitifolius* er også tradisjonelt blitt anvendt mot diabetes, gulsott og betennelse [4, 7]. Steenkamp 2003 [8] rapporterte at *H. vitifolius* var i bruk i Sør-Afrika til behandling i forbindelse med infertilitet. I Burma blir frukten brukt som et middel som skal være bra for magen [9].

8.3 Kjemiske substanser

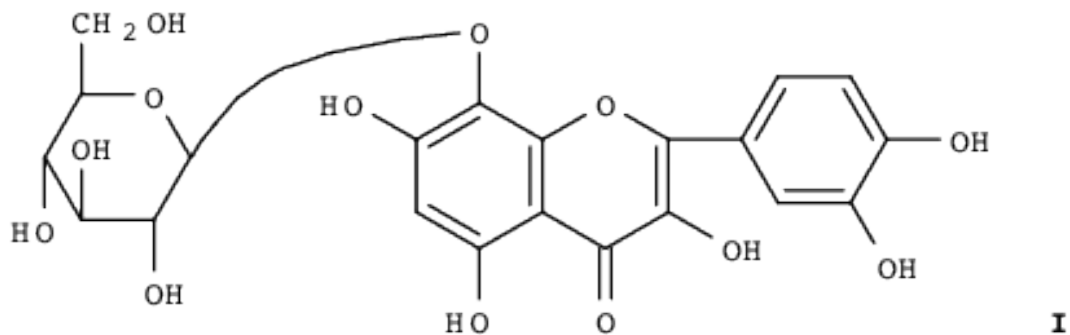
<i>Hibiscus vitifolius</i> L.			
	plantedel		
stoffgruppe/ kjemisk substans	rot	blomst	referanse review(r)
flavonoider			
gossypin	x	x	[2, 10, 11]
kaempferol	x		[10]
quercetin	x		[10]
triterpenoider			
β -amyrin			[8]
β -amyrin acetat	x		[8]
betulinsyre	x		[8]
metyl 27-caffeoyloxyoleanolat	x		[10]
oleanolsyre			
alkaloider			
vitiquinolon			[8]

steroler			
β-sitoterol	x		[2]
stigmasterol	x		[8]
β-sitosterol-3-O-β-D-glukopyranosid	x		[10]
kumariner			
xanthyletin	x		[8]
alloxanthoxyletin	x		[8]
xanthoxyletin	x		[8]
glykosider			
hibifolin	x		[2]
kaempferol-3-O-α-D-rhamnopyranosid	x		[10]
quercetin-3-O-β-D-glukopyranosid	x		[10]
karbohydrater			
askorbinsyre	x		[2]
andre fenoliske forbindelser			
magniferin	x		[10]
alkoholer			
η-octacosanol	x		[8]

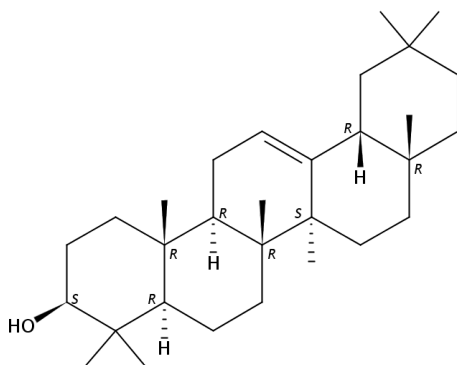
Samuel *et al.* 2012 [2] viste fra foregående fytokjemiske analyser at *H. vitifolius* rotekstrakt inneholdt proteiner, steroler, glykosider, fettstoffer, tanniner, triterpenoider, polysakkarider og flavonoider. En kvantitativ estimering av pulverisert materiale av roten viste tilstedeværelse av 0,52% askorbinsyre, 8,32% β-sitosterol, 0,73% fenoler, 0,18% kalsium, 58,62% karbohydrater og 8,14% totale frie aminosyrer.

Ramasamy *et al.* 2013 [8] isolerte for første gang et nytt kinolon alkaloid kalt vitiquinolon fra pulverisert rotekstrakt fra *H. vitifolius* sammen med 8 andre allerede kjente forbindelser som er hhv β -amyrin acetat, *n*-octacosanol, β -amyrin, stigmasterol, xanthyletin, alloxanthoxyletin, xanthoxyletin og betulinsyre.

Ramasamy *et al.* 2013 [10] isolerte også for første gang med etanolekstrakt fra *H. vitifolius* roten et nytt triterpenoid kalt metyl 27-caffeoyloxyoleanolat, sammen med åtte andre kjente forbindelser herunder oleanolsyre, kaempferol, quercetin, β -sitosterol-3-O- β -D-glukopyranosid, kaempferol-3-O- α -D-rhamnopyranosid, gossypin, quercetin-3-O- β -D-glukopyranosid og magniferin.



Figur 17 viser den kjemiske strukturen av gossypin [12].



8.4 Biologisk aktivitet

8.4.1 Antimikrobiell aktivitet

Nazir *et al.* 2013 [14] rapporterte at β -sitosterol, et plantesterol som er blitt funnet i *H. vitifolius* hadde antimikrobielle egenskaper overfor bakteriene *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* og soppen *Aspergillus niger*. Ut ifra en review undersøkelse gjort av Vazquez *et al.* 2012 [15] har β -amyrin, en annen aktiv forbindelse også funnet i *H. vitifolius* vært rapportert å ha både antimikrobielle og antiinflammatoriske egenskaper

8.4.2 Leverbeskyttende aktivitet

Gautam *et al.* 2007 [16] evaluerte histologiske undersøkelser av lever fra sennepsgass-indusert toksisitet i mus 7 dager etter at de var eksponert for den toksiske gassen og fant ut at gossypin hadde leverbeskyttende egenskaper i de tilfellene det ble administrert 30 minutter før eller samtidig som sennepsgass (SM) eksponering, mens testdyrene som ikke ble behandlet med gossypin hadde fått utvist nekrose med alvorlig degenerering og sammenklumping av cytoplasma. Lesjonene var minimale i gossypingruppen [16]. Leverbeskyttelse var fraværende i de tilfellene hvor gossypin ble gitt to timer i etterkant av SM eksponering [16].

Samuel *et al.* 2012 [2] undersøkte for leverbeskyttende egenskaper hos albino rotter med ulike ekstrakter fra *H. vitifolius* rot overfor en kombinasjon av antituberkulær legemiddelindusert leverskade som bestod av isoniazid 7,5mg/kg, rifampicin 10mg/kg og pyrazinamid 35mg/kg. Denne kombinasjonen av antituberkulær legemidler (HPTM) følger en veletablert modell i animalske studier fordi den levertoksiske kombinasjonen produserer varierende grader av leverskader inkludert sentrilobulær nekrose, proliferasjon av leverceller samt undertrykkelse av endogent antioksidant system. Det er blitt foreslått at hepatotoksitet medieres via isoniazid-metabolitter som bindes kovalent til makromolekyler uttrykt på hepatiske celler og at den følgende leverskaden manifesteres som hepatocellulær steatose og sentrilobulær nekrose [2].

Det ble fremstilt fire rotekstrakter hhv petroleumseter, kloroform, metanol og vann hvorav ingen av ekstraktene hadde toksiske effekter for konsentrasjoner opp mot 2000mg/kg. Verken mortalitet eller toksiske symptomer ble observert i løpet av hele studien [2]. Standarden som ble brukt i denne studien var legemidlet silymarin. Blant ekstraktene var det metanol rotekstrakt som demonstrerte sammenlignbare resultater med referansen, mens petroleumseter- og kloroformekstrakt hadde ingen leverbeskyttende egenskaper.

Økte nivåer for ulike serum leverenzymmer fungerer som diagnostiske indikatorer ved vurdering av hvorvidt det foreligger en leverskade som følge av lekkasje fra hepatisk vev [2]. Metanolekstraktet viste signifikante forskjeller i alle parameterne som ble målt, og det ble observert en signifikant reduksjon i nivåer for serum aspartat aminotransaminase (AST), alanin aminotransferase (ALT), alkalisk fosfatase (ALP), laktat dehydrogenase (LDH), total og direkte albumin, og samtidig som det også var observert økte verdier for total kolesterol (TC), total protein (TP) og albumin [2]. Det faktum at disse verdiene ble tilbakeført nesten nært opp mot normale verdier etter behandling med ekstrakt tydet på en leverbeskyttende effekt. Det ble foreslått at metanolekstraktet muligens hadde aktive stoffer som direkte fremmet en redusert vevsskade hvilket var sammenlignbar med silymarin [2]. Videre ble det nevnt at gulsott er en kjent konsekvens av økt serum bilirubin, et fenomen som også ble observert under denne studien. Det ble også observert markant nedsatte verdier av TC, TP og albumin i serum. I tillegg er det i forbindelse med kronisk leversykdom forventet et fall i serum kolesterolnivå ledsaget med depresjon av hepatisk proteinsyntese [2]. Alt dette sammenfalte med de observasjonene som ble gjort overfor kontrollgruppen som kun fikk HPTM-indusert leverskade. For de to gruppene som fikk hhv standarden silymarin og metanol rotekstrakt ble alle de ovenfornevnte parameterne normalisert [2].

Homogenisert levermateriale avslørte signifikant økning i nivåer for total protein, fosfolipider og glykogen samtidig som nivåer for total lipider, triglyserider og kolesterol falt tilbake til normale verdier sammenlignet med kontrolldyrene [2]. Alt dette tydet på at metanol rotekstraktet av *H. vitifolius* kunne reversere de skadelige effektene HPTM utøvet overfor det hepatiske systemet. Det ble også nevnt at HPTM kunne interferere med hepatiske fosfolipider samt proteinsyntesen for øvrig, hvilket samsvarte med de observasjonene som ble gjort overfor testgruppen som ikke ble behandlet med planteekstrakt. Forskerne mente at dette var en indikasjon for at *H. vitifolius* hadde et leverbeskyttende potensial [2]. Videre så forskerne også på hepatiske glykogennivåer som var uttømt pga HPTM indusert leverskade. Det ble foreslått at en mulig forklaring for uttømming av hepatisk glykogenlager var at HPTM førte med seg en stigning i fritt kalsium som igjen kunne medføre en økt mobilisering av glykogen.

Denne utviklingen ble betraktelig reversert etter behandling med metanolekstrakt og en forklaring ble foreslått om at ekstraktet måtte inneholde aktive komponenter som kunne stimulere hepatocytene til å konvertere mer glukose over til glykogen. Lignende resultater ble også observert for standarden silymarin og for vannekstraktet, men her var effekten noe svakere [2].

En histologisk undersøkelse av seksjoner fra leveren viste en signifikant reduksjon av nekrose samt fettansamling for testdyrene som hadde fått administrert rotekstrakt av *H. vitifolius*. Kontrolldyrene som ikke fikk administrert rotekstrakt hadde fått markant blokkering av sentrale vener, utstrakt vevsnekrose, forandringer av fettsammensetning og cellulær inflammasjon, mens testgruppen som fikk ekstrakt hadde i større grad redusert fått område med nekrotisert vev samtidig som det var observert fravær av inflammatorisk infiltrat. Lignende, men svakere effekter hadde også vannekstraktet mens petroleumseter- og kloroformekstrakt utviste ingen nevneverdige effekter. For standarden silymarin var nekrotisering totalt fraværende [2]. Avslutningsvis i studien ble det nevnt at alle disse degenerative hendelsene er karakteristiske trekk ved histologiske undersøkelser av skadet lever, og det faktum at metanol rotekstrakt fra *H. vitifolius* kunne reversere den degenerative utviklingen kunne bare ha vært mulig ut ifra en akkumulert beskyttende egenskap som fantes i ekstraktet. Av studien ble denne egenskapen tildelt tilstedeværelsen av flavonoidene og forskerne mente at resultatene ga tilstrekkelig bevis for at metanolekstraktet har leverbeskyttende egenskaper [2].

Samal 2013 [17] utførte studie med alkohol bladekstrakt fra *H. vitifolius* for å undersøke leverbeskyttende egenskaper overfor karbontetraklorid (CCl₄) industert levertoksisitet i rotter og rapporterte at ekstraktet hadde leverbeskyttende egenskaper. Biokjemiske markører hhv SGOT, SGTP, ALP og total bilirubin for levertoksisitet ble evaluert og det ble observert at ekstraktet kunne reversere endrede verdier industert av CCl₄ nesten tilbake til den normale utgangstilstanden.

8.4.3 Antiinflammatorisk aktivitet

Parmar *et al.* 1978 [12] undersøkte for antiinflammatoriske effekter av gossypin ved å sammenligne aktiviteten med fenylbutazon, et ikke steroid antiinflammatorisk middel

(NSAIDs). De utførte ulike eksperimentelle modeller for både inflammasjon og vaskulær permeabilitet og fant var at gossypin signifikant reduserte ødemer og den økte membranpermeabiliteten som ble induisert av ulike inflammasjonsfremkallende stoffer. I tillegg demonstrerte gossypin en signifikant inhibisjon av akkumulert væskeansamling i rekto-livmor posen og dannelsen av granulasjonsvev overfor karragenan-induserte rotter. Det ble foreslått at denne effekten muligens skyldes den reduserte dannelsen av kollagenfibre [12]. Migrasjon av leukocytter og dannelsen av pleuralvæske ble også redusert hos rotter som fikk forbehandling med gossypin og gossypin visste seg også å være effektiv mot leddgikt. Totalt sett var gossypin mindre potent i forhold til fenylobutazon, men på den andre siden hadde gossypin en bedre sikkerhetsprofil [12].

Gautam *et al.* 2007 [16] studerte beskyttende egenskaper av gossypin overfor sennepsgass-indusert (SM) toksisitet og nevnte at en antiinflammatorisk effekt muligens stod bak som forklaring overfor den beskyttende effekten som ble observert. Det ble herunder nevnt en mulig mekanisme om at SM frigjorde arakidonsyre som var den første hendelsen i en inflammatorisk respons i kroppen og fordi gossypin fra tidligere studier har blitt rapportert å interferere inhibitorisk med arakidonsyremetabolismen kunne nettopp denne inhibitoriske aktiviteten være blant mekanismene for hvordan flavonoider generelt utøver antiinflammatoriske effekter [16].

8.4.4 Antiallergisk aktivitet

Ganapaty *et al.* 2010 [18] studerte effekten av gossypin overfor mastcelle mediert allergi modell. Gossypin (3,5,7,3,4-pentahydroksy-8-*O*-glukusid), et flavonoid funnet naturlig i ulike plantearter tilhørende *Malvaceae* familien.

Mastcelle medierte responser er involvert i sykdommer som ofte er forbundet med allergi, astma, allergisk rhinitt og bihulebetennelse. Ved mastcellestimulering initieres en degranulering prosess som resulterer i frigjøring av mediatorer som histamin og en rekke andre inflammatoriske cytokiner. Mastceller genererer i tillegg intracellulært reaktive oksygen spesier (ROS) hvilket kan ha betydning for histaminfrigjøring. Histamin vil igjen kunne påvirke modningsprosessen av immunceller og forandre aktivering av disse [18].

I denne studien ble systemisk anafylaksi induisert hos mus ved bruk av en kjemisk forbindelse kalt ”forbindelse 48/80”, en mastcelle degranulator som har vært brukt i mange modeller for å studere anafylaktiske mekanismer. Forbindelse 48/80 ble administrert via en intraperitoneal injeksjon i doser på hhv 10, 20, 40 og 60mg/kg kroppsvekt og dinatriumkromoglikat (DSCG) var brukt som standard administrert med 10mg/kg kroppsvekt. Gossypin ble ekstrahert og isolert fra blomstene til *H. vitifolius* og ekstraksjonen endte i et krystallinsk gult stoff. Testdyrene bestod av hhv mus og rotter, som ble benyttet i ulike tester. Hensikten var å vurdere ekstraktets innvirkning på forskjellige allergi medierte parametrene [18]. Resultatene viste at forbindelse 48/80 ga 100% mortalitet i fravær av gossypinbehandling, men for gruppen som fikk administrert gossypin i tillegg til forbindelse 48/80 kunne forskerne observere en konsentrasjonsavhengig beskyttelse. Standarden ga 80% beskyttelse sammenlignet med kontrollgruppen [18].

Ved vurderingen av den mastcellestabiliserende aktiviteten var gossypin og DSCG administrert med samme konsentrasjoner som nevnt ovenfor, men denne gangen gitt til rotter fem dager før mastcelleprøvene ble innsamlet fra peritonealvæsken og videre inkubert sammen med forbindelse 48/80 ved 37°C i ti minutter. Mastcellene ble så avfarget med 0.1% toluidin blå og den prosentvise beskyttelsen var bestemt ved hjelp av et høy-kraft mikroskop. Forskerne fant en signifikant doseavhengig beskyttelse av mastcellene overfor degranulering, men også overfor aktivering av disse [18]. Ved bestemmelsen om hvorvidt gossypin påvirket histaminfrigjøring i blod var gossypin gitt til rotter fem dager i forkant før blodprøver var innsamlet. Igjen var gossypin og standard administrert ved de ovenfornevnte konsentrasjoner. Blodprøvene ble så behandlet med forbindelse 48/80 1µg/ml og histamin innholdet i den ferdiglagde prøven ble bestemt via fluorescens målinger. Det de fant var at både gossypin og standard hadde en konsentrasjonsavhengig effekt mot forbindelse 48/80-indusert histaminfrigjøring [18].

Denne studien undersøkte også om hvorvidt gossypin hadde en kløestillende effekt. Det er jo velkjent at kløe er et symptom som ofte er forbundet med allergi. Her fikk mus administrert 3mg/kg med forbindelse 48/80 via en subkutan injeksjon på baksiden av nakken for å inducere kløe og igjen ble gossypin og standard administrert med de samme dosene som for anafylaksi testen, og begge gitt en time før administrering av forbindelse 48/80. Det forskerne målte var antall ganger dyrene begynte å klø seg både på injeksjonsstedet, men også på kroppen for øvrig. Det de fant var at antallet hendelser hvor dyrene måtte klø seg var signifikant redusert i gruppen som fikk administrert gossypin sammenlignet med

kontrollgruppen. Det ble observert at den kløestillende effekten også var konsentrasjonsavhengig, men sammenlignbar med standard [18].

Det kom videre frem av denne studien at NF- κ B (nukleær faktor kappa-lettkjede-enhancer av aktiverte B-celler) var en meget viktig transkripsjonsfaktor både for iverksettelse og opprettholdelse av betennelsesreaksjoner via modulering av flere pro-inflammatoriske mediatorer, inkludert TNF- α (tumornekrosefaktor alfa) og IL-6 (interleukin 6). Videre ble det nevnt at eksessivt genuttrykk og aktivering av disse kjernefaktorene var en respons overfor histaminfrigjøring gjennom degranulering av mastceller hvilket førte til allergiske reaksjoner [18]. I tillegg kom det frem at mastceller på forhånd lagret TNF- α i cytoplasmatiske granuler som da frigjøres sammen med histamin og dermed kunne ha en sentral rolle i tidlig fasen av en betennelse. Det ble foreslått at gossypin muligens utøvde en inhibitorisk effekt ved å være involvert i nedreguleringen av NF- κ B, TNF- α og IL-6 [18]. Forskerne nevnte at tidligere studier som var blitt gjort med aktive plantekonstituenten har vist antiallergisk aktivitet mot forbindelse 48/80, med hensyn til degranulering av mastceller via inhibisjon av selve histaminfrigjøring og stabilisering av mastcellemembraner. Det ser også ut til at gossypin har en lignende effekt ved å stabilisere lipidlaget i cellemembranen for så kunne hemme G-protein aktivering og histaminfrigjøring hvorav eksessivt frigjøring av histamin fører til dannelse av ROS som igjen kan lede til lipidperoksidering og oksidativt stress [18].

8.4.5 Kardiovaskulær og hypoglykemisk aktivitet

Venkatesan *et al.* 2012 [19] undersøkte for antidiabetisk aktivitet av gossypin overfor streptozotocin (STZ)-indusert eksperimentell diabetes i rotter. Flavonoider har blitt rapportert å ha en vesentlig rolle i et spekter av fysiologiske funksjoner inkludert inhibisjon av blodplateaggregering, vasodilatasjon, promotering av fibrinolyse, inhibisjon av LDL (low-density lipoprotein) oksidering, immunmodulerende, antiinflammatorisk, antiallergisk, antiviralt, antitumor og antikarsinogent. I tillegg har flavonoider antioksidant aktivitet som beskytter mot oksidativt stress og dermed forsinker eller forhindrer utvikling av fri radikalmedierte sykdom [19]. Gossypin er fra tidligere studier blitt rapportert for å ha antioksidant egenskaper, samt kolesterolsenkende aktivitet og NF- κ B inaktivering. Ut ifra dette antok forskerne at dette flavonoidet også muligens kunne ha modulerende egenskaper overfor diabetes.

Diabetes var induisert med en enkel dose STZ gitt i 50mg/kg via en intraperitoneal injeksjon og observasjoner ble gjennomført i tre påfølgende dager for å registrere dødelighet og andre bivirkninger blant testdyrene. Fordi STZ kunne forårsake alvorlig hypoglykemi gjennom massivt frigjøring av insulin fra pankreas fikk rottene administrert en 10% glukoseløsning fra 6- til 30 timer etter injeksjonen for å øke overlevelsen. Gossypin behandlingen startet dag 4 som i studien ble regnet som den dagen 1 av et 30 dagers eksperimentet [19]. Toksitetetsvurdering av gossypin viste at en konsentrasjon på 2g/kg resulterte i verken dødsfall eller bivirkninger hvilket var en sterk indikasjon for at gossypin ikke er toksisk [19]. Det de fant var at peroral administrering av gossypin med hhv 20, 50 og 100mg/kg til diabetiske rotter ga doseavhengige effekter som resulterte i en reversering av redusert glukosetoleranse. Økte verdier av blodglukose og HbA1c nivåer som konsekvens av at fastende rotter fikk administrert en enkel dose med glukose på 2g/kg via oral glukose toleransetest (OGTT) ble signifikant reversert tilbake til normale verdier. Ubehandlete rotter fikk en maksimal blodsukker verdi etter 60 minutter fra tidspunktet da glukose ble gitt og blodsukker verdien falt heller ikke tilbake til basale verdier i løpet de neste 60 minutter. Sammenlignet med gossypinbehandling og standard ble det observert at blodsukker verdien falt signifikant tilbake til basale verdier i løpet av de neste 60 minuttene, totalt 120 minutter fra tidspunktet for administrering av glukose 2g/kg [19]. OGTT er et mål for hvor effektivt glukose blir utnyttet i et biologisk system og utgjør en god pekepinn ved diagnostisering av tidlig fase diabetes hvor nedsatt glukosetoleranse ofte er med i bildet som en respons på redusert opptak av perifer glukose i vev, spesielt gjelder dette skjelettmuskulaturen. STZ-indusert diabetes resulterte i vekttap hos rottene gjennom hele testperioden, og behandling med gossypin forbedret glukosetoleransen og dermed ga signifikant vektøkning i forhold til kontroll [19].

HbA1c dannes via en irreversibel kovalent binding mellom sirkulerende glukose og hemoglobin i fravær av enzymaktivitet. HbA1c brukes ved individuell vurdering av risikoen for å utvikle diabetes hvorav HbA1c konsentrasjonen reflekterer individets gjennomsnittlige blodsukkernivå over en periode på 2-3 måneder [19]. Økte verdier av HbA1c som ble observert overfor rotter som fikk STZ-indusert diabetes fikk nesten en tilbakevending til normale verdier etter gossypinbehandling. Det ble foreslått at dette muligens skyldes restaurering av blodsukker som igjen medførte en lavere intensitet i forhold til glykosylering av hemoglobin [19]. Eksessiv glukose blir omdannet til glykogen og fungerer hovedsakelig som et energilager i lever og skjelettmuskulatur [19]. Forskerne observerte videre at glykogeninnhold i leveren var signifikant forbedret etter at rottene fikk behandling med

gossypin. Dette var en indikasjon for at gossypin forbedret både utnyttelse og lagring av glukose. I tillegg til dette var verdier for plasmaproteiner og blodurea var tilnærmet normalisert [19].

Resultatene fra denne studien var sammenlignbar med standarden som var gliclazide. Den hypoglykemiske effekten var signifikant selv om det ikke forelå signifikante forskjeller mellom de administrerte dosene [19]. Dette var noe motstridene med tanke på at effekten ble funnet å være doseavhengig. Det ble foreslått av studien at virkningsmekanismen bak antihyperglykemiske effekten muligens kunne skyldtes flavonoid-mediert beskyttelse for det ble nevnt at oksidativt stress overfor pankreatiske β -celler blir i større grad problematisk sammenlignet med andre celler nettopp fordi β -cellene er utstyrt med det svakeste iboende antioksidantforsvaret sammenlignet med andre typer celler [19]. Fordi behandling med gossypin reverserte den svekkende insulinaktiviteten kunne det tenkes at dette ble mediert gjennom oksidativt forsvar av de pankreatiske β -cellene [19].

β -sitosterol er en annen kjemisk substans som er blitt funnet fra røttene til *H. vitifolius*. Denne substansen har ut ifra andre studier vært rapportert å ha biologiske effekter. Ganapathy *et al.* 2014 [20] rapporterte at β -sitosterol hadde kardiobeskyttende egenskaper hvilket var observert i dyrestudier med rotter. Kim *et al.* 2014 [21] har også rapportert at β -sitosterol opphevet skadelige effekter av høifettdiett induisert inflammasjon i tarm fra mus.

β -amyrin er en annen kjemisk forbindelse som har vært isolert fra rot tilhørende *H. vitifolius*. Nair *et al.* 2014 [22] har rapportert at β -amyrin har anti-hyperglykemiske effekter i både alloxan- og streptozotocin induisert diabetes i rotter. Det ble foreslått at denne mekanismen trolig var mediert via blokkering av glukoseopptak fra tarmen og forskerne mente at denne substansen har potensial til å bli videreutviklet som et fremtidig legemiddel mot diabetes.

8.4.6 Nevrobeskyttende aktivitet

Oksygen er absolutt nødvendig for at en levende organisme skal kunne opprettholde viktige biologiske funksjoner, men når oksygentilførselen blir større enn det som normalt finnes i luft kan oksygen gå over til å bli toksisk [11]. Høye konsentrasjoner av oksygen kan generere produksjonen av ROS som utgjør sentrale mediatorer i forbindelse celledskade, men også

celledød. Disse radikalene kan enten direkte eller indirekte være involvert i kliniske sykdommer som f.eks. nevrodegenerativ sykdom, kreft og aterosklerose [11].

Chandrashekar *et al.* 2013 [11] undersøkte for nevrobeskyttende egenskaper av gossypin mot global cerebral iskemi i rotter. I denne studien var gossypin ekstrahert fra ferske blomster av *H. vitifolius*. Indusert iskemi i testdyrene førte til økt lipidperoksidering uttrykt i form av økt tiobarbitursyre-reaktive substanser (TBARS) samtidig som det også ble observert en signifikant reduksjon i aktivitet av antioksidant enzymer som superoksid dismutase og katalase noe som indikerte at den induserte iskemien hadde ført til hjerneskade forårsaket av oksidativt stress [11]. Nivået for lipidperoksidase aktivitet er et mål på membranskade så vel som membran strukturforandringer og funksjonsendringer. Den signifikante reduksjonen av lipidperoksidering tydet på at gossypin utøvte en radikalsøkende effekt [11]. Det de fant var at gossypin demonstrerte en doseavhengig nevrobeskyttende aktivitet sett ut ifra en signifikant reduksjon av lipidperoksidering samtidig som det også ble observert en økning av endogene antioksidant enzymer som superoksid dismutase, katalase. Økningen i aktivitet av SOD og KAT var signifikant og sammenlignbar med normal kontrollgruppe. Lignende resultater ble også observert for glutation og total tioler hvor iskemisk induksjon først førte til en reduksjon av disse parameterne for så å bli signifikant reversert av gossypinbehandling. Glutation er betraktet for å være en meget sentral komponent for kroppens antioksidant forsvar hvorav GSH beskytter cellene direkte via detoksifisering av ROS eller ved å være substrater for varierende peroksidaser. Et dysfunksjonelt GSH system har vært forbundet med en rekke nevrodegenerative sykdommer som ofte assosieres med oksidativt stress [11]. Histologiske undersøkelser av hjernen avslørte at gossypin beskyttet mot nevrodegenerativ skade ved at områdene som hadde synlige tegn til hjerneslag var betraktelig mindre med behandling av gossypin [11]. Det har blitt foreslått fra tidligere studier at gossypin muligens utøvde denne beskyttelsen gjennom inhibisjon av xantin oksidase. Under iskemisk tilstand øker cellenes ATP forbruk, hvilket fører til akkumulering av purin katabolittene hypoxantin og xantin som ved en etterfølgende perfusjon med innfluks av oksygen blir metabolisert av xantin oksidase hvorav det blir dannet enorme mengder av superoksid radikaler og hydrogen peroksid radikaler [11].

8.4.7 Antioksidant aktivitet

Gautam *et al.* 2007 [16] undersøkte for beskyttende egenskaper av gossypin mot eksponering av sennepsgass (SM) overfor mus. SM, bis(2-kloroetyl) sulfid er et alkyliserende agens som kan forårsake blødder ved kontakt med huden. SM danner sulfonium ion i kroppen som medfører alkylisering av DNA med etterfulgt ødeleggelse og celledød. Mekanismen for dette kan skyldes sterke elektrofile egenskaper hos sulfonium ionet som binder seg til forskjellige makromolekyler. Øyne, hud og det respiratoriske systemet er hovedsakelig målorganene som er mest utsatt for SM toksisitet [16]. En annen mekanisme som ble nevnt var at SM toksisitet baserer seg på uttømming av redusert GSH og som en konsekvens av dette medfører generering av frie radikaler og lipidperoksidering [16]. I denne studien presiseres det at gossypin ikke ble uttrykkelig sagt for å ha vært ekstrahert fra *H. vitifolius*, men det ble nevnt at gossypin var en kjemiske forbindelse som man ofte finner i *Hibiscus* familien inkludert *H. vitifolius* [16]. Studien blir likevel omtalt nettopp fordi gossypin ser ut til å være et av de mest sentrale substansene i *H. vitifolius* med hensyn til biologisk aktivitet.

Gossypin administrert intraperitonealt ble evaluert med konsentrasjoner på hhv 50, 100, 200 og 400 mg/kg og gitt via tre ulike transportmidler herunder vann, polyetylen glykol (PEG-300) og dimetylsulfoksid (DMSO). Tidsintervallene ble bestemt til 30 minutter før, samtidig og to timer etter. Beskyttelsen av gossypin ble bestemt ut ifra evaluering av selektive biokjemiske variabler som var assosiert med oksidativt stress. Peroral beskyttelse av gossypin ble også evaluert mot perkutant administrering av SM [16]. Det de fant var at beskyttelsen mot systemisk toksisitet av SM ved LD₅₀ 8.1mg/kg, var åtte ganger bedre når gossypin ble gitt sammen med PEG-300 og 5.7 ganger bedre når gossypin ble gitt sammen med DMSO sammenlignet med kontroll. Forskerne kunne ikke observere noe beskyttende aktivitet når gossypin ble gitt sammen med vann. Effekten var doseavhengig og beskyttelsen ble ansett som god når 200mg/kg gossypin sammen med PEG-300 ble administrert 30 minutter før eller samtidig som SM eksponering, mens det igjen ikke kunne bli observert noen form for beskyttelse i de tilfellene hvor gossypin ble gitt to timer etter at testdyrene ble utsatt for SM hvilket indikerte at effekten også var tidsavhengig, og at gossypin kun hadde en beskyttende effekt dersom det ble gitt profylaktisk og ikke som etterbehandling fordi de skadelige forandringer medført av SM er akutt og irreversibelt [16].

Det ble i tillegg til dette også observert en signifikant reduksjon av total antioksidant status i plasma, lever glutation (GSH) og oksidert glutation (GSSH) samt redusert aktivitet av

glutation peroksidase, glutation reduktase og superoksid dismutase aktivitet [16]. Glutation er et tripeptid som står for 90% av cellulær ikke-protein tioler. Det har en viktig rolle i beskyttelsen mot oksidativt stress fra reaktive oksygen spesier i alle celler. Reduksjon av GSH og GSSH, en indikasjon på oksidativt stress forårsaket av SM, ble bestemt hhv til 44.5% og 60.6%. Igjen hadde gossypin, gitt 30 minutter før eller samtidig med SM eksponering, signifikant beskyttet mot reduksjon i total antioksidant status samt en reduksjon i glutation reduktase aktivitet, men gossypin kunne ikke beskytte mot et fall i superoksid dismutase aktivitet [16]. Det ble også observert en økning i malondialdehyd (MDA) verdier i SM gruppen hvorav økningen ikke ble ansett for å være statistisk signifikant, men overfor gruppene som fikk gossypinbehandling så forskerne ingen tegn til en sådan økning i MDA i de tilfellene hvor gossypin ble administrert samtidig eller 30 minutter før SM eksponering. Motsatt var tilfellet for gossypinbehandling 2 timer etter SM eksponering hvor MDA-verdiene fikk et lite løft sammenlignet med kontrollgruppene. Denne beskjedne økningen ble ikke ansett for å være signifikant [16].

Det er blitt rapportert at flavonoider er mest effektive når de administreres før eksponering med toksiske agenser og det ble nevnt at flavonoider utøver den beskyttende aktiviteten ved å donere bort deres hydroksylgrupper til frie radikaler og dermed besparer interaksjoner mellom GSH og frie radikaler [16]. Som nevnt ga gossypin behandling ingen tegn til økning av MDA hvilket indikerer beskyttelse mot lipidperoksidering som vanligvis inntreffer når reaktiv oksygen spesier blir dannet i nærheten av et jernmolekyl. Flavonoider er kjent for å ha chelaterende egenskaper og kan dermed fjerne den underliggende årsaken til radikaldannelse ved chelaterer jern [16]. Forskerne observerte også at testdyrene hadde fått signifikant vekttap syv dager i etterkant av SM eksponering gitt ved 2 LD₅₀, samtidig som de så at antallet røde blodceller økte (RBC) og hemoglobin (Hb) fikk en signifikant økning med hhv 157.8% og 144.6%. Det ble foreslått at SM generer reaktive oksygen spesier som forringer membranintegriteten med en medfølgende redusert fluiditet som igjen resulterer i at endotelcellenes evne til å tilbakeholde plasma i blodet svekkes slik at blodet blir mer viskøst og får større tetthet av røde blodceller [16]. Denne stigningen ble signifikant motvirket av gossypin gitt 30 minutter før eller samtidig med SM eksponering, men ingen beskyttende effekt ble registrert i de tilfellene hvor gossypin ble administrert to timer etter SM eksponering [16]. Vekttapet som ble observert skyldtes trolig redusert mat og vanninntak som følge av beskadigelse av endotelceller i spiserøret [16].

Det var variasjoner i aktivitet ved konsentrasjoner mellom hhv 5.7mg/kg - 8.1mg/kg med hensyn til LD₅₀ for SM administrert percutant. Blant de løsemidlene viste DMSO å gi

maksimum beskyttelse. Faktisk var den beskyttende effekten av gossypin via peroral administrering 3.2 ganger bedre når det ble gitt sammen med DMSO enn med PEG-300 som kun var 1.4 ganger bedre enn kontroll, og det ble ikke observert noe beskyttelse når gossypin ble gitt sammen med vann [16]. Dette var ikke forventet for det ble nevnt at gossypin var et vannløselig molekyl, men likevel viste det ingen beskyttelse sammen med vann [16]. DMSO krysser lettere over de fleste membraner uten å forringe membranintegriteten samtidig som den også fasiliterer absorpsjonen av ulike forbindelser ved å øke deres biotilgjengelighet [16]. Det ble nevnt at DMSO fra tidligere studier har blitt rapportert å være en farmakologisk aktiv forbindelse som har demonstrert både for antioksidant- antikarsinogene egenskaper [16]. DMSO er et amfipatisk molekyl med et høyt polart domene og to upolare metylgrupper, hvilket gjør DMSO løselig både i vandige og organiske løsninger. Fordi DMSO har vist å ha uønskede effekter blir det ikke brukt som legemiddeltransportør, i motsetning til PEG som er inert av natur og med ingen bivirkninger. Studien demonstrerte også at gossypin løst i PEG ga bedre beskyttelse enn administrert PEG alene [16]. Denne studien viste at gossypin administrert intraperitonealt ga bedre beskyttelse sammenlignet med gossypin administrert peroralt og det ble foreslått at dette forholdet kunne mest sannsynlig ha vært forårsaket av førstepassasjemetabolisme. Via peroral administrering blir gossypin sulfatert og metylert hvilket bidrar til å redusere flavonoidets aktivitet, mens det via intraperitoneal administrering trolig unngår metabolsk interferens og blir fraktet med den aktive hydroksylgruppen intakt for så å interagere kjemisk med prooksidanter i kroppen [16].

Samuel *et al.* 2012 [2] utføre en studie for å vurdere leverbeskyttende egenskaper i *H. vitifolius* og rapporterte en signifikant reversering av antioksidative parameterne som var blitt sterkt redusert, herunder katalase (CAT), superoksid dismutase (SOD) og tiobarbitursyre-reaktive substanser (TBARS) ved administrerte doser av 100mg/kg metanolekstrakt og silymarin sammenlignet med kontroll. Suppresjon av endogent antioksidant system medfører en redusert aktivitet av katalase (CAT), superoksid dismutase (SOD) som også utgjør de primære antioksidant enzymene. Under utvikling av levertoksisitet forringes disse enzymene både strukturelt og funksjonelt [2]. Det ble foreslått at denne positive effekten skyldes at *H. vitifolius* hadde aktive radikalsøkende substanser mot reaktive oksygen spesier [2]. Det ble også nevnt at lipidperoksidering både er en komplisert og ødeleggende prosess, som under denne studien også ble forsterket i fravær av administrert metanolekstrakt. Økte verdier for lipidperoksidering i homogenisert levermateriale som en konsekvens av HPTM-indusert leverskade var også indikert sammen med økte verdier av TBARS, som igjen ledet til

vevsskade og svekket antioksidant forsvar mot overproduksjon av frie radikaler [2]. Metanolekstrakt av *H. vitifolius* viste seg å kunne opprettholde TBARS verdier tilnærmet normale verdier hvilket var et bevis for en antioksidant aktivitet. Det ble foreslått at det høye innholdet av flavonoider i *H. vitifolius* muligens var ansvarlig for den beskyttende effekten mot lipidperoksidering [2].

8.4.8 Antikarsinogen aktivitet

Kunnumakkara *et al.* 2007 [4] utførte en studie med gossypin, et flavonoid som opprinnelig var isolert fra *H. vitifolius* for å vurdere dets inhibitoriske egenskaper overfor aktivisering av NF- κ B, en induserbar transkripsjonsfaktor for gener som involveres i celleoverlevelse, adhesjon, inflammasjon differensiering og vekst. Den er med på å regulere gener som er kritisk viktige både ved tidlig- og ved senfase av aggressive kreftformer og fordi aktivisering av NF- κ B er vanlig ved både inflammasjon og kreft ble det i denne studien foreslått en hypotese om at gossypin utøvde antiinflammatoriske, antikarsinogene samt antiangiogene effekter via inhibisjon av NF- κ B og nedregulering av dets genuttrykk [4].

Det ble nevnt at dette flavonoidet fra tidligere studier både har indikert og demonstrert mange aspekter med hensyn til biologisk aktivitet selv om det var en begrenset mengde med vitenskapelig litteratur. I forbindelse med kreft har gossypin fra tidligere studier vist toksisitetsbeskyttende aktivitet i forhold til ulike indukere som β -amyloid, karbontetraklorid og bis(2-kloretyl)sulfid gjennom forskjellige testmodeller. Gossypin har demonstrert inhibisjon av celleproliferasjon, ascites karsinom og angiogensese samt papilloma. Til tross for alle disse observasjonene er den fullstendige mekanismen av gossypin ikke klarlagt, men det ble kom frem at aktiviteten til dels kan skyldes at gossypin har en evne til å inhibere topoisomerase I og topoisomerase II [4].

Dette var en relativ omfattende og dypgående studie hvor mange cellulære mediatorer av betydning for kreftutvikling ble omtalt, men i all hovedtrekk mente forskerne at dette var den første studien utført som demonstrerte at gossypin kunne hemme aktivisering av NF- κ B induisert av forskjellige karsinogene og proantiinflammatoriske molekyler som TNF, interleukin-1 β , LPS, prooksidanter av typen H₂O₂ samt karsinogener som okadainsyre, tumor promotor og sigaretttrøyk [4]. Det faktum at gossypin hadde en hemmende effekt overfor alle disse stoffene indikerte at det måtte ha utøvd aktiviteten i et ledd som var felles for alle disse

kjemiske forbindelsene for øvrig [4]. Antioksidative egenskaper som tidligere har vært rapportert for gossypin ble også foreslått som en mulig forklaring bak den hemmende effekten overfor NF-kB aktivering, men her ga forskerne uttrykk motstridene meninger. Det er nevnt at gossypin kan utslukke frie oksygenradikaler, men det kom samtidig også frem at frie oksygenradikaler har fra tidligere studier blitt rapportert for å ikke ha noe innspill overfor NF-kB aktivering. Det endte med at forskerne ut ifra denne studien ikke kunne utelukke at undertrykkelse av NF-kB kunne ha vært forårsaket av en antioksidant aktivitet fra gossypin [4].

Forskerne fant også at enkelte genprodukter av betydning for proliferasjon av kreftceller også ble hemmet av gossypin. Dette gjaldt genprodukter som cyclin D1, c-myc og COX-2. Disse genproduktene er essensielle for celleproliferasjon og overlevelse. Ekspresjon av c-myc onkoprotein hindrer stans i cellesyklus som respons fra veksthemmende signaler. Cyclin D1 utøver kraftig kontroll overfor mekanismer som involverer mitotisk cellesyklus. Denne studien avslørte at gossypin hemmet ekspresjonen av disse genene, hvilket taler for at den er en potent inhibitor av cellesyklus. Undertrykkelse kreftcelleproliferasjon med gossypin kan derfor bli sett i forhold til inhibisjon av selve c-myc og cyclin D1 genuttrykk [4]. Videre fant de at ekspresjon av antiapoptotiske gener også var undertrykt, hvilket samsvarer med det forskerne fant ut om at gossypin kunne potensere apoptose induisert av TNF og andre kjemoterapeutiske substanser noe som igjen indikerer at gossypin kan ha klinisk medisinsk relevans [4]. Avslutningsvis ble det observert at gossypin også var inhibitorisk overfor osteoklastogenese via inhibisjon av RANKL, en ligand av NF-kB [4].

Shi *et al.* 2011 [7] undersøkte for biologiske effekter av gossypin overfor human malignt gliom U251 celler for å avklare de underliggende molekylære mekanismene bak G2/M-fase arrest via aktivering av Chk1/Cdc25C. Denne studien er tatt med fordi den omhandler gossypin som tilsynelatende er et viktig og ikke minst interessant flavonoid som opprinnelig først ble isolert fra *H. vitifolius*, men det påpekes at det i fra denne studien ikke fremgår uttrykkelig at gossypin var ekstrahert fra *H. vitifolius* [7]. Forskerne mente selv at dette var den første studien om effekten av gossypin i forhold til dets potensielle virkningsmekanismer overfor maligne gliom celler [7].

Analyse av regulatoriske proteiner som var viktige for G2/M overgang, indikerte at gossypin utøvde arrestasjon av cellesyklus ved G2/M-fasen ved å være involvert i fosforylering av celledelingssyklus 25C (Cdc25C) tyrosin fosfatase via aktivering av sjekkpunkt kinase 1 (Chk1) som igjen har en viktig funksjon G2/M-fasen av cellesyklusen [7]. Dette ble bestemt

ved å innsamle U251 celleprøvene ved 12, 24, 48 og 72 timer som var behandlet med gossypin ved konsentrasjonen 11.2 μ M og videre analysert for cellesyklus-distribusjon. Forskerne fant ut at gossypineksponering over 72 timer resulterte i en akkumulering av U251 celler i G2/M fasen. Gossypin medførte 2.3 ganger større andel celler i G2/M fase samtidig som det ble observert et fall av celler i G0/G1 fase sammenlignet med kontroll. En mulig forklaringsmekanisme som fremgikk av denne studien var at Chk1 regulerer interaksjonen mellom humant Cdc25C og 14-3-3 proteiner ved fosforylering av Cdc25C fosfatase ved Ser216 som igjen medierer bindingen mellom Cdc25C og 14-3-3 protein for å danne et Cdc25C-14-3-3-kompleks som fører til arrestasjon av G2/M ved å isolere Cdc25C i cytoplasma [7]. Det var foreslått at gossypin muligens hemmet proliferasjonen av U251 celler ved å blokkere eller forsinke selve G2/M overgangen [7]. Cdc25 er et veldefinert mål for Chk1, et sjekkpunkt effektor kinase ansvarlig for arrestasjon av cellesyklus [7]. Det er blitt påstått at Chk1 regulerer G2/M sjekkpunktet ved å fosforylere Cdc25C protein fosfatase. For å bestemme om hvorvidt Chk1 var aktivert av gossypin ble U251 celler behandlet med 11.2 μ M gossypin i hhv 24, 48 og 72 timer med etterfulgt isolering av løselige proteiner. Det er fant var at gossypin økte fosforyleringen av Chk1 uten at det skjedde noen statistisk signifikant endring i den totale Chk1 nivået, men graden av Chk1 fosforylering var klart høyere når dette ble sammenlignet med negativ kontroll. Videre ønsket forskerne å bestemme om steget etter Chk1 aktivering faktisk ga signalvidereføring til Cdc25C i gossypin-induserte celler. Dette ble ytterligere bestemt ved å undersøke fosforylering av Cdc25C ved Ser216. Resultatet var sammenfallende med det forskerne hadde hypotetisert om at gossypineksponering ga betraktelig økning av fosforylert Cdc25C protein fosfatase [7]. Avslutningsvis bekreftet forskerne at Chk1-Cdc25C reaksjonsvei var involvert ved å designe siRNA for å selektivt stoppe ekspresjonen av Chk1.

Den eksakte mekanismen for hvordan gossypin utøver cellesyklus arrest er ikke helt klarlagt, men mye tydet på at forskerne som har utført denne studien var på rett spor. Det fremgikk at det fra tidligere studier var blitt demonstrert at en forsinkelse av cellesyklus progresjon krevde aktivering av DNA-beskadigelse i forhold til Chk1 [7]. Videre ble det nevnt at Chk1 i eukaryotiske organismer hadde viktige funksjoner for både cellesyklus og sjekkpunkt kontroll hvorav involvering av Chk1, en serin/teronin kinase, var påkrevd både overfor S og G2/M fasen [7]. Overekspressjon av Chk1 alene kan muliggjøre for cellesyklus arrest av G2/M fasen og det er ifølge forskerne kjent at inhibisjon av Chk1 opphever G2/M arrest i respons av DNA-skade. Det ble også nevnt at Chk1 er kjent for å fosforylere Cdc25C fosfatase ved Ser216 som respons av DNA-skade, som igjen er viktig for sjekkpunkt kontroll

[7]. Opprettholdelsen av Cdc25C fosforylering ved Ser261 i etterkant av DNA-beskadigelse er tenkt for å kunne forhindre en umoden progresjon fra G2-fasen til mitose [7]. Ut ifra resultatene og observasjonene som ble gjort gjennom denne studien mente forskerne at det forelå en potensiell forbindelse mellom Chk1 aktivering av Cdc25C fosforylering i gossypin-indusert G2/M arrest av U251 celler [7]. Forskerne mente at gossypin kunne bli brukt i forbindelse med kjemoterapi som en beskyttende agens overfor utvikling og progresjon av human maligne gliomer [7], hvilket igjen kan ha betydning for den fremtidige anvendelsen av *H. vitifolius* i medisinsk sammenheng.

Toksiske effekter av gossypin ble evaluert ved å sammenligne celleoverlevelse etter gossypinbehandling ved ulike konsentrasjoner og tidsintervaller blant human malignt gliom U251 celler, normale gliaceller og normale astrocytter. Det de observerte var at IC₅₀ for gossypin overfor human malignt gliom U251 celler ved tidsintervallene 12, 24, 48, 72 timer hadde en 50% inhiberende konsentrasjon på hhv 45.0, 29.6, 16.1 og 11.2 µM. Overfor normale gliaceller ga forskerne behandlende konsentrasjoner mellom 0-90µM over en tidsperiode på 72 timer. Det de så var at celleoverlevelsen så vidt ble redusert og selv ved administrert dosering på 90µM kunne ikke 50% inhibisjon bli observert. Videre ved sammenligning av gossypin eksponering overfor normale humane astrocytter ikke detektert noe statistisk signifikant forskjell i forhold til kontroll gruppen [7]. Den antiproliferative effekten av gossypin ble ytterligere bekreftet ved bruk av trypanblå eksklusjon assay. Trypan er et avfargningsreagens som blir brukt ved testing av membranintegriteten av biologisk cellemembraner. Bakgrunnen for bruken av dette reagenset er at friske intakte cellemembraner utstøter trypan, mens cellemembraner hos døde celler blir avfarget. Resultatene viste at proliferasjon blant U251 celler var signifikant hemmet etter behandling med gossypin og at denne inhibitoriske effekten både var konsentrasjons- og tidsavhengig. Videre ble det observert at gossypin reduserte celleoverlevelsen av U251 celler med 89.2% eksponering over 120 timer med en konsentrasjon på 45.0µM [7]. Det ble også demonstrert at gossypin ikke bare reduserte celleoverlevelsen, men det kunne også motvirke kolonidannelse av U251 celler. Dette ble testet ved dyrking i myk agarskål sammen med gossypin gitt med en konsentrasjon på 29.6µM over 72 timer [7].

gossypin reduserte celleoverlevelsen av

8.4.9 Antinociceptiv aktivitet

Gossypin har også demonstrert antinociceptiv aktivitet via modulering av γ -aminobutyryl syre systemet (GABA) samt antiinflammatorisk aktivitet via inhibisjon av arakidonsyre metabolismen [4].

8.5 Toksikologiske studier

Jeg har valgt å plassere omtale vedrørende toksiske effekter sammen med studien der de blir beskrevet da jeg mener dette er en mer naturlig plassering for å ytterligere belyse studien jeg referer til. Dessuten er det svært sjeldent at jeg finner studier som utelukkende beskriver toksisitetsanalyser, for mer enn ofte fremgår informasjon om toksisitet heller som del av en større farmakologisk planteanalytisk studie.

8.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet

8.7 Konklusjon

Det er ingen tvil om at gossypin som for første gang ble isolert fra *H. vitifolius* har en spekter av biologiske aktiviteter, spesielt er dette fremtredende i forhold til kreft og antioksidant effekter. Jeg fant ingen vitenskapelige studier som underbygget den burmesiske påstanden om at *H. vitifolius* kan anvendes som et middel som er generelt bra for magen og kan derfor ikke validere for den tradisjonelle bruken på dette punket. Flere vitenskapelige studier er ønsket for kunne avklare om hvor vidt den burmesiske påstanden har forankring i moderne medisin.

8.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2850698>. 2015.05.12.
2. Samuel, A.J.S.J., Mohan, S., Chellappan, D.K., Kalusalingam, A., Ariamuthu, S.: < i> Hibiscus vitifolius</i>(Linn.) root extracts shows potent protective action against anti-tubercular drug induced hepatotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, **141**(1), (2012), 396-402.
3. Maiti, R.: Hibiscus vitifolius, a new fibre crop. *Economic Botany*, **23**(2), (1969), 141-147.
4. Kunnumakkara, A.B., Nair, S.S., Ahn, K.S., Pandey, M.K., Yi, Z., Liu, M., Aggarwal, B.B.: Gossypin, a pentahydroxy glucosyl flavone, inhibits the transforming growth factor beta-activated kinase-1-mediated NF-κB activation pathway, leading to potentiation of apoptosis, suppression of invasion, and abrogation of osteoclastogenesis. *Blood*, **109**(12), (2007), 5112-5121.
5. Pankajamani, K. and Seshadri, T.: Survey of anthoxanthins—Part II. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section A, Springer* **37**, (1953).
6. Flickr.
URL: <https://www.flickr.com/photos/midimacman/2146659819/>. 2015.05.12.
7. Shi, L., Chen, J., Wang, Y.Y., Sun, G., Liu, J.N., Zhang, J.X., Yan, W., Qian, C.F., Liu, N., Fu, Z.: Gossypin Induces G2/M Arrest in Human Malignant Glioma U251 Cells by the Activation of Chk1/Cdc25C Pathway. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **32**(2), (2011), 289-296.
8. Ramasamy, D. and Saraswathy, A.: Vitiquinolone—A quinolone alkaloid from< i> Hibiscus vitifolius</i> Linn. *Food Chemistry*, **145**, (2013), 970-975.
9. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
10. Ramasamy, D. and Saraswathy, A.: Isolation of methyl 27-caffeoyloxyoleanolate--a new oleanane Triterpenoid from the roots of Hibiscus vitifolius. *Natural Product Communications*, **8**(4), (2013), 433-434.
11. Chandrashekhar, V.M., Ganapaty, S., Ramkishan, A., Narsu, M.L.: Neuroprotective activity of gossypin from Hibiscus vitifolius against global cerebral ischemia model in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, **45**(6), (2013), 575.

-
12. Parmar, N. and Ghosh, M.: Anti-inflammatory activity of gossypin of bioflavonoid isolated from *Hibiscus vitifolius* Linn, *Indian Journal of Pharmacology*, **10**(4), (1978), 277.
 13. SciFinder.
URL:<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>.
2015.05.12.
 14. Nazir, S., Li, B., Tahir, K., Khan, A., Ul Haq Khan, Z., Khan, S.: Antimicrobial activity of five constituents isolated from *Ranunculus muricatus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7**(47), ((2013), 3438-3443.
 15. Vazquez, L.H., Palazon, J., Navarro-Ocana, A.: The pentacyclic triterpenes α , β -amyryns: a review of sources and biological activities, *InTech*, (2012).
 16. Gautam, A. and Vijayaraghavan, R.: Prophylactic effect of gossypin against percutaneously administered sulfur mustard. *Biomedical and Environmental Sciences: BES*, **20**(3), (2007), 250-259.
 17. Samal, P.K.: Assessment of Hepatoprotective Activity of *Hibiscus vitifolius* leaves in CCL4 induced hepatotoxic rats. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*, **5**(6), (2013), 313-316.
 18. Ganapaty, S., Chandrashekhar, V., Narsu, M.L.: Evaluation of anti-allergic activity of gossypin and suramin in mast cell-mediated allergy model. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. **47**(2), (2010), 90-95.
 19. Venkatesan, T. and Sorimuthu Pillai, S.: Antidiabetic activity of gossypin, a pentahydroxyflavone glucoside, in streptozotocin-induced experimental diabetes in rats. *Journal of Diabetes*, **4**(1), (2012), 41-46.
 20. Ganapathy, P., M. Rajadurai, and N. Ashokumar, *Cardioprotective effect of β -sitosterol on lipid peroxides and antioxidant in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: a histopathological study*. *International Journal of Current Research*, **6**(6), (2014), 7260-7266.
 21. Kim, K-A., Rajadurai, M., Ashokumar, N.: β -Sitosterol attenuates high-fat diet-induced intestinal inflammation in mice by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to toll-like receptor 4 in the NF- κ B pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, **58**(5), (2014), 963-972.

-
22. Nair, S.A., Sabulal, B., Radhika, J., Arunkumar, R., Suvramoniam, A.: Promising anti-diabetes mellitus activity in rats of β -amyrin palmitate isolated from *Hemidesmus indicus* roots. *European Journal of Pharmacology*, **734**, (2014), 77-82.

9 *Ixora coccinea* L.

9.1 Beskrivelse

Ixora coccinea L. er det aksepterte navnet på en planteart som tilhører slekten *Ixora* i plantefamilien *Rubiaceae* [1]. Liste over andre synonymnavn finnes i ”The Plant List”, et stort internasjonalt arbeid som blant annet har tatt for seg hovedoppgaven om å samkjøre ulike plantenavn av samme plantearter fra ulike verdensdeler. *I. coccinea* har i tillegg til de synonymnavn som er opplistet også blitt kalt for ”...flame of the woods, flame of the forest, jungle flame, burning love, scarlet ixora, jungel of the Geranium...[2]” Man mener at *I. coccinea* har geografisk opprinnelse i India og Sri Lanka, men at planten i dag kan bli funnet viltvoksende i tropiske og subtropiske verdensdeler [2].



Figur 19 viser et bilde av *I. coccinea* [3].

I. coccinea vokser godt i tørre landstrekninger hvor jorda er lett sur. Planten er grønn og vokser seg til en meget tett forgrenet busk som normalt kan nå en høyde på tre meter. Stammene har en grålig farge og kan bli opp til mellom 3-4 cm i diameter helt nederst hvor planten skjærer opp fra bakken. De mørkegrønne bladene er ovale og avlange i formen. Blomstene er arrangert i klynger hvor hver av disse kan inneholde mellom 15-50 individuelle

blomster. Rød-oransje blomster er viltvoksende varianter, mens det finnes også dyrkede blomstervarianter med andre fargenyanser som hvit, gul eller rosa. Disse sammen med dvergvariantene blir i stor utstrekning kommersielt omsatt for hagebruk, spesielt dvergvariantene blir mye brukt dekorativt til ulike formål. Fruktene fremtrer som kuleformede bær med mye fruktkjøtt, og går over fra grønn til blodrød eller purpursvart etter hvert som de modnes [2].

9.2 Tradisjonell bruk

Ixora coccinea har hatt en medisinsk brukstradisjon som er dokumentert i de ayurvediske tekster og annen folkemedisin i India og Sri Lanka. Forskjellige plantedeler har gjennom tidene fått anvendelse mot ulike sykdommer og andre medisinske tilstander som for eksempel utflod, dysenteri, dysmenore, hemotyse, hypertensjon, uregelmessige menstruasjoner, forstuing, bronkitt, feber, sår, kronisk magesår, skabb og forskjellige sykdommer i hud [2]. Røtter, blad og blomster har vært, og blir fortsatt brukt som del av den tradisjonelle medisinen i store deler av Sør Øst Asia [4]. Gjennom tidene har *I. coccinea* enten alene eller i kombinasjon med andre planter blitt administrert med hjelp av ulike medisinske formuleringer som ekstrakter til peroral bruk, topikale oljer til hud eller til annen sårbehandling med mer. Både ferskt og tørket material er brukt [2]. Røttene blir også brukt mot hikke, kvalme, feber, gonoré og redusert appetitt, mens blomstene brukes til å behandle røde øyner, utbrudd av utslett, katarr, bronkitt, dysenteri og et betennelsesdempende middel. Både bladene og røttene er blitt bruk mot diare [4]. Disse opplysningene er blitt hentet fra to review-artikler fra hhv 2012 [2] og 2013 [4]. I Burma brukes roten fra planten som et appetittvekkende middel [5].

9.3 Kjemiske substanser

<i>I. coccinea</i> L.						
	plantedel					
stoffgruppe/	rot	stilk	blad	blomst	over-	referanse

kjemisk substans					jordisk	review(r)
terpenoider:						
lupeol			x	x	x	[4](r)[6, 7]
ursolsyre			x	x	x	[4](r)[7-9]
cykloartenol estere				x		[4](r)[7]
lupeol estere				x		[4](r)[7]
oleanolsyre				x	x	[4](r)
3-acetyl betulinsyre					x	[4](r)
betunolinsyre					x	[4](r)
α -amyrin					x	[4](r)
β -amyrin	x				x	[4](r)[10]
3-acetyl ursolsyre					x	[4](r)
16a—hydro-19-acetoksy- (-)-kauran-17-syre					x	[4](r)
16a-hydro-19-ol(-)- kauran-17-syre					x	[4](r)
ixorene			x			[6]
ixoroid				x		[11]
β -sesquiphellandren	x					[12]
α -kurkumen	x					[12]
α -bergamoten	x					[12]
α -zingiberen	x					[12]
caryophyllen oksid	x					[12]
δ -nerolidol	x					[12]
propylisocyanat	x					[12]
α -farnesen	x					[12]
β -farnesen	x					[12]
2,4-dekadienal	x					[12]
nortricyklen	x					[12]
1-metylbutyl nitritt	x					[12]
di-n-oktyl disulfid	x					[12]

prop-1-enyl hydrogen karbonat	x					[12]
5-okten-1-ol	x					[12]
9-12-15-oktadekatrien-1- ol	x					[12]
1,8-nonadien	x					[12]
3,9-dodekadin	x					[12]
						[12]
steroler:						
sitosterol				x		[4](r)[7]
6 β -hydroxytigmasterol-4-en- 3-on					x	[4](r)
sitosteryl-3-O- β -D- glukosid					x	[4](r)
β -sitosterol			x		x	[4](r)[6]
stigmasterol					x	[4](r)
stigmast-5-en-3-O- β -D- glukosid				x		[11]
flavonoider:						
biochanin A				x		[4](r)[8]
myricetin				x		[4](r)[8]
rutin				x		[4](r)[8]
daidzein				x		[4](r)[8]
formononetin				x		[4](r)
kaempferol		x	x		x	[4](r)[13]
kaempferol-7-O- α - rhamnosid					x	[4](r)
kaempferol 3-O- rhamnosid		x	x			[13]
kaempferol-rhamnosid		x				[4](r)
kaempferol 3-O-glukosid		x	x			[13]
kaempferol-7-O-glukosid	x					[10]

quercetin		x	x	x		[8, 10, 13]
quercetin-rhamnosid		x	x			[4](r)
kaempferitrin	x				x	[4](r)[10]
quercetin 3-O-rhamnosid-7-O-glukosid		x	x			[13]
quercetin 7-O-rhamnosid		x	x			[13]
quercetin 3-O-rhamnosid-7-O-glukosid		x	x			[13]
quercetin 3-O-xylosid		x	x			[13]
quercetin 3,7-di-O-rhamnosid		x	x			[13]
luteolin					x	[4](r)
katekin		x	x			[13]
epikatekin		x	x			[13]
(-)-epikatekin		x			x	[4](r)
(+)-epikatekin		x			x	[4](r)
quercitrin	x		x			[10, 14]
monoglykosider av :						
cyanidin				x		[4](r)
delphinidin				x		[4](r)
rutin				x		[4](r)[8]
kaempferol-3-rutinosid				x		[4](r)
leucocyanidin				x		[4](r)
proantocyanidin:						
epikatekin-4 β →8					x	[4](r)
2 β →O→7-ent-epikatekin					x	[4](r)
tanniner						
ixoratannin A-2			x			[15]
cinnamtannin B-1			x			[15]

kumariner:						
scopoletin					x	[4](r)
kumarin					x	[4](r)
<i>erythro</i> -1',2'-albiflorin					x	[4](r)
kinoner:						
1,4-dihydroxy-3-metylantrakinon					x	[4](r)
tokoferylkinon					x	[4](r)
peptider:						
ixorapeptid I					x	[4](r)
ixorapeptid II					x	[4](r)
fettsyrer:						
palmitinsyre	x					[4](r)
stearinsyre	x					[4](r)
n-heksadekan syre,	x					[16]
9-oktadekansyre	x					[16]
oljesyre	x					[4](r)
linolsyre	x					[4](r)
9, 12-oktadekadiensyre	x					[10]
essensielle oljer						
β-sesquifellandren	x					[4](r)
andre organiske forbindelser						
2,6-dimetoksy fenol	x					[16]
13-dokosenamid	x					[16]
3,4,5-trimetoksy fenol	x					[16]

4,8,12,16-tetrametylheptadekan-4-olid	x					[16]
3-O- kaffeoylkininsyre		x	x			[13]
4,5-di-O-kaffeoylkininsyre		x	x			[13]
3,5-di-O kaffeoylkininsyre		x	x			[13]
methyl 5-O- kaffeoylkinat		x	x			[13]
5-O- kaffeoylkininsyre				x		[11]
di-n-oktylfталat	x					[10]
D-mannitol			x	x		[6, 11]

Latha 1996 [9] identifiserte via fytokjemiske metoder og rapporterte at ursolsyre var den aktive fraksjonen av *I. coccinea* blomstekstrakt.

Ragasa *et al.* 2004 [7] isolerte to nye cykloartenol estere fra *I. coccinea* blomster. De isolerte også tidligere kjente forbindelser som lupeol, ursolsyre, oleanolsyre og sitoterol.

Torres *et al.* 2009 [17] gjorde undersøkelse med planteekstrakt av *I. coccinea* blomst og rapporterte for tilstedeværelse av stoffgrupper som fettsyrer, alkaloider, kumariner, saponiner, flavonoider, reduserende sukkerer, resiner, planteslim som trolig bestod av polysakkarider, triterpener, steroler, antocyanidiner, kinoner og frie aminosyrer.

Idowu *et al.* 2010 [15] isolerte med etterfulgt identifisering av ixoratannin A-2 for første gang med *I. coccinea* bladekstrakt. Denne kjemiske substansen var en dobbellenket proanthocyanidin trimer, som bestod av monomeren epikatekin, dimeren ($2\beta \rightarrow O \rightarrow 7, 4\beta \rightarrow 8$)-epikatekin også kalt procyanidin A2, og trimeren ($5 \rightarrow O \rightarrow 2\beta, 6 \rightarrow 4\beta$)- epikatekin. En annen kjemisk substans av interesse som også ble isolert for første gang fra denne studien var cinnamtannin B-1.

Srinivasan *et al.* 2010 [12] identifiserte 27 kjemiske komponenter i den essensielle oljen fra rot av *I. coccinea*. Blant disse utgjorde sesquiterpener hovedandelen med substanser som propylisocyanat, α -farnesen, β -farnesen, α -zingiberen, 2,4-dekadienal, β -sesquiphellandren,

ar-kurkumen, nortricyclen, α -bergamoten, caryophyllen oksid, δ -nerolidol, 1-metylbutyl nitritt, di-n-oktyl disulfid, prop-1-enyl hydrogen karbonat, 5-okten-1-ol, 9-12-15-oktadekatrien-1-ol, 1,8-nonadien og 3,9-dodekadyne. Disse forbindelsene var for første gang blitt rapportert å være identifisert fra roten til *I. coccinea*.

Lee *et al.* 2010 [18] isolerte for første gang to nye peptider fra overjordiske plantedeler tilhørende *I. coccinea*. Disse forbindelsene ble kalt for hhv ixorapeptid I og ixorapeptid II.

Sumathy *et al.* 2011 [8] identifiserte flere kjemiske substanser av biologisk viktighet hhv biochanin A, myricetin, quercetin, rutin, daidzein, and formononetin og ursolsyre fra blomster tilhørende *I. coccinea*.

Versiani *et al.* 2012 [11] isolerte et nytt terpenoid 21,23-epoksy-tirucall-7-en-3 β -ol kalt for ixoroid fra *I. coccinea* blomst sammen med tre andre forbindelser hvilket var allerede kjent. Disse var hhv stigmast-5-en-3-O- β -D-glukosid, 5-O- kaffeoylkininsyre og D-mannitol.

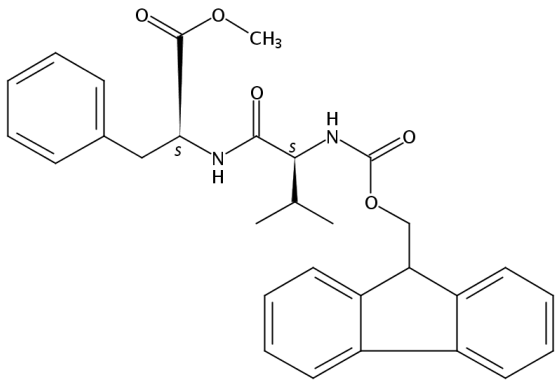
Bose *et al.* 2013 [14] isolerte quercitrin fra blader tilhørende *I. coccinea*.

Ikram *et al.* 2013 [6] isolerte for første gang et nytt triterpen kalt ixorene fra bladene til *I. coccinea*. Det ble samtidig også isolert tre tidligere kjente forbindelser hhv β -sitosterol, lupeol og mannitol.

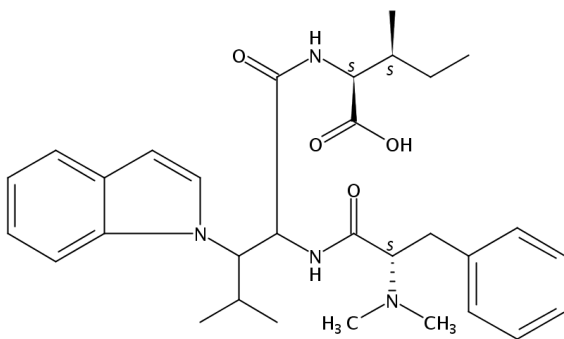
Joshi *et al.* 2013 [10] utførte fytokjemiske undersøkelser med etanolekstrakt fremstilt fra rot av *I. coccinea* og rapporterte for tilstedeværelsen av kjemiske forbindelser som alkaloider, karbohydrater, flavonoider, glykosider, tanniner, resiner, saponiner, triterpenoider og steroider. Denne undersøkelsen ledet til isolering av seks forbindelser som for første gang var blitt isolert fra roten tilhørende *I. coccinea*. Disse var hhv 9, 12-oktadekadiensyre, di-n-oktylfталat, β -amyrin, kaempferol-7-O-glukosid, kaempferitrin, quercitrin.

Ghazali *et al.* 2014 [16] isolerte 17 ulike substanser fra *I. coccinea* roten. Substansene utgjorde hovedandelen var hhv n-heksadekan syre, 9-oktadekansyre, 2,6-dimetoksy fenol, 13-dokosenamid, 3,4,5-trimetoksy fenol og 4,8,12,16-tetrametylheptadekan-4-olid.

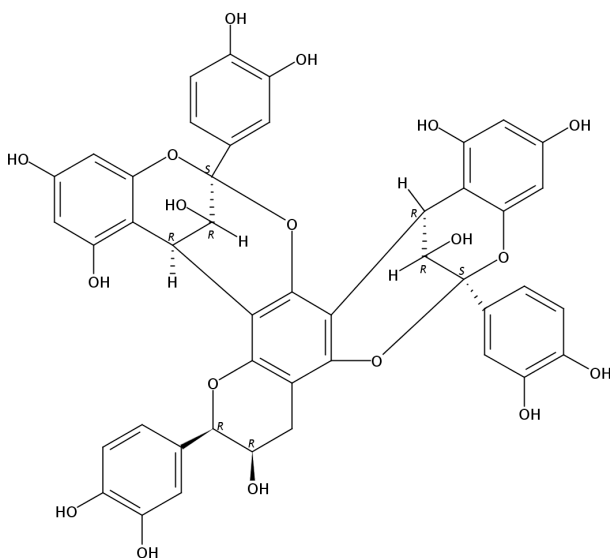
Jaiswal *et al.* 2014 [13] identifiserte en rekke fenoliske forbindelser fra blad og stamme fra *I. coccinea*. Noen av disse er listet opp i tabellen.



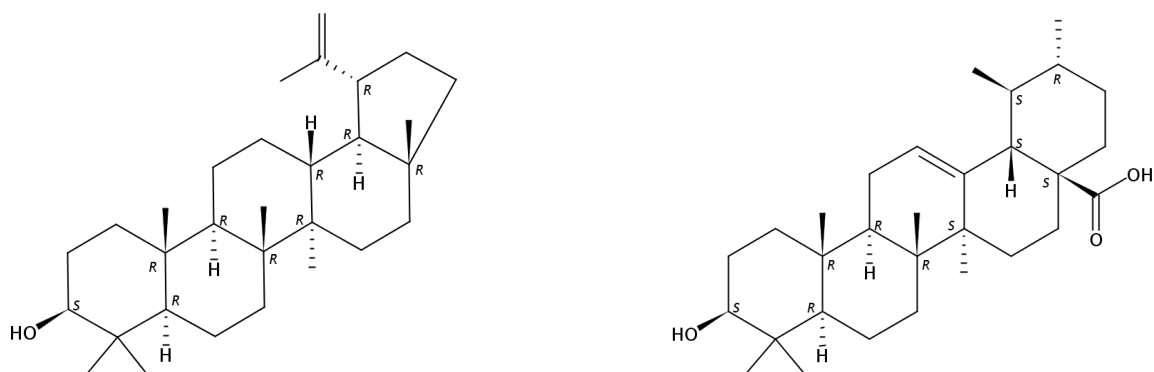
Figur 20 viser den kjemiske strukturen til ixorapeptid I [19]



Figur 21 viser den kjemiske strukturen til ixorapeptid II [19]



Figur 22 viser den kjemiske strukturen til ixoratannin A-2 [19].



Figur 23 viser den kjemiske strukturen til lupeol [19]. **Figur 24** viser den kjemiske strukturen til ursolsyre [19].

9.4 Biologisk aktivitet

9.4.1 Antimikrobiell aktivitet

Latha *et al.* 1995 [20] gjorde undersøkelser med *I. coccinea* blomsterekstrakt for å teste hvorvidt dette inneholdt antimikrobiell aktivitet. Testorganismene som ble inkludert i denne studien var hhv *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus* for bakteriestammene mens soppstammen var *Aspergillus niger*.

Ekstraktet ble fremstilt med etanol og det ble funnet ut ifra plate diffusjonstest at den effektive inhibitoriske konsentrasjonen overfor både bakterier og sopp var 125µg/ml planteekstraktet. Det ble observert at den inhibitoriske aktiviteten økte opptil denne effektive konsentrasjonen, men utover konsentrasjonen på 125µg/ml ble det observert et fall i den antimikrobielle aktiviteten samtidig som testorganismene begynte å bli mer aktive etter hvert som de utviklet resistens overfor *I. coccinea* blomsterekstraktet [20]. Ekstrakt testet ved 25µg/ml og 250µg/ml ga inhibisjonssoner på hhv 6mm og 8mm for begge bakteriestammene. Den antimikrobielle effekten var ikke like god som standardlegemidlet kloramfenikol som ga inhibisjonssoner på 3.0cm og 1.8cm for hhv *E. coli* og *S. Aureus* [20].

Standardlegemidlet som ble brukt til å sammenligne den soppdrepende aktiviteten i blomsterekstraktet var klotrimazol. Det ble observert en gradvis nedgang av soppvekst opptil en konsentrasjon på 125µg/ml og høyere konsentrasjoner utover 125µg/ml reverserte den soppdrepende aktiviteten [20]. Forskerne mente at denne studien ga en klar indikasjon for at *I. coccinea* blomsterekstrakt både har bakteriedrepende og soppdrepende egenskaper, men at planteekstraktet kun virket inhibitorisk ved lavere konsentrasjoner. En mulig forklaring på

dette var aktivering av resistensmekanismer i mikrobielle celler og fordi studien benyttet rå blomsterekstrakt mente forskerne at det fantes forbindelser som naturlig beskyttet mikroorganismene på en slik måte at disse kunne overkomme den inhibitoriske aktiviteten. Disse forbindelsene ble mer tilgjengelig i adekvate mengder for de mikrobielle cellene ved høyere konsentrasjoner [20].

Annapurna *et al.* 2003 [21] testet et utvalg av både sopp- og bakteriestammer med hhv 4,13% eter- og 6,3% metanolekstrakt av tørkede *I. coccinea* blader og fant at eterekstraktet viste god og sammenlignbar antimikrobiell effekt i forhold til referansen streptomycin, mens metanolekstraktet hadde en lavere moderat effekt. Eterekstraktet viste god antibakteriell effekt mot Gram-negative stammer som *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea*, men også mot Gram-positive stammer som *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Generelt var det svært lite signifikans når det kom til de antifungale effektene [21].

Essensielle oljer fra *I. coccinea* roten er blitt gransket for antimikrobielle egenskaper av Srinivasan *et al.* 2010 [12]. I denne studien ble det vist at oljen fra *I. coccinea* roten, en gulaktig væske med sterk aromatisk duft, hadde gode antibakterielle egenskaper mot både Gram-positive bakterier som var hhv *B. subtilis*, *B. cereus* og *S. aureus*, og Gram-negative bakterier som var hhv *E. coli* og *S. typhimurium*. Når det gjaldt den antifungale effekten ble det kun observert moderate antimikrobielle effekter mot *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, men ingen effekt ble sett overfor soppen *Akternaria alternata* og *Penicillium notatum* [12]. Oljen fra roten ble testet ved hhv 1- og 2% med en plate diffusjonstest hvorav mikroorganismenes følsomhet ble målt ut ifra diameter av inhibisjonssoner for hver enkelt organisme [12]. Forskerne mente at denne studien gir vitenskapelig evidens for den tradisjonelle bruken i forhold til infeksjøs tilstander og at oljen fra *I. coccinea* roten potensielt kan ha kommersiell verdi. Det ble også foreslått at den antimikrobielle aktiviteten i oljen trolig var mediert ut ifra et synergistisk samspill mellom flere aktive komponenter som måtte være i roten[12].

Idowu *et al.* 2010 [15] testet 6 ulike kjemiske substanser isolert for første gang fra metanolekstrakt av *I. coccinea* blader for deres antimikrobielle egenskaper herunder, epikatekin, procyanidin A2, ixoratannin A-2, cinnamtannin B-1, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosid og kaempferol-3.7-O- α -L-dirhamnosid. Resultatene viste at kun epikatekin

og quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosid hadde svakt inhibitorisk effekt mot *E. coli*, mens alle substansene utenom kaempferol-3.7-O- α -L-dirhamnosid hadde svakt effekt mot *B. subtilis*. Kaempferol-3.7-O- α -L-dirhamnosid hadde ingen antimikrobiell effekt mot noen av testorganismene overhodet. Cinnamtannin B-1 hadde den mest signifikante effekten mot *B. subtilis*. Ingen av substansene inhiberte vekst av *P. aeruginosa*. Alt tydet på at det fantes antimikrobielle stoffer i *I. coccinea* bladene, men at denne aktiviteten hadde ulik følsomhet overfor forskjellige bakterier.

Selvaraj *et al.* 2011 [22] utførte en *in vitro* studie med 6 ulike rotekstrakt av *I. coccinea*, hhv etanol, vann, petroleumseter, benzen, kloroform og etylacetat. Etanolekstraktet hadde mest signifikant effekt mot alle 6 bakteriestammer som ble tatt med i studien. Ingen av ekstraktene viste noen nevneverdig effekt mot sopp. Testorganismene som ble brukt i denne studien var hhv bakteriestammene *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilius*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* og *Pseudomonas aeruginosa*, samt *Candida albicans* og *Aspergillus niger* som var soppstammene. Den mest sensitive bakteriestammen for etanolekstraktet var *S. typhi* etterfulgt av *S. aureus*, *E. faecalis* og *P. aeruginosa*. En foreslått forklaring til de antibakterielle egenskapene er tilstedeværelsen av essensielle oljer og flavonoider, men at den markante aktiviteten allikevel tildeles flavonoidene [22].

Marimuthu *et al.* 2011 [23] undersøkte de antimikrobielle egenskapene for ulike plantedeler av *I. coccinea*. Testorganismene som inngikk i denne studien var *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter aerogenes* og *Saccharomyces cerevisiae*.

Denne studien brukte metanolekstrakt av hhv stamme, blader og blomster. Resultatene viste at både stamme- og bladekstraktet hadde bredspektret antimikrobiell effekt, men generelt hadde ekstrakt fra stammen bedre effekt. Blomsterekstraktet viste minst antimikrobiell effekt blant de ulike ekstraktene. De mest sensitive bakteriestammene i denne studien var *S. aureus* og *S. flexneri*, men ekstrakt av plantestammen hadde også god effekt på soppen *S. cerevisiae* [23]. Ekstrakt med stammen ga en MIC som var 62.4 ganger mindre potent enn vancomycin mot *S. aureus* og likeledes hadde ekstrakt med både blad og stamme MIC-verdier som var 62.4 og 31.2 ganger mindre potent enn gentamycin overfor *S. flexneri*. Det ble foreslått at terpenoider, flavonoider, kumariner, alkaloider og andre fenoliske forbindelser var viktige attributter for den antimikrobielle aktiviteten [23]

9.4.2 Sårhelende aktivitet

Selvaraj *et al.* 2011 [22] rapporterte at etanolekstrakt av *I. coccinea* rot viste signifikant sårheling, og det ble foreslått at dette hadde en mulig sammenheng med de antibakterielle effektene for øvrig. Utvendig applisering av ekstraktet hadde en sårbeskyttende effekt ved at invasjon av mikrober direkte gjennom sår ble forhindret [22].

Upadhyay *et al.* 2014 [24] utførte studie på hvorvidt *I. coccinea* hadde sårhelende egenskaper *in vivo* hvor de hadde kommet frem til at de observerte sårhelende egenskapene fra metanolekstrakt av *I. coccinea*, muligens skyldes en kombinasjon av antibakterielle og antioksidierende effekter, samt fibroblast proliferasjonsegenskaper. En mulig sammenheng mellom den positive sårhelingen og de antimikrobielle egenskapene var at invaderende mikrober forlenget betennelsesfasen under sårheling ved å produsere toksiner og sårvæske som forsinket dannelsen av granuleringsvev [24]. Videre så det ut til at aktivering av polymorfnukleære nøytrofiler og leukocytter og mononukleære lymfocytter og monocytter, samt fagocytose fra makrofager bidro til å stimulere den sårhelende effekten via ROS mediert bakteriedrepende aktivitet fra disse immuncellene [24]. Metanolekstrakt av *I. coccinea* blader viste også positiv effekt under proliferasjonsfasen, mediert via sekresjon av varierende kjemotaktiske molekyler og vekstfaktorer som transformerende vekstfaktor- β (TGF- β), basisk fibroblast vekstfaktor (bFGF) og blodplate-avledet vekstfaktor (PDGF) som er viktige for produksjon og modning av kollagenfibre. Dette var observert i form av signifikant akselerert sårkontraksjon og økt innhold av hydroksyprolin i såret [24]. På bakgrunn av flere vitenskapelige publikasjoner hvor det er blitt funnet at plantebaserte antioksidanter har gunstige effekter når det kommer til reparasjon av sår, ble det også i denne forbindelsen nevnt i studien at *I. coccinea* muligens også kunne bli tatt i bruk ved sårbehandling [24].

Vetriselvan *et al.* 2012 [25] undersøkte antiulcerøse egenskaper av *I. coccinea* bladekstrakt og fant sammenlignbare resultater med famotidin. Bioaktive komponenter som glykosider og flavonoider ble foreslått som ansvarlig for den sårhelende effekten.

9.4.3 Antiinflammatoriske effekter

Lee *et al.* 2010 [18] viste for første gang at ixorapeptide II som ble isolert ved bruk av metanolekstrakt fra overjordisk plantedel av *I. coccinea*, hadde signifikante antiinflammatoriske egenskaper mot nøytrofile immunceller gjennom hemming av superoksid anion generering.

Bhattacharya *et al.* 2011 [26] rapporterte ut fra en dyrestudie at metanolekstrakt fremstilt med *I. coccinea* blomster ga signifikant antiinflammatorisk aktivitet etter karragenan induisert ødem. Metanolekstraktet ble testet ved hhv 200 og 400mg/kg kroppsvekt.

Wickramasinghe *et al.* 2013 [27] viste signifikant hemmende effekt med både metanol- og vannekstrakt av *I. coccinea* blader. Begge ekstraktene hemmet aktivering av nøytrofiler, fagocytose og ROS generering. Effekten var mer potent for metanolekstraktet, hvilket gjenspeilet en bedre antiinflammatorisk aktivitet sammenlignet med vannekstraktet. Denne studien demonstrerte for første gang spesifikk antiinflammatorisk effekt av *I. coccinea* bladekstrakt overfor funksjonaliteten av humane nøytrofiler, dets aktivering og produksjon av reaktive oksygen spesier [27]. Resultater fra denne studien viste en konsentrasjonsavhengig effekt av bladekstraktene. Lavere doser $\leq 500\mu\text{g/ml}$ resulterte i bedre overlevelse blant nøytrofiler og motsatt ved høyere doser $\geq 1000\mu\text{g/ml}$ [27]. For hvert bladekstrakt og fortykning viste *I. coccinea* større inhibitorisk effekt på fagocytose med nøytrofiler når de sammenlignet dette med effekten mot selve aktiveringen av disse. Forklaring var at det muligens fantes andre medvirkende faktorer som også hemmet fagocytosen i tillegg til hemming av membranfluiditeten hos immuncellene. Årsaken bak den inhibitoriske effekten kunne være at bladekstrakt av *I. coccinea* inaktiverte andre fagocytotiske reseptorer [27] som igjen er sammenfallende med dets antiinflammatoriske effekter for øvrig. En annen mulig forklaring på de antiinflammatoriske effektene fra *I. coccinea* var at endringer i membranfluiditet kan endre elektrontransportkjeden, som igjen kan endre pH i fagosom vakuoler og videre resultere i inaktivering av NADPH oksidase, men her mente forskerne at det er skal mer forskning til [27]. De mente også at terpenoider og flavanoider var stoffgruppene som hadde ansvaret for de inhibitoriske effekter av nøytrofiler, og som derfor også medvirket til de antiinflammatoriske effektene som var observert med *I. coccinea* bladekstrakt [27].

Adnan *et al.* 2014 [28] utførte en dyrestudie med gnagere for å undersøke det antiinflammatoriske potensialet i blader fra *I. coccinea*. Ut ifra en karragenan induisert ødemtest rapporterte forskerne at etanolekstraktet testet ved 250 og 500mg/kg ga signifikant inhibisjon av væskeansamling i dyrenes ekstremiteter 6 timer etter at injeksjonen med karragenan. Det ble foreslått at forbindelser som flavonoider, tanniner og triterpener muligens var korrelert til den biologiske aktiviteten [28]

9.4.4 Antinociceptiv og antipyretisk aktivitet

Ratnasooriya *et al.* 2005 [29] studerte potensialet av *I. coccinea* vannekstrakt som smertestillende. Resultatene viste at vannekstraktet hadde vesentlige smertestillende egenskaper med relativt raskt innsettende effekt innen 1 time og med en varighet på 5 timer. Den optimale effekten ble observert etter 3 timer. Den smertestillende effekten var doseavhengig, men samtidig ikke assosiert med skadelige bivirkninger eller noen form for toksiske effekter [29]. Den ble også vist til å være sentralvirkende og mediert hovedsakelig via dopaminerge mekanismer, men også her var det antatt at de antioksidative egenskapene hadde en supplerende rolle i forhold til den reduserte smerten som ble observert [29].

Bhattacharya *et al.* 2011 [26] rapporterte også at metanolekstrakt med *I. coccinea* blomster hadde smertestillende egenskaper ut fra to dyrestudier som de hadde utført, hhv eddiksyre induisert- og varmeplate induserte smerte. Resultatene viste at den smertestillende aktiviteten var konsentrasjonsavhengig hvorav antallet rykninger eller smertebevegelser var blitt signifikant redusert.

Adnan *et al.* 2014 [28] rapporterte også at oral administrering av 250 og 500mg/kg etanolekstrakt fra bladene til *I. coccinea* ga en signifikant økning av reaksjonstiden i forbindelse med en varmeplate test, hvilket indikerte at bladekstraktet hadde smertestillende aktivitet. Forskerne observerte også signifikante resultater fra en eddiksyre induisert smerte test. Samme studie avslørte også at bladekstrakt med *I. coccinea* hadde febernedsettende effekt ut ifra en test der feber ble induisert med ølgjær.

9.4.5 Kardiobeskyttende aktivitet

Momin *et al.* 2012 [30] viste at forbehandling med *I. coccinea* bladekstrakt av doxorubicin-induserte rotter, signifikant reduserte tilstedeværelse av selektive biologiske markører grunnet membranlekkasje ved økt permeabilitet eller ruptur som igjen assosieres med myokardial skade. En reduksjon av enzymer som kreatin kinase-BM (CK-MB), laktat dehydrogenase (LDH), serum glutamat-okaloacetat-transaminase (SGOT), serum glutamat-pyruvat transaminase (SGPT) indikerte at *I. coccinea* bladekstrakt hadde en form for membranbeskyttende eller membranstabiliserende effekt [30]. Elektrokardiografi (ECG) viste at ko-administrering med ekstrakt ga tilnærmet normale verdier. Bladekstraktet viste også at det kunne motvirke blodtrykksfall sammenlignet med kontrollgruppen. Det ble videre observert at *I. coccinea* bladekstraktet reverserte reduksjonen av endogene antioksidanter hhv superoksid dismutase (SOD) og katalase (CAT) samtidig som man fikk se en reduksjon av malondialdehyd (MDA), hvilket gjenspeilte at bladekstraktets antioksidative effekter via inhibisjon av lipid peroksidase [30]. Videre histopatologiske undersøkelser viste at cellene hadde en forbedret integritet sammenlignet med kontroll med fravær av celledød, mindre vaskularisering av cytoplasma, samt normal integritet av hjertemuskelatur [30]. Det ble foreslått at årsaken bak denne kardiobeskyttende effekten kunne ha vært mediert via ”boosting” av endogent antioksidant kapasitet med følgende bekjempelse av oksidativt stress [30].

9.4.6 Hypoglykemisk og hypolipidemisk aktivitet

Maniyar *et al.* 2001 [31] viste i en studie utført med alloxan induserte diabetiske rotter at 400mg/kg vannekstrakt fremstilt med *I. coccinea* blader demonstrerte signifikant reduksjon av blodsukker og serum kolesterol, triglyserider og total protein verdier sammenlignet med kontroll gruppen som fikk administrert glibenclamide. Lavere doseringer med hhv 100-200mg/kg ga ingen nevneverdig reduksjon, hvilket viser til at denne effekten var konsentrasjonsavhengig. Det ble nevnt at de hypoglykemiske effekter av vannekstraktet kunne være forårsaket av økt insulinfrigjøring fra β -celler i pankreas eller stimulert økt opptak av glukose fra vev, men at de bioaktive substansene ikke er helt redegjort for [31]. Det ble vist tilstedeværelse av stoffgrupper som tanniner, saponiner, antrakiner,

antracyanosider og reduserende sukkerer. Alle disse stoffene kunne vært årsaken bak de hypoglykemiske og de lipidsenkende effektene, enten alene eller i en supplerende form, selv om det finnes studier som har rapportert at lignende effekter kan skyldes flavonoider, alkaloider og tanniner [31].

9.4.7 Leverbeskyttende aktivitet

Latha *et al.* 1999 [32] utførte toksikologiske studier med cyklofosfamid-indusert mus. Det ble gjort hepatotoksiske vurderinger hvor de fant ut at mus som var behandlet med blomstekstrakt av *I. coccinea* forut for cyklofosfamid, hadde lavt serum glutamat-pyruvat transaminase (SGPT) og serum alkalisk fosfatase (SAKP), hvilket indikerte beskyttelse mot levertoksisitet. Også her ble den aktive fraksjonen identifisert som triterpenoidet ursolsyre [32].

Lee *et al.* 2010 [18] var de første som viste at ixorapeptid I hadde selektivt potens mot Hep3B leverkreftcellelinjer. Dette var et bioaktivt peptid som sammen med ixorapeptid II, ble isolert og identifisert for første gang med etanolekstrakt av *I. coccinea*, overjordisk del. Ixorapeptid II viste ingen hepatoprotektive egenskaper. Lekkasje av hepatiske enzymer som glutamat-oksaloacetat-transaminase (GOT), glutamat-pyruvat-transaminase (GPT) og alkalisk fosfatase (ALP) indikerer leverskade.

Shyamal *et al.* 2010 [33] undersøkte hepatoprotektive effekter hos alfatoksin B1 (AFB1) induserte mus. Til denne studien ble det brukt etanolekstrakt av tre ulike planter, inkludert *I. coccinea* rotekstrakt. Det ble vist at mus som var forbehandlet med planteekstrakt fikk signifikant leverbeskyttelse bestemt etter 72 timer. Det ble observert en markant reduksjon av leverenzymlekkasje i serum til forskjell fra kontrollgruppen, samtidig som testdyrene fikk reversert reduksjon av glutation (GSH) status. [33] Det ble nevnt at planteekstraktene muligens reduserte nivået av leverenzymmer i serum via en beskyttelsesmekanisme som måtte ha oppstått under kjedereaksjonen som førte til cellulær nekrose og også ved aktiveringstrinnene av AFB1 som betinger den følgende leverskaden, men at det var vanskelig å bestemme den eksakte mekanismen da det kun ble brukt råekstrakt i denne

studien selv om det ble foreslått at ursolsyre fra *I. coccinea* sammen med flavonoidene kunne stå bak den biologiske aktiviteten [33].

Liang *et al.* 2011 [34] gjorde antioksidant undersøkelser for å vurdere hvorvidt *I. coccinea* blomsterekstrakt beskyttet mot oksidativt stress induisert med blyacetat ($\text{Pb}(\text{OAc})_2$). I denne studien brukte forskerne 60 hunnrotter som de delte inn i seks grupper med etterfølgende systematisk foring utover en periode på to uker, for meningen var å studere hvilken effekt blyacetat hadde på kroppsvekt, men også på vekten av leveren og nyrene. I tillegg evaluerte forskerne også de biokjemiske parameterne som ofte er forbundet med oksidativt stress, inkludert glutation peroksidase (GSH-Px) samt malondialdehyd (MDA). Det ble også utført histopatologiske undersøkelser av lever [34].

Resultatene viste at *I. coccinea* blomsterekstrakt alene hadde ingen signifikant, induserbar forandring på økt kroppsvekt. Blomsterekstrakt alene ga verken forandring av biokjemiske markører i serum eller forandring av lever vevsprøver [34]. Det interessante var at den beskyttende effekten fra blomsterekstraktet først kom når det ble kombinert med administrering av blyacetat. Under tilstand med oksidativt stress kunne forskerne observere at blomsterekstraktet signifikant økte verdier i GSH-Px samtidig som det forbedret de biokjemiske parameterne. Dyr som fikk behandling med ekstrakt gjennomgikk en kraftig forbedring i etterkant av blyacetat induisert toksisitet [34].

9.4.8 Antioksidant aktivitet

Latha *et al.* 1999 [32] viste til tidligere eksperimentelt forarbeid i deres laboratorium at den aktive fraksjonen av *I. coccinea* inneholdt effektive antioksidanter siden det motvirket lipid peroksidering og den etterfølgende vevsskaden [35]. Latha *et al.* 2001 [36] gjorde en studie om hvorvidt *I. coccinea* blomsten hadde kjemobeskyttende effekter i cisplatin-induserte mus og fant at ursolsyre og dets antioksidative egenskaper trolig var årsaken bak kjemobeskyttelsen som ble observert.

Saha *et al.* 2008 [37] viste at metanolekstrakt av *I. coccinea* blomsten hadde doseavhengig antioksidantaktivitet. DDPH (1, 1-difenyl, 2-picrylhydrazyl), et stabilt og fritt radikal som blir avfarget når den kommer i kontakt med et antioksidant. Dette ble bestemt kvantitativt ved

forskjeller i absorpsjonsmålinger [37]. Studien viste at antioksidanteffekten var sammenlignbar med askorbinsyre som utgjorde referansen. Denne studien viste også at *I. coccinea* inneholdt reduktanter som reduserte ferricyanid kompleks av treverdig jern til toverdig jern. Denne effekten var meget potent og økte med mengden ekstrakt [37]. Det ble også rapportert at *I. coccinea* blomstekstrakt hadde en sterk total antioksidant kapasitet, uttrykt som antallet askorbinsyre ekvivalenter [37].

Shyamal *et al.* 2010 [33] viste at rotekstrakt av *I. coccinea* hadde antioksidative egenskaper ved å se på viktige biokjemiske markører for antioksidantaktivitet. Reduksjon av malondialdehyd (MDA) sammen med økt glutation i lever hos mus behandlet med *I. coccinea* ekstrakt resulterte i signifikant leverbeskyttelse, hvilket indikerte sterkt for en effektiv eliminering av frie radikaler og andre reaktive intermediater generert fra toksinmetabolismen [33].

Idowu *et al.* 2010 [15] utførte antioksidant undersøkelser og viste at ixoratannin A-2 og cinnamtannin B-1 var de mest effektive blant alle stoffene som ble isolert i forbindelse med denne studien, men at cinnamtannin B-1 var den mest aktive i forhold til samtlige antioksidanttester som ble gjort selv om forskjellen i aktivitet mellom disse to komponentene ble sett på som marginal. Det ble også observert en gradvis økning i antioksidant aktivitet når man gikk fra monomeren epikatekin, via dimeren procyanidin A2 og over til trimeren ixoratannin A-2. Forskerne mente her at årsaken kan skyldes et økende antall frie hydroksylgrupper ved dannelsen av et trimer, noe som generelt har vist å effektivisere antioksidantaktivitet hos flavonoidene [15].

Torey *et al.* 2010 [38] utførte antioksidantstudier med planteekstrakt med *I. coccinea* fra hhv blomst, blad og stamme. Disse ble fremstilt med metanol. Resultatene viste at metanolekstrakt med blomster ga signifikant bedre antioksidant aktivitet sammenlignet med de øvrige ekstraktene samtidig som blomsterekstraktet også hadde høyest innhold av fenoliske forbindelser. Ytterligere viste ekstraktene at de hadde radikalsøkende aktivitet ut ifra en xantin oksidase test hvor standarden som var brukt var allopurinol. I denne testen demonstrerte bladekstraktet større aktiviteten enn blomsterekstraktet, mens ekstrakt fremstilt men stammen fra *I. coccinea* kom sist ut. Forskerne mente at *I. coccinea* kan være en potensiell kilde til naturlige antioksidanter [38].

Haridass *et al.* 2012 [39] undersøkte antioksidant aktivitet med metanol og etylacetat ekstrakt av *I. coccinea* blomster og rapporterte at etylacetat ekstraktet hadde potent radikalsøkende aktivitet ut ifra en DPPH-test, mens begge ekstraktene ellers var like effektive når det kom til radikalsøking av radikaler som superoksidanion og hydroksylradikal. Resultatene viste også at etylacetat ekstraktet hadde et sterkt antioksidant potensial sammenlignet med andre ekstrakter.

Forskerne mente klart at denne studien ga et sterkt bevis for at etylacetat ekstrakt og metanolekstrakt inneholder antioksidant aktivitet, og faktisk ble det nevnt at denne aktiviteten for *I. coccinea* har vært godt studert gjennom *in vitro* studier. Hvorvidt disse ekstraktene vil bli terapeutiske alternativer i behandlingen av kreft er opp til fremtidig forskning med spesiell interesse rettet mot legemiddelutvikling [39].

Upadhyay *et al.* 2013 [24] viste at både etanol- og vannekstrakt av *I. coccinea* bladene hadde DDPH, og ”superoxid radical scavenging activity (SRAS)”, men at aktiviteten var mer fremtredende for etanolekstraktet når det gjaldt DDPH. Vannekstraktet hadde derimot høyere aktivitet i forhold til SRAS. Denne aktiviteten ble ikke observert for verken bladekstrakt med petroleumseter- eller kloroform [24].

Bose *et al.* 2013 [14] rapporterte at quercitrin, en kjemisk forbindelse isolert fra blad tilhørende *I. coccinea* hadde potente antioksidant egenskaper. I denne studien viste forskerne at 80µg/ml av både quercitrin og askorbinsyre ga hhv en inhibisjon på 90.46% og 96.30% ut ifra en DPPH test hvorav IC₅₀ ble observert ved 6.167- og 4.321µg/ml for begge stoffene hhv. En nitrogenoksid fri radikal test viste at quercitrin utkonkurrerte oksygen ved å reagere med NO, og ga en prosentvis inhibisjon og IC₅₀ for både quercitrin på hhv 86.23% og 20.3µg/ml sammenlignet med askorbinsyre som hadde tilsvarende verdier på hhv 03.90% og 17.43µg/ml. Antioksidant aktiviteten til quercitrin ble ansett som signifikant i begge testene [14].

Surana *et al.* 2013 [40] utførte både *in vivo* og *in vitro* studier med rot fra *I. coccinea* og rapporterte at etylacetat ekstraktet hadde god *in vitro* radikalsøkende aktivitet ut ifra et doseavhengig mønster, mens metanolekstraktet hadde god *in vivo* antioksidant aktivitet sammenlignet med de øvrige ekstraktene som var hhv petroleumseter, kloroform og etylacetat. Ut ifra DPPH-, NO-, H₂O₂-testen, ble det funnet at den radikalsøkende effekten økte med økende konsentrasjon for alle ekstraktene. Substanser som kan reagere med DPPH,

et nitrogensentret stabilt radikal, blir ansett for å være antioksidanter eller radikalsøkere for de evner til å redusere DPPH ved hydrogen- eller elektrondonasjon [40]. Nitrogenoksid (NO) er en viktig mediator i mange fysiologiske prosesser, eksempelvis relaxering av glatt muskulatur, nervesignalering, inhibisjon av plateaggregering, men også regulering av cellemediert toksisitet. Nitrogenoksid er et fritt radikal som har innspill som effektor molekyl i mange biologiske systemer. Det utgjør en viktig transmittersubstans i både nerve- og det vaskulære systemet, men er også av viktighet når det kommer til antimikrobiell og antitumor aktiviteter [40]. Selv om både NO og superoksid radikaler er involvert i forsvarsmekanismer for verten, utgjør en overproduksjon av disse to forbindelsene en også en trussel da disse kan bidra til patogenese av inflammatoriske sykdommer. Ytterligere vil NO under patologiske tilstander kunne reagere med superoksid anion å danne peroksnitritt, et potensielt celletoksisk molekyl [40]. Ut ifra dette er det selvfølgelig ønskelig å finne aktive stoffer i planteekstrakt som har en hemmende aktivitet overfor nitrogenoksid, og som nevnt viste *I. coccinea* etylacetat ekstrakt en doseavhengig inhibisjon av dette NO radikalet [40]. Videre fremgår det at inhibisjon av hydrogenperoksid (H₂O₂) muligens kunne være forårsaket av fenoliske forbindelser som kan donere elektroner til H₂O₂, som dermed blir nøytralisert til vann. Selv om H₂O₂ i seg selv ikke er så veldig reaktivt kan det også forårsake celletoksitet ved at det kan være opphav til dannelsen hydroksylradikaler [40].

In vivo antioksidant aktivitet ble undersøkt gjennom haloperidol-indusert katalepsi som er et fenomen hvor man får en langvarig opprettholdelse av en unormal kroppsstilling pga stivhet. Metabolisering av haloperidol i kroppen skjer via oksidative mekanismer hvor katalepsien avtar etter hvert som haloperidol blir oksidert [40]. I denne studien kombinerte forskerne haloperidol-indusert katalepsi med *I. coccinea* planteekstrakt og observerte at katalepsien ble potensert og forlenget utover 60 minutter og bakgrunnen for dette var det fantes aktive forbindelser i rotekstraktet som hemmet metabolisering av haloperidol. Som nevnt hadde *I. coccinea* rotekstrakt med metanol bedre aktivitet sammenlignet med ekstrakter av petroleumseter, kloroform og etylacetat [40]. Forskerne konkluderte med at den frie radikalsøkende effekten fra *I. coccinea* er konsentrasjonsavhengig og øker ved høyere doser, og at fremtidige studier bør forsøke isolere samt identifisere antioksidant komponenter fra *I. coccinea* [40].

9.4.9 Antineoplastisk aktivitet

Latha *et al.* 1998 [41] viste at den aktive fraksjonen av råkstraktet fra *I. coccinea* blomster hadde antitumor effekter overfor intraperitonealt transplantert Dalton's lymfom (DLA) og Ehrlich ascites karsinom (ECA) i mus. Råkstrakt av blomstene hadde ved konsentrasjon 200mg/kg, en signifikant livsforlengende effekt på ascites tumor-bærende mus med begge kreftcelletypene, men effekten var bedre blant de med DLA-kreftceller. Den samme aktive fraksjonen viste også celletoksisitet mot DLA og ECA, men også her var effekten markant bedre mot DLA-kreftceller. Administrert konsentrasjon på 100mg/kg eller lavere viste ingen signifikant inhibisjon av tumorvekst, hvilket tilsa at den aktive fraksjonen hadde en konsentrasjonsavhengig aktivitet [41]. Det interessante med denne studien var at råkstraktet av blomstene viste selektivitet mellom ikke toksiske effekter mot normale friske lymfocytter, men kun mot de som var blitt krefttransformerte [41]. Det ble foreslått at dette kunne være forårsaket av en spesifisitet på membrannivå hos lymfocytene, hvilket resulterte i flere bindingsmuligheter for biologisk aktive komponenter på en slik måte at disse lettere kunne komme inn i de krefttransformerte cellene å utøve sin hemmende aktivitet overfor DNA syntesen [41]. Videre administrering av *I. coccinea* råkstrakt utover 48 timer reduserte den celletoksiske aktiviteten, muligens på grunn av at den aktive fraksjonen med tiden ble metabolisert, eller kunne det også ha vært snakk om en form for resistensutvikling [41].

Lupeol, et bioaktivt triterpen var undersøkt av Palanimuthu *et al.* 2012 [42] for dets kjemobeskyttende egenskaper ved 7,12-dimetylbenz(a)anthracene DMBA induisert oralkreft. Det ble vist at oral administrering av lupeol med en dose av 50mg/kg, fullstendig hemmet dannelsen av orale tumorer. Det ble også vist at lupeol reduserte alvorligheten av sykdomsforløpet samtidig som den restaurerte statusen av biokjemiske markører under DMBA induisert karsinogenese. Det var trolig antioksidative og immunmodulerende egenskaper av lupeol som stod ansvarlig for den kjemobeskyttende effekten som ble observert [42]. Denne studien pekte i retning av at lupeols kjemobeskyttende egenskaper virket via hemming eller suppresjon som oppstår når normale friske celler eksponeres for DMBA og det ble også foreslått at de celletoksiske egenskapene til lupeol kan skyldes dets hemming av kompleksdannelse mellom topoisomerase og DNA [42]. Det kom også frem av denne studien at den immunmodulerende effekten som ble demonstrert av lupeol muligens

kan skyldes at kaskadeeffekter under leverens detoksifisering via fase I og fase II metaboliserende leverenzzymer, favoriserer eliminasjon av karsinogene produkter [42]

Shyamal *et al.* 2010 [33] viste at rotekstrakt av *I. coccinea* via dets antioksidative egenskaper muligens kunne motvirke leverkarsinogene effekter av alfatoksin B1 metabolitt sett ut fra den leverbeskyttelsen som alfatoksin-induserte mus oppnådde, selv om hovedfokuset i denne studien ikke var leverkreft, men heller den generelle leverbeskyttelsen.

9.4.10 Antimutagen aktivitet

Wongwattanasathien *et al.* 2010 [43] gjorde undersøkelser med bakterien *Salmonella typhimurium* for å se på antimutagene effekter av forskjellige thailandske blomster hvorav *I. coccinea* var tatt med. Det ble laget 3 ulike blomsterekstrakter av hhv diklormetan, metanol og vann. De fant ut at ingen av ekstraktene selv ved høye konsentrasjoner var mutagene før etter at de under Ames testen var blitt behandlet med natriumnitritt. Det interessante for *I. coccinea* og for noen av de andre ekstraktene, var at mutagenisering etter nitritteksponering muligens var forårsaket av kjemiske komponenter i blomstene som kunne opptre som prekursorer for mutagene stoffer [43]. Det ble foreslått at i denne studien foreslått at flavonoider kunne stå bak den antimutagen effekten [43]

9.4.11 Kjemobeskyttende aktivitet

Latha *et al.* 1999 [32] demonstrerte at den aktive fraksjonen av *I. coccinea* blomsten hadde kjemobeskyttende egenskaper når den ble brukt i kombinasjon med syklofosamid induserte mus. Testdyrene i denne gruppen hadde forlenget levetiden samtidig som de fikk motvirket vekt tap og beholdt tilnærmet normale leukocyt- og hemoglobin nivåer sammenlignet med kontrollgruppen som kun ble behandlet med syklofosamid. Resultatene indikerte at det kunne benyttes høyere doser av syklofosamid dersom aktiv fraksjon med *I. coccinea* blomsterekstrakt ble ko-administrert [32]. Denne kombinasjonen ble oppfordret til å bli tatt i bruk for kreftpasienter som gjennomgår syklofosamidbehandling [32]. Det ble i denne

studien også demonstrert for kjemobeskyttende egenskaper i forhold til leverskader hvor det ble bl.a observert en redusert lekkasje av serumleverenzymmer [32].

Latha *et al.* 2001 [36] viste samme resultater for effekten av den aktive fraksjonen av *I. coccinea* blomst. Kombinasjonsbehandling med *I. coccinea* blomstekstrakt og cisplatin forlenget levetiden hos testdyrene signifikant, samtidig som de fikk gjennomgå mindre vekttap sammenlignet med cisplatin gruppen, som også ga en gradvis nedgang i både antallet hvite blodlegemer samt hemoglobin nivå i forhold til kombinasjonsgruppen hvor disse verdiene var tilnærmet normalisert [36]. På den andre siden var den kjemobeskyttende effekten mot nyretoksisitet marginal sett i fra økte verdier av blod urea nitrogen (BUN) [36]. Den aktive fraksjonen av *I. coccinea* forsinket de skadelige effektene av cisplatin i signifikant og som nevnt var det trolig ursolsyre som stod bak de gunstige effektene som ble observert [36].

9.5 Toksiske egenskaper

I en review artikkel fra Liu 1995 [44] ble det nevnt at parenteral injisering av oleanolsyre i høye doser førte til kolestase hos mus. Ursolsyre, isomeren til oleanolsyre, er et triterpenoid som har gjennomgått mange farmakologiske studier, og har ut ifra disse demonstrert mange gunstige biologiske effekter. Disse syrene er relativt lite toksiske og finnes oftest naturlig som frie syrer eller i aglykon-form [44].

Atiq-Ur *et al.* 2012 [45] undersøkte kardiovaskulære og toksiske aktiviteter i marsvin med ulike fraksjoner av blomsterekstrakt fra *I. coccinea*. Ekstrakt med hele blomsten økte blodgjennomstrømmen, senket både hjertefrekvensen og trykket i hjertet. Alle fraksjonene demonstrerte doseavhengig aktivitet og disse var hhv fremstilt med etylacetat, metanolbenzen, metanol og vann. Alle fraksjonene inkludert ekstrakt med helblomst var kardiotoxiske og stoppet hjertet fullstendig og det tok hjertet mellom 30 minutter til en time for å delvis gjenvinne seg, mens metanolfraksjonen hadde ingen kardiotoxiske doser uavhengig av konsentrasjon.

Haridass *et al.* [39] 2012 rapporterte at etylacetat ekstrakt demonstrerte potent celledøds-effekt overfor humane celler (HeLa) med IC_{50} verdier på $42.28 \pm 1.63 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ etterfulgt av metanolekstrakt med IC_{50} verdi på $73.50 \pm 3.22 \mu\text{g}/\mu\text{l}$. Petroleumseter ekstraktet hadde derimot mindre aktivitet med IC_{50} verdi på $119.47 \pm 4.01 \mu\text{g}/\mu\text{l}$. Det fremgår fra denne studien at antikarsinogene agenser som tillegg er kombinert med andre aktiviteter som antioksidant, celledøds-effekt og celledød muligens er å foretrekke fremfor agenser som kun har celledøds-effekt fordi ikke bare forsinker disse karsinogenesen ved å inhibere vekst av kreftceller, men at de også samtidig motvirker kroniske komplikasjoner som oppstår ved induksjon av kreftcelledød uten å skade friske naboceller. I tillegg til dette medvirker slike agenser til mindre bivirkninger som ofte er forbundet med kjemoterapi [39].

Det var ingen artikler som handlet utelukkende om *I. coccinea* og dets toksiske effekter, men dette temaet ble ofte fremmet i forbindelse med andre farmakologiske studier og er allerede forsøkt beskrevet under avsnittene om leverbeskyttende effekter og neoplastiske effekter. Jeg henviser dermed til det som er beskrevet ovenfor.

9.6 Kliniske studier

Det var ikke mange kliniske studier som har blitt gjort med *I. coccinea*. Fra "The Cochrane Library" lå det publisert en klinisk randomisert og kontrollert studie som omhandlet *I. coccinea* bladekstrakt og dets bruk som munnskyll overfor pasienter med kronisk gingivitt [46]. Her var det de anti-plakk egenskapene som ble evaluert og kontrollgruppen brukte det velkjente munnskyllemidlet klorheksidin. Begge gruppene demonstrerte signifikant reduksjon av både betennelse og plakk. Den eneste forskjellen mellom gruppene var at bladekstrakt med *I. coccinea* ikke førte til misfarging av tennene [46].

9.7 Konklusjon

Det finnes i dag åpenbart en betydelig mengde vitenskapelige artikler vedrørende *I. coccinea* som er blitt publisert. Disse studiene gir en klar indikasjon at *I. coccinea* har biologisk aktivitet, spesielt med tanke på antioksidative og andre cellebeskyttende effekter. Jeg fant

ingen studier hvor den appetittøkende aktiviteten ble evaluert og kan dermed ikke validere for den burmesiske påstanden når det kommer til den tradisjonelle bruken. Uavhengig kan det tenkes at den cellebeskyttende aktiviteten som *I. coccinea* har demonstrert kan være forbundet med økt matlyst. Det er velkjent at pasienter som lider av ulike former for kreft også vil ha redusert matlyst, og at en reversering av celletoksisiteten vil ha en tilsvarende effekt overfor pasientens appetitt. Flere studier er påkrevd, men det ser ut til at lupeol og ursolsyre utgjør viktige konstituenten i denne planten.

9.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-103356>. 2015.05.12.
2. Baliga, M.S. and Kurian, P.J. : *Ixora coccinea* Linn.: traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, **18**(1), (2012), 72-9.
3. Flora and Fauna of Tropical Asia.
URL: <http://tropics.nu/ixora-or-jungle-geranium/>. 2015.05.12.
4. Wangensteen, H., Klarpas, L., Alamgir, L., Samuelsen, A.B., Malterud, K.E.: Can scientific evidence support using Bangladeshi traditional medicinal plants in the treatment of diarrhoea? A review on seven plants. *Nutrients*, **5**(5), (2013), 1757-800
5. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
6. Ikram, A., Versiani, M.A., Shamshad, S., Ahmed, S.K., Ali, S. T., Faizi, S.: Ixorene, a new dammarane triterpene from the leaves of *Ixora coccinea* Linn. *Records of Natural Products*, **7**(4),(2013), 302-306
7. Ragasa, C.Y., Tiu, F., Rideout, and J.A. : New cycloartenol esters from *Ixora coccinea*. *Natural Product Research*, **18**(4), (2004), 319-323.
8. Sumathy, H., Sangeetha, J., Vijayalakshmi, K.: Chromatographic fingerprint analysis of *Ixora coccinea* methanolic flower extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **3**(4), (2011), 327-330.
9. Latha, P.G., Nayar, M.N.S., Singh, O.V., George, V., Panikkar, K.R., Pushpangadan, P.: Isolation of antigenotoxic ursolic acid from *Ixora coccinea* flowers. *Actualidades Biologicas (Medellin, Colombia)*, **23**(74), (2001), 21-24.
10. Joshi, A.B., Surlikar, P.M., Bhoje, M.: *Ixora Coccinea* linn: phytochemical investigation. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry Research*, **3**(3), (2013), 691-696.
11. Versiani, M.A., Ikram, A., Khalid, S., Faizi, S., Tahiri, I.A.: Ixoroid: a new triterpenoid from the flowers of *Ixora coccinea*. *Natural Product Communications*, **7**(7), (2012), 831-834.
12. Srinivasan, G.V., Sharanappa, P., Udayan, P.S., Leela, N.K., Vijayan, K.K.: Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ixora coccinea* L. root. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, **32**(1), (2010), 27-30.

-
13. Jaiswal, R., Karar, M.G.E., Gadir, H.B., Kuhnert, N.: Identification and Characterisation of Phenolics from *Ixora coccinea* L. (Rubiaceae) by Liquid Chromatography Multi-stage Mass Spectrometry. *Phytochemical Analysis*, **25**(6), (2014), 567-576.
 14. Bose, S., Maji, S., Chakraborty, P.: Quercitrin from *Ixora coccinea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, **2**(2), (2013), 72-74.
 15. Idowu, T.O., Ogundaini, A.O., Salau, A.O., Obutor, E.M., Bezabih, M., Abegaz, B.M.: Doubly linked, A-type proanthocyanidin trimer and other constituents of *Ixora coccinea* leaves and their antioxidant and antibacterial properties. *Phytochemistry*, **71**(17-18), (2010), 2092-8.
 16. Ghazali, N., Abdullah, N.A., Abu Bakr, A., Mohamad, N.K.: GC-MS analysis of some bioactive components in the root extract of *Ixora coccinea* Linn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **5**(3), (2014), 197-203.
 17. Torres, D.V., Cabrera, S.P., Saavedra, C.M.A., Torres, C.G.M.: Phytochemical screening of alcoholic, ether and aqueous extracts from leaves, stems and flowers of *Ixora coccinea* L. *Quimica Viva*, **8**(3), (2009), 185-191.
 18. Lee, C.L., Liao, Y.C., Hwang, T.L., Wu, C.C., Chang, F.R., Wu, Y.C.: Ixorapeptide I and ixorapeptide II, bioactive peptides isolated from *Ixora coccinea*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20**(24), (2010), 7354-7.
 19. Scifinder.
URL:<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>.
2015.05.12
 20. Latha, P.G., Abraham, T.K., Panikkar, K.R.: Antimicrobial properties of *ixora coccinea* L. (Rubiaceae). *Ancient Science of Life*, **14**(4), (1995), 286-91.
 21. Annapurna, J., Amarnath, P.V., Amar Kumar, D., Ramakrisna, S.v., Raghavan, K.V.: Antimicrobial activity of *Ixora coccinea* leaves. *Fitoterapia*, **74**(3), (2003), 291-3.
 22. Selvaraj, N., Lakshmanan, B., Mazumder, P.M., Karuppasamy, M., Jena, S.S., Pattnaik, A.K.: Evaluation of wound healing and antimicrobial potentials of *Ixora coccinea* root extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **4**(12), (2011), 959-63.
 23. Marimuthu, M.M., Aruldass, C.A., Sandrasagan, U.M., Mohamad, S., Ramanathan, S., Mansor, S.M., Maurugaiyah, V.: Antimicrobial activity and phytochemical

-
- screening of various parts of *Ixora coccinea*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **8**(10), (2014), 423-429.
24. Upadhyay, A., Chattopadhyay, P., Goyary, S., Mitra Mazumder, P., Veer, V.: *Ixora coccinea* Enhances Cutaneous Wound Healing by Upregulating the Expression of Collagen and Basic Fibroblast Growth Factor. *International Scholarly Research Notices Pharmacology*, **2014**, (2014), 751824.
25. Vetriselvan, S., Felix, A.E., Magendran, R., Ponnaiyakannan, S., Prabakaran, T., Jothi, S., Davan, R.: The phytochemical screening and the anti-ulcer activity of methanolic extract of *Ixora Coccinea* Linn leaf. *Journal of Pharmacy Research*, **5**(6), (2012), 3074-3077.
26. Bhattacharya, A., Kar, D.R., Sengupta, A., Ghosh, G., Mishra, S.K.: Evaluation of antiinflammatory and analgesic activity of *Ixora coccinea* flower extract. *Asian Journal of Chemistry*, **23**(10), (2011), 4369-4372.
27. Wickramasinghe, R., Kumara, R.R., De Silva, E.D., Ratnasooriya, W.D., Handunnetti, S.: Inhibition of phagocytic and intracellular killing activity of human neutrophils by aqueous and methanolic leaf extracts of *Ixora coccinea*. *Journal of Ethnopharmacology*, **153**(3), (2014), 900-7.
28. Adnan, M.S.A., Al-Amin, M.M., Nasir Uddin, M.M., Shohel, M., Bhattacharjee, R., Hannan, J.M.A., Das, B.K.: Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Ixora coccinea*. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, **25**(4), (2014), 423-428.
29. Ratnasooriya, W.D., Deraniyagala, S.A., Bathige, S.D.N.K., Goonasekara, C.L., Jayakody, J.R.A.C.: Antinociceptive action of aqueous extract of the leaves of *Ixora coccinea*. *Acta Biologica Hungarica*, **56**(1-2), (2005), 21-34.
30. Momin, F.N., Kalai, B.R., Shikalgar, T.S., Naikwade, N.S.: Cardioprotective effect of methanolic extract of *Ixora coccinea* Linn. leaves on doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, **44**(2), (2012), 178-83.
31. Maniyar, Y. and Bhixavatimath, P.: Evaluation of the hypoglycaemic and hypolipidaemic activities of the aqueous extract of the leaves of *Ixora Coccinea* Linn in diabetic rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, **5**(7), (2011), 1381-1384.

-
32. Latha, P. and Panikkar, K.: Modulatory effects of *Ixora coccinea* flower on cyclophosphamide-induced toxicity in mice. *Phytotherapy Research*, **13**(6), (1999), 517-520.
 33. Shyamal, S., Latha, P.G., Suja, S.R., Shine, V.J., Anuja, G.I., Sini, S., Pradeep, S., Shikha, P., Rajasekharan, S.: Hepatoprotective effect of three herbal extracts on aflatoxin B1-intoxicated rat liver. *Singapore Medical Journal*, **51**(4), (2010), 326-331.
 34. Liang, X., Mo, guo., Chen, X., Du, Y., Liu, H., Jia, G.: Inhibitory effect of *Ixora coccinea* L. against lead acetate-induced oxidative stress. *Hainan Shifan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, **24**(2), (2011), 194-197.
 35. Latha, P.G.: Antitumour properties of *Ixora coccinea* L. and *Psoralea corylifolia* L. *Unpublished Ph. D. thesis, University of Kerala, Trivandrum, India*, (1996).
 36. Latha, P. and Panikkar, K.: Chemoprotective effect of *Ixora coccinea* L. flowers on cisplatin induced toxicity in mice. *Phytotherapy Research*, **15**(4), (2001), 364-366.
 37. Saha, M.R., Alam, M.A., Akter, R., Jahangir, R.: In vitro free radical scavenging activity of *Ixora coccinea* L. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, **3**(2), (2008), 90-96.
 38. Torey, A., Sasidharan, S., Latha, L.Y., Sauhakaran, S., Ramanathan, S.: Antioxidant activity and total phenolic content of methanol extracts of *Ixora coccinea*. *Pharmaceutical Biology (London United Kingdom)*, **48**(10), (2010), 1119-1123.
 39. Haridass, S., Sekar, S., Vijayan, R., Jayakumar, S., Thtmizharasu, S., Krishnamurthy, V., Chidambaram, S.B.: Relative antioxidant and cytotoxic activities of *Ixora coccinea* flower extracts. *Journal of Pharmacy Research*, **5**(3), (2012), 1403-1408.
 40. Surana, A.R., Aher, A.N., Pal, S.C.: In vitro and in vivo antioxidant activity of *Ixora coccinea*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7**(41), (2013), 3071-3075.
 41. Latha, P.G. and Panikkar, K.R.: Cytotoxic and antitumour principles from *Ixora coccinea* flowers. *Cancer Letters*, **130**(1-2), (1998), 197-202.
 42. Palanimuthu, D., Baskaran, N., Silvan, S., Rajasekaran, D., Manoharan, S.: Lupeol, A Bioactive Triterpene, Prevents Tumor Formation During 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene Induced Oral Carcinogenesis. *Pathology and Oncology Research*, **18**(4), (2012), 1029-1037.
 43. Wongwattanasathien, O., Kangsadalampai, K., Tongyonk, L.: Antimutagenicity of some flowers grown in Thailand. *Food and Chemical Toxicology*, **48**(4), (2010), 1045-1051.

-
44. Liu, J.: Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, **49**(2), (1995), 57-68.
 45. Atiq Ur, R., Taqvi, S.I.H., Versiani, M.A., Ikram, A., Ahmed, S.K.: Effects of whole flower and fractions of *Ixora coccinea* Linn. on cardiovascular system: a preliminary report. *Journal of Chemical Society of Pakistan*, **34**(3), (2012), 758-766.
 46. Than, M.A., Oo, M.W., Hla, T.H., Than, A., Tut, T., Lwin, M.T.: Anti-inflammatory and anti-plaque activity of Ponna yeik (*Ixora coccinea* Linn.) leaves extract used as a mouthwash on chronic gingivitis patients. *Myanmar Health Sciences Research Journal*, **21**(1), (2009), 26-31.

10 *Rothea incisa* (Klotzsch) Steane &

Mabb.

10.1 Beskrivelse

Rothea incisa (Klotzsch) Steane & Mabb er det aksepterte navnet på en planteart fra *Rothea* slekten tilhørende plantefamilien *Lamiaceae* [1]. Planten sies å være opprinnelig fra Afrika [2]. *Clerodendrum incisum* L., et akseptert synonymnavn til *R. incisa* [1] er også kjent som ”musical notes” og ”morning kiss” [2]. Knoppene vekker mer interesse enn selve blomstene fordi disse er formet som hvite musikknoter som stikker ut fra toppen av stammen. Blomstringen skjer periodisk gjennom de varmere månedene.



Figur 25 viser et bilde av *R. incisa* [3].

10.2 Tradisjonell bruk

I Burma har *R. incisa* vært påstått å ha en medisinsk anvendelse overfor kjønnssykdommer [4]. I India blir *R. incisa* i stor utstrekning brukt dekorativt som blomsterpynt i hagebruk hvorav den lave tilgjengeligheten av denne planten har ført til forskning for å fremskynde dens vekst som del av en viktig industri [2].

10.3 Kjemiske substanser

<i>Rothea incisa</i> (Klotzsch) Steane & Mabb.				
	plantedel			
stoffgruppe/ kjemisk substans	rot	kvist	blad	referanse
iridoider				
hhv 8-O-foliamentoyeufrosid		x	x	[5]
2'-O,8-O-difoliamentoyeufrosid		x	x	[5]
eufrosid				
plantarenaloid	x			[5]

Stenzel *et al.* [5] 1986 isolerte to nye iridoider hhv 8-O-foliamentoyeufrosid og 2'-O,8-O-difoliamentoyeufrosid sammen med eufrosid, et tidligere kjent iridoid i både blader og kvister fra *R. incisa*. Fra røttene isolerte de plantarenaloid, et iridoid som også var blitt rapportert tidligere [5].

10.4 Biologisk aktivitet

10.4.1 Insektdrepende aktivitet

Goyal *et al.* [2] 2010 rapporterte fra en tidligere studie som at *R. incisa* inneholdt insektdrepende aktivitet. Kalyanasundaram & Das [6] 1985 var forskerne som gjorde denne studien. Studien ble gjort overfor ulike myggstammer med hhv *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* og *Aedes aegypti*. Ti ulike planter ble utvalgt til denne studien og iblant disse inngikk en planteart referert som *Clerodendrum inerme* som ifølge det Plantlist ikke er samme planteart som *R. incisa* [7]. *C. inerme* var heller ikke blant de utvalgte plantene som utviste størst insektdrepende effekt. Aktiviteten kom først ved høyere konsentrasjoner sammenlignet med *Croton spariflorus*, den eneste blant de utvalgte plantene som demonstrerte aktivitet ved lave konsentrasjoner [6]. Ut ifra dette kan vi ikke forutsette at *R. incisa* har insektdrepende effekt, noe som muligens kunne ha fått medisinske implikasjoner i forhold til malariabehandling.

10.5 Toksikologiske studier

Ingen studier funnet.

10.6 Kliniske studier

Ingen studier funnet.

10.7 Konklusjon

Det finnes tilsynelatende ingen farmakologiske studier som er blitt utført med *R. incisa*. Den tradisjonelle medisinske påstanden fra Burma om bruken overfor kjønnssykdommer har til dags dato ingen vitenskapelig forankring i den moderne medisinen. Flere studier er påkrevd.

10.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-179959>. 2015.05.12.
2. Goyal, S., Shahzad, A., Anis, M., Khan, S.: Multiple shoot regeneration in *Clerodendrum incisum* L., - an ornamental woody shrub. *Pakistan Journal of Botany*, **42**(2), (2010), 873-878.
3. Encyclopedia of Life.
URL:<http://eol.org/pages/5383583/overview>. 2015.05.12.
4. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
5. Stenzel, E., Rimpler, H., Hunkler, D.: Iridoid glucosides from *Clerodendrum incisum*. *Phytochemistry*, **25**(11), (1986), 2557-61.
6. Kalyanasundaram, M., Das, P.: Larvicidal and synergistic activity of plant extracts for mosquito control. *Indian Journal of Medical Research*, **82**(1), (1985), 19-23.
ThePlant List.
7. URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-42703>. 2015.05.12.

11 *Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb

11.1 Beskrivelse

Rotheca serrata (L.) Steane & Mabb er ifølge det Plantlist det aksepterte navnet på en planteart fra slekten *Rotheca* og tilhører plantefamilien *Lamiaceae* [1]. *R. serrata* er en flerårig, treaktig busk som opprinnelig kommer fra Øst-India og Malaysia. Planten bli mellom 1-2,5 meter høy. Modne røtter er harde, treaktige og sylindriske i formen og kan bli noe imellom 1-1,5cm i diameter med en lengde på mellom 2–3cm. Roten har en brun farge på utsiden, men har en gulbrun fargenyanse på innsiden. Unge røtter er glatte og langstrakte til sammenligning med de eldre som robuste, hårete og avskallet på enkelte områder slik at rotvevet på innsiden vises utvendig. Roten har en bitter smak og en karakteristisk lukt. Barken er hard og tynn samtidig, knekker lett og kan enkelt separeres fra stammen. Bladene er glatte på overflaten, oppdelte, smale, tåreformet og avlange med spiss. Blomstene blomstrer mellom august og september månedene, er blåfarget og har fem kronblad. Fruktene består av glatte steinfrukt som er nesten runde i formen [2].



Figur 26 viser et bilde av *R. serrata*[3].

11.2 Tradisjonell bruk

Patel *et al.* 2014 [2] skrev en omfattende review som omhandlet *Clerodendrum serratum* (L.) Moon hvor de gjennomgikk den tradisjonelle medisinske bruken, plantekjemien samt farmakologiske aktiviteter. *C. serratum* er ifølge the Plantlist et synonymnavn for *R. serrata* [1]. I den videre beskrivelsen har jeg valgt å bruke det aksepterte navnet *R. serrata* etter the Plantlist.

R. serrata har vært brukt i stor utstrekning av mange medisinske systemer fra forskjellige innfødte folkegrupper. Planten har i kombinasjon med andre planter vært brukt mot respiratoriske lidelser, spesielt astma. Gjennom den tradisjonelle bruken har det blitt fremstilt mange forskjellige formuleringer med denne planten hvorav kapsler og tablettar også har vært rapportert. Bruken av *R. serrata* har blitt dokumentert i mange Ayurvediske tekster av forskjellige forfattere [2]. Det er videre blitt rapportert at *R. serrata* har hatt medisinsk anvendelse mot forkjølelse, bronkitt, bronkial astma og tuberkulose ettersom planten var vist seg å være et effektivt slimløsende middel [2]. Roten og bladene fra *R. serrata* har vært påstått å være bra mot smerter, betennelse, revmatisme, respiratoriske lidelser og feber av typen som assosieres spesielt med malaria [2]. Som et slimløsende middel har planten også vært brukt mot hikke og stemmetap. Det har også vært brukt mot hoste, innvollsorm, men også brennende følelse i sår [2]. Andre medisinske egenskaper som har vært rapportert for denne planten er appetittøkende, rensing av blod og blodsykdommer, fordøyelse, lakserende, anoreksi, motvirker kramper, svulster og epilepsi [2]. Av formuleringene som blir nevnt har vi *R. serrata* som del i en urteblanding med honning som blir gitt ved hikke. En annen oppskrift mot hikke er pulverisert rot blandet med sukker eller syltetøy. Juice fra roten sammen med ingefær blir gitt for å motvirke astmasymptomer og dyspne. Avkok av røtter fra *R. serrata* har vist å være meget effektivt mot væskeansamlinger i kroppen. Andre urteblandinger inneholdende *R. serrata* har vært brukt mot livmorkreft [2]. Bladene har vært rapportert å ha vært tilberedt som grønnsaker ved feber, malariafeber og hikke. Til utvendig bruk har bladene hatt medisinsk anvendelse ved hodepine og øyebetennelse, hevelser og i forbindelse med sårtilheling [2]. Mesteparten av den tradisjonelle bruken som har vært rapportert omhandlet rot og blader. I Burma tilberedes avkok med røtter fra *R. serrata* som blir gitt til mødre som styrkedrikk etter fødsel [4].

Forfatterne av denne review artikkelen skriver at manglende rapportering om den tradisjonelle bruken med andre plantedeler som bark, stamme og frø taler styrkende for det som er blitt rapportert ut ifra ayurvediske tekster og annen tradisjonell litteratur om at det har vært planteroten som har hatt den mest fremtredende bruken [2].

11.3 Kjemiske substanser

<i>Rothea serrata</i> (L.) Steane & Mabb						
	plantedel					
stoffgruppe/ kjemisk substans	rot	bark	stamme	blad	over- jordisk	referanse review(r)
flavonoider						
apigenin-7-glukosid	x					[2](r)[5]
luteolin 7- β -D-glukuronid				x		[2](r)
luteolin				x		[2](r)
scutellarein				x		[2](r)
apigenin				x		[2](r)
6-hydroksy luteolin				x		[2](r)
baicalein				x		[2](r)
5-hydroksy-7,4-dimetoksy flavon			x			[2](r)
40,5,7-trihydroksy-flavon					x	[2](r)
terpenoider						
oleanolsyre	x	x				[2, 6]
queretarin syre	x	x				[2, 6]
cerretagenic syre	x	x				[2, 6]
bauer-9-en-3-on			x			[2](r)
se-saponin A					x	[2](r)
serratin				x		[2](r)[7]

lupeol				x		[2](r)[7]
cleroserrosid A					x	[8]
cleroserrosid B					x	[8]
saponiner						
icosahdropicenic syre	x					[9] [2](r)
steroler						
β -sitosterol			x			[2](r)
γ -sitosterol	x					[2](r)
spinasterol			x			[2](r)
spinasteryl- β -D-glukopyranosid			x			[2](r)
α -spinasterol				x		[2](r)
stigmasterol					x	[2](r)
bis(2-etylheksyl) ftalat					x	[2](r)
serratumin A					x	[2](r)[10]
iridoider						
7- β -kumaroyl-oksyugandosid				x		[2](r)[11]
7- β -cinnamoyl-oksyugandosid				x		[2](r)[11]
serratosid A					x	[2](r)[12]
serratosid B					x	[2](r)[12]
fenylpropanoider						
(+)-katekin				x		[2](r)
kaffesyre				x		[2](r)
ferulsyre				x		[2](r)
serratumosid-A					x	[2](r)[13]
myricosid					x	[2](r)
acteosid				x	x	[2](r)[11]

martynosid				x	x	[2](r)[11]
karbohydrater						
D-mannitol	x					[2, 6]
glukose	x					[2](r)
sukrose			x			[2](r)

Yang *et al.* 1999 [8] isolerte to nye diterpen glukosider fra overjordiske plantedeler tilhørende *R. serrata*. Forbindelsene var hhv cleroserrosid A og cleroserrosid B.

Yang *et al.* 2000 [12] isolerte to nye iridoid glukosider som var kalt for serratosid A og serratosid B fra de overjordiske plantedelene fra *R. serrata*.

Yang *et al.* 2000 [13] isolerte serratumoside A, et nytt fenyylpropanoid glykosid med overjordiske plantedeler fra *R. serrata*.

Yang *et al.* 2000 [10] isolerte i serratumin A, et nytt monoterpensyre derivat med overjordiske plantedeler fra *R. serrata*.

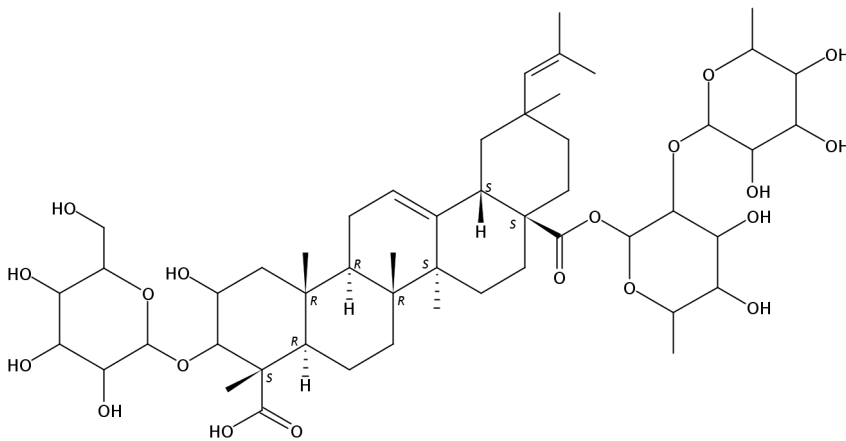
Wei *et al.* 2000 [11] isolerte fire forbindelser med ekstrakt fra bladene til *R. serrata*. Disse forbindelsene var hhv 7-O-p-kumaroyloksyugandosid, 7-O-cinnamoyloksyugandosid, acteosid og martynosid hvorav de to førstnevnte forbindelsene var helt nye iridoid glukosider, mens de to sistnevnte var fenyylpropanoid glykosider som var isolert for første fra denne planten som her var referert som *C. serratum*.

Chen & Zhu 2001 [14] isolerte for første gang to helt nye terpenoid glukosider med bladekstrakt fra *R. serrata*, referert som i studien som *C. serratum*. Disse nye forbindelsene ble kalt for 5-hydroksyl-10-O-cinnamoyloksy-tarennosid og 17-aldehydedeyloksy-19-β-D-glukopyranosyl-oksy-lab-8,13(E)-dien-15-iol

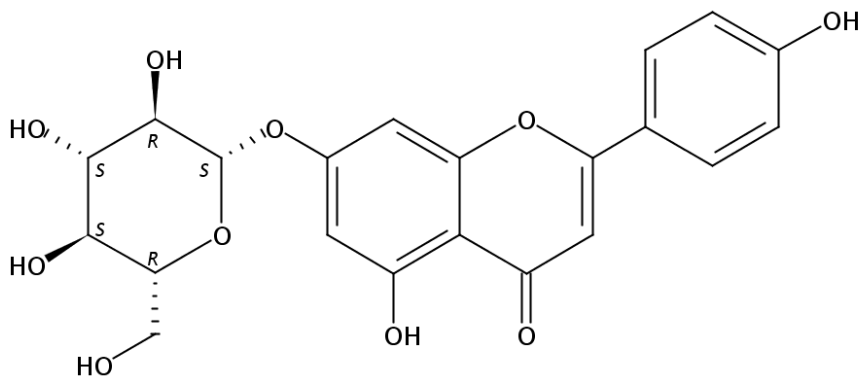
Ravikumar *et al.* 2008 [7] isolerte en ny forbindelse serratin, sammen med lupeol fra oljen av blader tilhørende *R. serrata*, her referert som *C. serratum*.

Bhujbal *et al.* 2010 [9] isolerte for første gang et nytt pentasyklisk triterpenoid saponin, kalt for icosahydropicenic syre (IHPA), fra rot tilhørende *R. serrata*, her referert som *C. serratum*.

Bhujbal *et al.* 2010 [5] isolerte for første gang fra rot tilhørende *R. serrata*, et nytt flavonoid glykosid, apigenin-7-glukosid (7-(β -D-glukopyranosyloksy)-5-hydroksy-2-(4-hydroksyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-on), her referert som *C. serratum*.



Figur 27 viser kjemisk struktur til icosahydropicenic syre [15].



Figur 28 viser den kjemiske strukturen til apigenin-7-glykosid [15]

11.4 Biologisk aktivitet

11.4.1 Anti astmatisk- og allergisk aktivitet

Ifølge reviewartikkelen [2] ble den første eksperimentelle undersøkelsen vedrørende det antihistaminerge potensialet fra *R. serrata* utført av Sachdev *et al.* i 1964. Artikkelen skriver at disse forskerne hadde fremstilt en krystallinsk polyhydrisk alkohol fraksjon som kunne forårsake et forsinket sekundært fall i blodtrykk ledsaget med bronkokonstriksjon hvilket ble inhibert av den aktive fraksjonen. Denne fraksjonen hemmet histamin-indusert sammentrekning av luftrør som var hentet fra marsvin uten å påvirke responsen av acetylkolin [2].

Reviewartikkelen nevnte en annen studie hvor den aktive fraksjonen hemmet anafylakse ledsaget av bronkokonstriksjon i lunger hos marsvin som var blitt gjort sensitive med forbindelse 48/80. Fra selve studien som reviewartikkelen refererer til Gupta 1968 [16] fremgår det at de aktive fraksjonene bestod av et alkoholekstrakt sammen med en saponin fraksjon som ble fremstilt med barken fra rota til *R. serrata*, og som i denne studien var referert som *C. serratum*. Det ble observert at saponin fraksjonen gitt ved 20mg/kg ikke ga antydning til verken å ha en antihistamin aktivitet eller beskyttelse mot anafylaktisk sjokk, men derimot gjennom en kontinuerlig intramuskulær administrering av saponin fraksjonen til marsvin som var blitt eksponert med forbindelse 48/80 over en periode på 20 dager så forskerne at testdyrene gradvis hadde fått opparbeidet beskyttelse mot anafylakse. Dette ble bevist ut ifra en signifikant forsinket inntreden av åndenød blant testdyrene som var behandlet med saponin fraksjonen sammenlignet med kontrolldyrene. Ved slutten av dag 20 ble det vist at saponinbehandlede marsvin som ble eksponert med forbindelse 48/80 over et tidsintervall på 10 minutter ikke utviste noe pustevansker eller kvelning før kollaps sammenlignet med kontrollgruppen [16].

Gupta 1970 [17] gjorde studier med plantesaponiner isolert *R. serrata* og *Solanum xanthocarpum* for å studere den biologiske aktiviteten i forhold histaminfrigjøring og antikolinesterase. Det ble vist at en intraperitoneal administrering av plantesaponiner fra respektive planter ga ingen beskyttelse hos marsvin mot verken histamin aerosol eller

acetylkolin aerosol 2 timer etter administrering, mens en videre administrering av plantesaponinene over en periode på 6 uker overfor marsvin som allerede var eksponert for eggalbumin i 3 uker viste en gradvis beskyttelse med hhv 12.0, 44.5, 22.4 og 63.8% for kontroll, saponin fra *S. xanthocarpum*, saponin fra *R. serrata* og antazolinhydroklorid som utgjorde standarden administrert med en konsentrasjon på 2mg/kg. I denne studien var plantesaponiner fra begge plantene gitt med en konsentrasjon på 20mg/kg [17]. Denne studien viste ytterligere at lungevev fra rotter som var forbehandlet med saponiner fra *R. serrata* ble mindre sensitive overfor histaminstimulering, mens de ikke kunne se noen merkbar forandring når det gjaldt stimulering fra acetylkolin [17]. Undersøkelse av blodserum hos marsvin som var behandlet med plantesaponiner fra begge plantene med hhv konsentrasjoner på 0.3 og 0.05mg/kg for *R. serrata* og *S. xanthocarpum* viste en signifikant acetylkolinesterase aktivitet. Det ble herunder vist at saponiner fra *R. serrata* ga en inhibisjon på 49.0% sammenlignet med standarden fytostigmin som hadde en inhibisjon på 48.8% gitt med en konsentrasjon på 0.04mg/kg [17]. Undersøkelser med kaniner ga tilsvarende resultater med hhv 50.6 og 52.4% inhibisjon for *R. serrata* og fytostigmin. Generelt hadde *S. xanthocarpum* bedre effekt enn *R. serrata* [17].

Reviewen viste også til en studie som var gjort av Hazekamp *et al.* 2001 [18] med vandig ekstrakt fremstilt med både rot og stamme fra *Clerodendrum petasites*. Resultatene viste at rotekstrakt med de respektive plantedeler fra denne planten gitt med en konsentrasjon på 180mg/kg ga signifikant beskyttelse mot bronkial hyper-reaktivitet overfor melk-indusert leukocytose i mus og eggalbumin indusert astma i marsvin og kunne dermed forsvarlig bli brukt i behandling av inflammatoriske lidelser som astma, men ifølge the Plantlist [1, 19] er *C. petasites* og *R. serrata* forskjellige plantearter. Reviewen skriver at det er flere forskere som har rapportert det antiastmatiske og anti allergi potensialet hos *R. serrata* [2].

Ifølge reviewartikkelen ble det i 2012 utført en studie hvor det ble fremstilt to alkohol ekstrakter med rot fra *R. serrata*. Ekstraktene ble administrert med konsentrasjoner på hhv 100 og 200mg til ovalbumin induserte mus. Resultatene viste at ekstraktene hadde potente antiastmatiske aktiviteter og det ble foreslått etter det som var nevnt ut ifra reviewen at disse effektene muligens kan ha vært forårsaket av inhibisjon av inflammatoriske mediatorer som serotonin, histamin og prostaglandin hvorav sistnevnte trolig ble mediert via inhibisjon av enzymet cyklooksygenase (COX) [17].

Plantesaponiner isolert fra rot tilhørende *R. serrata* har vært rapportert å ødelegge peritoneale mastceller fra rotter og i tillegg blokkere effekten av antigen fra hestenserum etter et doseavhengig mønster [2]. De beskyttende egenskapene fra saponiner isolert fra *R. serrata* har vært funnet for å være assosiert med en forsterket anti allergi aktivitet i lungevev hos forsøksdyr som var forbehandlet med saponiner. Mekanismen bak denne anti allergi aktiviteten medieres trolig via inhibisjon av histamin og sakte reagerende substans av anafylakse (SRS-A) som medfører en forsinket allergisk respons sammenlignet med kontroll uten saponinbehandling [2]. Forfatterne av denne reviewen skriver at de studier som har vært utført kan validere den tradisjonelle bruken i forbindelse med astma og at denne tradisjonelle bruken blir ytterligere underbygget av vitenskapelige funn som har vist at saponiner isolert fra *R. serrata* gir beskyttelse mot astmatiske reaksjoner overfor marsvin som var blitt eksponert overfor mikro-aerosol av histamin og eggalbumin [2].

Det fremgår videre ut ifra reviewen [2] at icosahydronic syre (IHPA) som i en studie fra 2010 ble isolert med etanolekstrakt av røtter fra *R. serrata* utviste potente antihistaminerge og anti allergiske egenskaper overfor testmaterial som var forberedt med vev av luftrør hentet fra geit. Det ble også undersøkt for beskyttelse mot mastcelle degranulering i rotter induert med clonidin. Selve studien var utført av Behujbal *et al.* 2010 [9] og det var under denne studien at IHPA for første gang var blitt isolert fra *R. serrata* som også her ble referert som *C. serratum*. Studien viste at IHPA administrert med en dose på 100mg/kg ga signifikant beskyttelse mot degranulering av mastceller hos rotter med hhv 59.62% mot 64.48% hvorav sistnevnte representerte standarden kromoglykat som ble brukt i denne studien. Studien viste også IHPA ga signifikant beskyttelse mot inflammatoriske responser fra histamin overfor den forberedte prøven som var blitt fremstilt fra luftrørsvev isolert fra geit. Det var foreslått at den beskyttende aktiviteten trolig skyldtes stabilisering av membraner hos mastcellene eller at beskyttelsen opptrådte pga inhibisjon av antigen-indusert histaminfrigjøring [2, 9]. Forskerne mente at IHPA hadde vist tilstrekkelig vitenskapelig forankring og kunne dermed benyttes klinisk i forbindelse med astmabehandling [9].

11.4.2 Sårtilhelende aktivitet

Det har ifølge review-artikkelen blitt utført komparative sårhelingsstudier av ulike sår, herunder eksisjon, innsnitt og ufullstendig lukkede sår hos rotter. Studien var fra 2005 og ble gjort med etanolekstrakt som var fremstilt med rot og blader hentet fra *R. serrata*. Resultatene viste at rotekstraktet hadde sårtilhelende egenskaper etter evaluering av fysiologiske parametere som var forbundet med sår, herunder hastighet av sårkontraksjon, tidsperiode for epitalisering, bruddstyrke i hud, vekt og bruddstyrke av granuleringsvev samt histologiske undersøkelser [2]. Det ble herunder nevnt at den sårtilhelende aktiviteten som var observert med rotekstraktet trolig skyldtes de antibakterielle komponentene som fantes i ekstraktet, men at det her er nødvendig med flere studier for kunne si noe endelig om de bakenforliggende mekanismene, men også for å avsløre hvilke aktive substanser som står ansvarlig for aktiviteten [2].

11.4.3 Immunmodulerende aktivitet

Patel *et al.* 2014 [2] henviste i deres review-artikkel til en studie som undersøkte for immunmodulerende egenskaper med vandig rotekstrakt fra *R. serrata*. Det ble herunder nevnt at rotekstraktet administrert med konsentrasjonene 100 og 200mg/kg viste en forbedring i forhold det medfødte immunsystemet via stimulering av både tilegnede og medfødte immunresponser. Disse responsene ble enten stimulert via makrofagstimulering eller via stimulert frigjøring av faktorer som var involvert i celleproliferasjonen av benmargceller i mus [2]. Det ble også observert en økt aktivitet i sur fosfatase og myeloperoksidase samtidig som det ble nevnt en økning i nitrogenoksid (NO), hydrogenperoksidase (H₂O₂) og oksygen (O₂) hos makrofager som fikk behandling med rotekstrakt [2].

Juvekar *et al.* 2006 [6] var forskerne som utførte selve studien. De ønsket å undersøke om hvorvidt rotekstraktet som de hadde fremstilt kunne indusere sekretoriske og cellulære responser hos peritoneale makrofager som var hentet fra gnagere og som også i forkant var blitt eksponert for ovalbumin. Det de fant var at peroral administrering med hhv 100 og 200mg/kg vandig rotekstrakt ga en signifikant økning i antallet leukocytter og samtidig som de observerte en signifikant vektøkning av dyrenes milt, hvilket indikerte en forsterket respons fra det medfødte immunsystemet [6]. Forskerne rapporterte også en signifikant

økning i serum globulin og spesifikke antistoffer mot ovalbumin. I tillegg hadde behandling med vandig rotekstrakt fra *R. serrata* økt antallet benmargsceller som hadde fått uspesifikk esterase og peroksidase aktivitet. Forskerne konkluderte med at vandig rotekstrakt med *R. serrata* hadde immunmodulerende effekter overfor både det tilegnede og det medfødte immunsystemet [6].

Patel *et al.* 2014 [2] nevner videre om en studie som var utført i 2013 hvorav *R. serrata*, herunder også referert som *C. serratum*, som inngikk som en komponent av et etanolekstrakt bestående av flere planter kalt ”*Bharangyadi*”. Dette preparatet ble rapportert å inneha immunmodulerende aktivitet når det ble administrert peroralt med en konsentrasjon på 500mg/kg kroppsvekt overfor syklofosamid induert immunsvikt i mus.

Fra selve studien som var utført av Kajaria *et al.* 2013 [20] fremgår det at immunsuppresjon i mus ble induert via en intraperitoneal injeksjon med en konsentrasjon på 30mg/kg kroppsvekt. Den induerte immunsvikten ble etterfulgt med et signifikant fall i det totale antallet leukocytter (WBC) fra 6.2 ± 0.081 til 2.98 ± 0.214 . Antallet røde blodceller (RBC) ble også signifikant redusert fra 5.02 ± 0.116 til 3.01 ± 0.152 samtidig som det ble observert et fall i hemoglobinnivåer fra 15.49 ± 0.081 ned til 9.32 ± 0.153 . Disse resultatene er sammenfallende med observasjoner fra tidligere studier som har vist at syklofosamid induerer skader på immunceller via reaktive intermediater [20]. *Bharangyadi* viste god beskyttelse overfor syklofosamid induert immunsvikt og dette ble sett ut ifra det faktum at alle hematologiske parametere økte sammenlignet med ubehandlet kontrollgruppe [20].

Det fremgår av denne studien at en immunmodulator er ethvert stoff som bidrar til med å regulere immunsystemet og at denne reguleringen er en del av en normaliseringsprosess. En immunmodulator bidrar dermed til optimalisering av immunresponser [20]. Det ble også nevnt at medisinske planter kan forsvare kroppen mot en infeksjon via to måter. Det ene er via eliminering av patogener ved en eller annen form for beskadigelse. Den andre måten blir å styrke immunsystemet. Immunsystemets dynamiske og komplekse natur kan lettere forstås i etterkant av immunologisk utfordring og at syklofosamid induert immunsvikt av denne grunnen utgjør en troverdig metode ved evaluering av immunmodulerende effekter [20]. *Bharangyadi* potenserte uspesifikke immunresponser og det ble nevnt at aktive fytokjemiske konstituenten stod bak den beskyttende effekten [20].

11.4.4 Hepatobeskyttende aktivitet

I deres review rapporterte Patel *et al.* 2014 [2] at *R. Serrata* har gjennomgått leverbeskyttende studier og blant disse refererte de til en studie som ble utført i 2007. I denne studien undersøkte forskerne for leverbeskyttende egenskaper i et alkoholekstrakt fremstilt med roten tilhørende *R. serrata*. Resultatene fra denne studien viste at administrering av rotekstrakt med en konsentrasjon gitt ved 20mg/kg i over en periode på to uker overfor tetraklorid (CCl₄) induisert levertoksisitet i rotter, ga en signifikant reduksjon i nivåer for serum bilirubin samt andre leverenzymmer som normalt brukes som leverfunksjonsmarkører. Det ble nevnt at den leverbeskyttende effekten trolig skyldes radikalsøkende aktiviteter fra flavonoidene som måtte være til stedet i rotekstraktet [2].

Vidya *et al.* 2007 [21] var forskerne som stod bak denne studien. De hadde oppdelt testdyrene i fem grupper med seks rotter i hver gruppe hvorav gruppe en og to utgjorde hhv negativ og positiv kontroll. Gruppe tre utgjorde standardgruppen som fikk administrert legemidlet silymarin med en konsentrasjon på 100mg/kg/døgn [21]. Dette var en litt merkelig doseangivelse for en standardgruppe med tanke på at testgruppene, herunder fire og fem som fikk administrert hhv etanol rotekstrakt og ursolsyre med respektive konsentrasjonsangivelser på 20 og 10mg/kg/døgn [21]. Normalt pleier doseangivelsen for standardgruppen å ligge lavere eller lik doseangivelsen for testgruppene, nettopp fordi man ønsker å sammenligne effekten av prøvene med standarden. Doseangivelsene med 10 og 20mg/kg/døgn utgjorde 1/10 av LD₅₀ for hhv rotekstrakt og ursolsyre [21]. Alle gruppene fikk administrert deres respektive substanser i 14 dager som også ble den siste dagen før dyrene ble ofret under anestesi. Blodprøver ble innsamlet separat og serum innhentet til evaluering ved hjelp av sentrifugering og forskerne utførte biokjemiske undersøkelser av total bilirubin (TB), total protein, serum alanin transaminase (ALT), aspartat transaminase (AST) og alkalisk fosfatase (ALP) [21].

Resultatene viste at CCl₄ ved dag 14 ga signifikant økning i verdier av total bilirubin med 5.17 ganger mer, ALT med 16.23 ganger mer, AST med 24.47 ganger mer og ALP med 2.73 ganger mer, men at det totale proteinnivået ble redusert med 39% hvilket reflekterte leverskaden som var blitt påført av CCl₄ [21]. For gruppene som ble behandlet med rotekstrakt og ursolsyre ble det observert en signifikant reduksjon av de biokjemiske markørene som indikerte leverskade. For gruppen som fikk administrert ursolsyre så

forskerne at effekten ikke bare var bedre enn rotekstraktet, men at det også var sammenlignbar med standardlegemidlet silymarin [21].

Det ble også utført histologiske undersøkelser av leverprøver fra hver av gruppene hvorav den negative kontrollgruppen viste normale leverceller. For gruppen som kun fikk CCl₄ hadde levercellene fått større skader med intens sentrilobulær nekrose, vaskularisering og makrovesikulære fettforandringer. Gruppen som ble behandlet med standardlegemidlet silymarin hadde normal hepatisk cellearkitektur, mens noe fettansamling ble observert hos gruppen som fikk administrert rotekstrakt. Den mest utalte beskyttelsen hadde gruppen som fikk ursolsyre. Her var levercellene helt normale med fravær av levernekrose og infiltrasjon av fettstoffer [21].

Det ble nevnt at levertoksisitet forårsaket av CCl₄ simulerte viralt hepatitt hos mennesker. CCl₄ konverteres til det reaktive frie radikalet CCl₃O⁻ via cytokrom P450. Disse radikalene produseres lokalt og medfører autooksidasjon av flerumettede fettsyrer som er bestanddeler i membranfosfolipider. Organiske peroksider som dannes etter reaksjon med oksygen fører til svelling av det endoplasmatiske retikulum og dissosiasjon av ribosomer som igjen vil medføre akkumulering av fettstoffer fordi cellene settes ut av stand til å syntetisere lipoproteiner fra triglyserider og apoprotein hvilket kan bidra til utvikling av fettlever. Videre medfører lipidperoksidering til beskadigelse av plasmamembraner ledsaget av økt membranpermeabilitet som igjen kan resultere i en progressiv svelling av hele cellen med etterfulgt celledød pga massivt kalsiuminfluks. Økte verdier av AST, ALT, TB og ALP utgjorde en klar indikasjon på cellelekkasje og tap av funksjonell integritet i cellemembranen [21].

Avslutningsvis fra denne studien ble det nevnt at en fytokjemisk analyse av etanolekstraktet avslørte tilstedeværelsen av forbindelser som flavonoider, glykosider, triterpenoider, tanniner, kinoner og saponiner. Triterpenoidet ursolsyre ga resultater som var sammenlignbare med standardlegemidlet silymarin. De biologiske markørene som ble endre på bakgrunn av CCl₄ induisert toksisitet ble reversert tilbake til normale verdier. Det ble dermed foreslått at den leverbeskyttende aktiviteten som ble observert trolig skyldtes tilstedeværelse av ursolsyre som også er kjent fra tidligere studier for å kunne normalisere en forstyrret antioksidant status enten ved å vedlikeholde glutation verdier gjennom inhibisjon av malondialdehyd eller via direkte inhibisjon av aktivering fra CCl₄ sammen med en forsterket forsvarsmekanisme i kroppen generelt. Forskerne konkluderer med at *R. serrata* kan forvare den tradisjonelle bruken mot gulsott [21].

11.4.5 Antioksidant aktivitet

Patel *et al.* 2014 [2] skriver i deres review at *R. serrata* har ut fra tidligere studier vært rapportert å ha antioksidant aktivitet. Det henvis til en *in vitro* antioksidant studie utført i 2009 hvor etanol rotekstrakt ble testet ved forskjellige konsentrasjoner mellom 50-250µg/ml overfor ulike antioksidant tester. Resultatene fra denne studien foreslo at det var forbindelser som polyfenoler og flavonoider som var ansvarlige for antioksidant aktiviteten som ble observert [2].

I en annen studie også fra 2012 hvor det ble testet for potensiell antioksidant effekt med fire ulike ekstrakter fra bladene til *R. serrata*, herunder med hhv petroleumseter, kloroform, metanol og vann. Ifølge reviewen [2] fant forskerne at bladedekstraktet med metanol utviste bedre antioksidant effekter sammenlignet med de øvrige ekstraktene. Dette ble forklart med at metanolekstraktet inneholdt flere polyfenoliske forbindelser sammenlignet med de øvrige ekstraktene [2].

Reviewen nevner videre om en studie som ble utført i 2011 hvor antioksidant potensialet med etanolekstrakt fra *R. serrata* med både overjordiske plantedeler og rot ble undersøkt i forhold til revmatisme. Denne studien var basert på DPPH og nitrogenoksid assay. Ut ifra reviewen ble det funnet at ekstrakt med overjordiske plantedeler demonstrerte gode antioksidant egenskaper i både DPPH og nitrogenoksid assay, mens rotekstraktet ga tilfredsstillende resultater [2].

11.4.6 Antimikrobiell aktivitet

Patel *et al.* 2014 [2] viser til en studie som ble utført 2010 hvor det ble undersøkt for antimikrobielle effekter med etanolekstrakt fremstilt fra roten tilhørende *R. serrata*. Ekstraktet ble testet overfor Gram positive bakterier som var hhv *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* og *Pseudomonas aeruginosa*. Blant de Gram negative bakteriene hadde forskerne tatt med *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* og *Alcaligenes faecalis*. Den antimikrobielle aktiviteten i rotekstraktet ble evaluert på bakgrunn av resultater som forskerne hadde fått ut ifra en agar diffusjonstest. Ifølge

reviewen ble streptomycin brukt som standardlegemiddel under dette forsøket. Resultatene viste at rotekstraktet ga bemerkelsesverdige effekter mot *E. Aerogenes*, *P. aeruginosa* og *B. subtilis*, mens det samtidig ble funnet for å være mindre effektivt mot *E. coli* sammenlignet med standarden streptomycin [2]. Review-artikkelen skriver at den antibakterielle effekten trolig måtte skyldtes enten en synergistisk eller en individuell effekt fra flavonoider, saponiner, steroler og triterpenoider som måtte være tilstede i ekstraktet og nevner videre at den tradisjonelle bruken i forbindelse med sårheling valideres [2].

Reviewen skriver også om en studie som ble gjort i 2012 som ga lignende resultater hvor et hydroalkoholekstrakt laget med en blanding bestående av ulike planter hvor *R. serrata* inngår som en av komponentene. Dette ekstraktet demonstrerte både antibakterielle og antifungale effekter [2].

11.4.7 Antiinflammatorisk aktivitet

Det har ifølge Patel *et al.* 2014 [2] vært gjort mange studier vedrørende antiinflammatoriske egenskaper med ulike ekstrakter fra *R. serrata* fremstilt fra overjordiske deler, røtter og stammer. Det henvises til en studie som ble gjort i 2012 hvor et vandig ekstrakt med røtter fra *R. serrata* administrert peroralt med en konsentrasjon på 180mg/kg skal ha blitt rapportert å ha signifikante antiinflammatoriske effekter i dyrestudier med rotter. Rotekekstrakt med en lavere konsentrasjon på 90mg/kg og ekstrakt fremstilt fra plantestammen med en høyere konsentrasjon på 180mg/kg demonstrerte signifikante beskyttende effekter sammenlignet med standardlegemidlet dexametason. Ut ifra disse resultatene ble det nevnt at rotekstraktet hadde bedre antiinflammatoriske egenskaper sammenlignet med stammeekstraktet og at rot fra *R. serrata* dermed både kan brukes som anti-allergisk og antiinflammatorisk middel ved behandling av astmarelaterte sykdommer [2].

Reviewen skriver videre om en annen studie fra 2007 hvor undersøkelser med metanolekstrakt fra overjordiske plantedeler demonstrerte inhibitorisk aktivitet overfor enten arakidonsyremetabolismen eller en inhibitor av fosfolipase A₂. Dette forsøket ble utført overfor etyl fenylpropiolat-indusert øreødem, og karragenan og arakidonsyre indusert ødem i bakpote hos rotter. Forskerne observerte at ekstraktet hemmet den akutte fasen av

inflammasjonen via inhibisjon av syntese og/eller frigjøring av inflammatoriske mediatorer gjennom cyklooksygenase og lipoksygenase [2].

Reviewen refererer også til en studie som var utført i 1999 hvor et alkoholekstrakt med rot fra *R. serrata* viste potente antiinflammatoriske effekter [2]. Denne studien ble utført av forskningsteamet Narayanan *et al.* 1999 [22]. Fra selve studien fremgikk det at foregående undersøkelser for testing av toksisitet ble gjennomført ved å gi testdyrene rotekstraktet peroralt med ulike konsentrasjoner hhv 0.50, 0.57, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00 og 2.50 g/kg med etterfulgt monitorering i 2 timer for å detektere forandringer i dyrene med hensyn til både autonome og viljestyrte responser som f.eks årvåkenhet, spontanitet, irritabilitet, refleksbevegelser, urinering og salivering etc. Basert på disse resultatene ble det bestemt at konsentrasjonene med rotekstrakt fra *R. serrata* som skulle benyttes videre i studien skulle være hhv 50, 100 og 200mg/kg [22]. Antiinflammatoriske effekter evaluert ut ifra to tester hvorav den ene metoden bestod av karragenan induert pot-ødem for testing av akutt inflammasjon, mens kronisk inflammasjon ble testet ved å induere betennelse ved bruk av bomullskuler [22]. For å undersøke rotekstraktets beskyttelse overfor akutt inflammasjon ble rottene injisert med en 0.1% karagenanløsning i høyre bakpote 60 minutter etter at testdyrene hadde blitt behandlet med rotekstrakt med hhv 50, 100 og 200mg/kg. Forskerne målte for endring i pote-volum 4 timer etter at inflammasjonen ble induert hvorav forskjellen i volum mellom høyre og venstre bakpote ble brukt som et mål for ødem [22]. Ved evalueringen av rotekstraktets beskyttelse i forhold til kroniske inflammasjon ble bomullskuler implantert subkutant i armhulen hos rotter under lett anestesi. Testdyrene fikk deretter peroral behandling med rotekstrakt fra *R. serrata* med hhv 50, 100 og 200mg/kg i 7 dager kontinuerlig og på den syvende dagen ble bomullskulene fjernet sammen med granulomatøst vev som i løpet av disse syv dagene hadde festet seg til kulene som deretter ble tørket og innveid. Standardlegemidlet som ble brukt under begge testmodellene var fenylobutazon gitt peroralt med en konsentrasjon på 100mg/kg [22].

Resultatene viste en doseavhengig antiinflammatorisk aktivitet som ved 100 og 200mg/kg ga signifikant reduksjon i både karragenan induert ødem ved akutt inflammasjon samtidig som det også signifikant reduserte vekten av bomullskulene sammenlignet med kontroll. Rotekestektets antiinflammatoriske effekter som ble observert under denne studien var generelt lavere enn standardlegemidlet fenylobutazon. I tillegg til den betennelsesdempende aktiviteten ble smertestillende og febernedsettende effekter også observert fra rotekstraktet.

Dette indikerte at mekanismen bak den antiinflammatoriske effekten muligens bestod av en form for interferering med prostaglandinsyntesen [22].

Review-artikkelen nevner også en forbindelse kalt apigenin-7-glykosid som var isolert fra roten til *R. serrata* i en studie som ble gjort i 1993. Denne forbindelsen ble rapportert å ha antiinflammatoriske effekter hos rotter [2]. *Bharangyadi*, et ekstrakt bestående av flere planter inkludert *R. serrata* har også vært rapportert å ha antiinflammatoriske effekter i en studie fra 2012 hvor det ble utført en karragenan induisert inflammasjon. Denne effekten ble foreslått å ha vært mediert via inhibisjon av enzymet cyklooksigenase som igjen resulterte i en hemmet prostaglandinsyntese [2]. Tilstedeværelsen av flavonoider og saponiner fikk tildelt den antiinflammatoriske effekten, men det ble her nevnt at andre forbindelser muligens også har tatt del i en synergistisk aktivitet [2].

11.4.8 Antinociceptiv aktivitet

Patel *et al.* 2014 [2] henviser til en studie fra 1999 hvor det ble gjort antinociceptive undersøkelser med et alkoholekstrakt fremstilt med rota tilhørende *R. serrata*. Narayanan *et al.* 1999 [22] var forskerne som utførte denne studien som allerede er omtalt ovenfor. I tillegg til antiinflammatoriske effekter ble det også under samme studie undersøkt for antinociceptive effekter.

En 0.6% intraperitoneal injeksjon med eddiksyre ble administrert 60 minutter etter at testdyrene hadde blitt behandlet med rotekstrakt med hhv 50, 100 og 200mg/kg og i løpet av de neste 15 minutter ble det telt for antall abdominale sammentrekninger hvorav en signifikant reduksjon sammenlignet med kontroll ble ansett for å være antinociceptive responser [22]. Det ble i denne forbindelsen også utført en varmeplate test hvor testdyrene fikk peroral behandling med rotekstrakt med de samme konsentrasjonene som angitt ovenfor og deretter plassert på en varmeplate som opprettholdt $55 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Reaksjonstid for varmeindusert smerte ble notert med intervaller på 30 minutter opptil tre timer og verdiene plottet i en kurven hvorav arealet under kurven (AUC) ble brukt som et mål for den antinociceptive effekten. Mofinsulfat var standardlegemidlet som ble brukt og var administrert subkutant med 5mg/kg [22].

Resultatene fra testen med eddiksyre induisert betennelse viste at rotekstraktet ga lignende effekter som morfin, men lavere, med en signifikant reduksjon i antallet abdominale sammentrekninger. Denne effekten ble funnet for å være doseavhengig hvor 200mg/kg rotekstrakt ga maksimal smertestillende effekt. For varmeplate-testen hadde begge konsentrasjonen med hhv 100 og 200mg/kg lignende effekter med morfin da det ble vist en signifikant økning av AUC for begge konsentrasjonene med rotekstrakt [22]. Mekanismen bak den antinociceptive aktiviteten ble foreslått å være inhibisjon av prostaglandinsyntesen [22].

11.4.9 Antipyretisk aktivitet

Narayanan *et al.* 1999 [22] undersøkte også for antipyretiske effekter i etanol rotekstrakt med *R. serrata*. Administrering av TAB vaksine i kaniner produserte en signifikant økning i rektal temperatur etter 60 minutter med et gradvis fall utover 120 minutter. Standardlegemidlet var paracetamol administrert med 100mg/kg. Resultatene viste en doseavhengig effekt hvorav reduksjon av den forhøyede temperaturen som ble induert med TAB vaksine kun var signifikant for 100 og 200mg/kg rotekstrakt. Inhibisjon av prostaglandinsyntesen var den foreslåtte mekanismen for den antipyretiske effekten som ble observert [22]. Dette ble også tatt med i review-artikkelen fra 2014 [2].

11.4.10 Kardiovaskulær aktivitet

Antiangiogene og vasorelaxerende effekter har ifølge Patel *et al.* 2014 [2] vært rapportert for tidligere ut ifra en studie som ble gjort i 2012. I denne studien ble det ifølge reviewen undersøkt for karbeskyttende effekter i rotter med metanol bladekstrakt fra *R. serrata*. Her hadde forskerne demonstrert for rollen av signalveier med nitrogenoksid overfor endotelavhengig vasodilatasjon, en effekt som forskerne mente måtte komme fra polyfenoliske forbindelser [2]. Ut ifra dette ble det også nevnt i reviewen at antioksidanter og antiinflammatoriske agenser som muligens enten kan forsterke NO aktivitet eller redusere angiotensin II i vev, kan potensielt også ha terapeutisk anvendelse [2].

Mohamed *et al.* 2012 [23] var forskerne som utførte denne studien hvor formålet var å undersøke antioksidant, antiangiogene og vasorelaxerende effekter. Til dette ble det fremstilt fire forskjellige ekstrakter med blader fra *R. serrata* som ut i denne studien ble referert som *C. serratum*. Ekstraktene ble fremstilt med hhv petroleumseter, kloroform metanol og vann [23]. Det ble observert at metanol bladekstrakt hadde de mest potente effektene sammenlignet med de øvrige ekstraktene når det gjaldt den antiangiogene effekten hvor forskerne utførte en aorta-ring analyse med rotter, selv om alle ekstraktene hemmet karvekst. Effekten fra metanolekstraktet ble ansett for å være signifikant. Til sammenligning med petroleumseter fraksjonen som kom nest best ut fra testen med en inhibisjon på 16.95%, mens metanolekstrakt ga en inhibisjon på 45.79%. Ingen av ekstraktene hadde bedre inhibitorisk effekt enn standardlegemidlet suramin som demonstrerte en inhibisjon på 98.30% [23].

Når det kom til undersøkelse av den vasorelaxerende effekten hadde forskerne tilberedt en prøve med isolert aorta-ring fra rotter som ble testet overfor noradrenalin (NA) induisert karkontraksjon med verapamil som standard, og også her fant de at det var metanolekstraktet som ga de beste resultatene. Det ble foreslått at polyfenoliske forbindelser i ekstraktet var ansvarlig for de biologiske effektene som ble observert. I denne forbindelsen var det også nevnt at kvalitative studier av metanolekstrakt har vist å inneholde mange polyfenoliske forbindelser som tanniner, flavonoider, terpenoider, saponiner og mindre av alkaloider og fordi polyfenoliske forbindelsene ser ut til å utgjøre den dominerende andelen av metanolekstraktet var det også sannsynlig at det var nettopp dette ekstraktet som ga de beste resultatene i forhold til de antiangiogene og vasorelaxerende effekter. I tillegg til polyfenoliske forbindelser mente forskerne at andre aktive stoffer kunne også ha bidratt til den biologiske aktiviteten i et synergistisk samvirke [23].

11.4.11 Antikarsinogen aktivitet

Patel *et al.* 2014 [2] rapporterte i deres review at metanol bladekstrakt av *R. serrata* hadde ut ifra dyrestudier demonstrert signifikant reduksjon av svulstutvikling i testikler, lever og nyrer hos mus. Den raske gjenvinningen tilbake til friskt vev skyldtes trolig at bladekstraktet hadde antioksidant effekter og beskyttet mot lipidperoksidering [2]. Forskerne har ut ifra denne studien videre demonstrert for den antikarsinogene funksjonen av flavonoider og fenoler i forholdt til ulike reaksjonsveier som medierer kreft som aktivering av detoksifisering og

forebyggelse mot cellulær skade, inhibisjon av celleproliferasjon og induksjon av apoptose [2]. Reviewen nevner at også for det er blitt gjort andre *in vivo* og *in vitro* studier som har bekreftet den antikarsinogene aktiviteten til *R. serrata* [2].

11.5 Toksikologiske studier

Review-artikkelen skriver at informasjon vedrørende toksisitet og sikkerhet for *R. serrata* fortsatt er utilstrekkelig [2]. Det henvises til den ayurvediske farmakope av India fra 2001 hvor det fremgår at daglig klinisk anbefalte mengden for voksne er 3-6g av pulverisert rot og omtrent 10-20g av "kwatha churna" [2]. Manglende data vedrørende toksisitet gjør det vanskelig å si noe om toksiske effekter fra *R. serrata* både som ekstrakt og eventuelle andre ferdigfremstilte formuleringer [2]. En studie rapporterte en LD₅₀ verdi for ursolsyre som 100mg/kg kroppsvekt [21]. Reviewen nevner også en annen studie fra 2007 hvor et etanolekstrakt med bark fra rota tilhørende *R. serrata* produserte toksiske effekter ved 1.57g/kg i mus [2]. Administrering med 90% alkohol rotekstrakt fra *R. serrata* gitt med konsentrasjoner mellom 0.50-2.50g/kg ga ingen signifikant forandring i autonome eller viljestyrte responser og en LD₅₀ verdi ble grafisk beregnet til 1.8g/kg [2, 22]. En annen studie som var utført 2012 viste at etanol bladekstrakt gitt med en startkonsentrasjon på 2000mg/kg i 14 dager ga ingen toksisitet [2]. Kontrast til disse studiene ble det nevnt i reviewen om en studie fra 2007 hvor en 70% alkohol rotekstrakt og ursolsyre som var isolert fra denne hadde vist LD₅₀ verdier på hhv 200 og 100mg/kg kroppsvekt testet med mus [2]. Den store forskjellen i LD₅₀ verdier skyldtes trolig at den kjemiske sammensetningen av aktive substanser varierer med forskjellige plantedeler [2].

Generelt skriver reviewen at administrering med *R. serrata* ved anbefalte kliniske doser er trygt og vil trolig ikke kunne gi noen signifikante bivirkninger hos mennesker. Reviewen fremhever allikevel at det er nødvendig med flere toksisitetsstudier, spesielt med tanke på langtidsbruk, gentoksisitet, teratogene effekter og konsekvenser for reproduksjonen [2].

11.6 Kliniske studier

Patel *et al.* 2014 [2] skriver at det har vært mange kliniske rapporteringer om den klassiske ayurvediske oppskriften *Bharangyadi* som har vist bemerkelsesverdige antiastmatiske effekter. Det henvises til en studie fra 2013 hvor *Bharangyadi* gitt til moderate astmapasienter over en periode på 15 dager signifikant økte lungevolumet samtidig som luftveismotstanden ble redusert [2]. Fra en annen studie som ble utført i 2012 ble *Bharangyadi* blandet med honning ble drukket over 30 dager av 30 pasienter som hadde fått diagnosen bronkial astma. I samme studie ble *Bharangyadi* administrert med en nebulisator gitt over 15 dager til 30 pasienter som også hadde fått diagnosen bronkial astma. Resultatene avslørte at *Bharangyadi* kunne brukes overfor kronisk persistent astma så vel som overfor akutte astmaanfall [2]. En annen studie fra 2012 viste at *Bharangyadi* inhalert med nebulisator sammenlignet med peroral administrering ga bedre effekt i forhold til bronkodilatasjon og som slimløsende [2].

11.7 Konklusjon

R. serrata er utvilsomt en viktig medisinsplante. Det finnes i dag mange vitenskapelige funn som kan validere flere av de medisinske påstandene med utspring fra den tradisjonelle bruken, hvorav den mest utalte anvendelsen av planten ser ut til å være i forhold til respiratoriske lidelser og det er også i dette området de kliniske studiene har støttet opp om den tradisjonelle bruken. Det var ingen studier jeg kunne finne som omhandlet *R. serrata* og dets forhold til fødsel slik den burmesiske påstanden beskriver, at avkok med planten kan anvendes som styrkedrikk til mødre. Det er ikke ulogisk å gå ut ifra at graviditet og fødsel for kvinnen er en fysiologisk stressende periode som preges av inflammasjon og oksidativt stress. *R. serrata* er tilsynelatende rik på forbindelser som er kjent for å ha antioksidant egenskaper, og ut ifra dette så kan det tenkes at et avkok med planten kan virke styrkende for kvinnen etter fødsel, men i fravær av vitenskapelige funn kan jeg ikke validere den tradisjonelle burmesiske påstanden.

11.8 Referanseliste:

1. The Plant List.
URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-180004>. 2015.05.12.
2. Patel, J.J., Acharya, S.R., Acharya, N.S.: Clerodendrum serratum (L.) Moon. - A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, **154**(2), (2014), 268-285.
3. Flickr.
URL: <http://www.flickrriver.com/photos/tags/rothecaserrata/interesting/>. 2015.05.12.
4. Medelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, **25**, (1963), 155-185.
5. Bhujbal, S., Nanda, R.K., Deoda, R.S., Kumar, D., Kewatkar, S.M., More, L.S., Patil, M.J.: Structure elucidation of a flavonoid glycoside from the roots of Clerodendrum serratum (L.) Moon, Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **20**(6), (2010), 1001-1002.
6. Juvekar, A.R., Nachankar, R.S., Hole, R.C., Wakade, A.S., Kulkarni, M.P., Ambaye, R.Y.: In vitro and in vivo immunomodulatory activity of aqueous extract of Clerodendrum serratum L. roots. *Planta Medica*, **72**(11), (2006), 87.
7. Ravikumar, R., Lakshmanan, A.J., Ravi, S.: Chemical constituents from Clerodendron serratum. *Journal of Asian Natural Products Research*, **10**(7), (2008), 652-655.
8. Yang, H., Wang, J., Hou, A.J., Lin, Z.W., Sun, H.D.: Two new diterpenoid glucosides from Clerodendrum serratum. *Chinese Chemical Letters*, **10**(12), (1999), 1023-1026.
9. Bhujbal, S.S., Nanda, R., Ganu, G.P., Jadhav, S.W., Dongre, P.R., Choudhary, B., Pokale, D., Patil, M.J.: Protective Effects of Icosahydropicenic Acid Isolated from the Roots of Clerodendrum serratum (L) Moon on Experimental Allergic Asthma. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, **7**(1), (2010).
10. Yang, H., Hou, A., Jiang, B., Lin, Z., Sun, Handong.: Serratumin A, a novel compound from Clerodendrum serratum. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, **22**(1), (2000), 75-80.
11. Wei, X-M., Zhu, Q-X., Chen, J-C., Cheng, D-L.: Two new iridoid glucosides from Clerodendrum serratum. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*, **21**(11), (2000), 1675-1678.
12. Yang, H., Jiang, B., Na, Z., Guo, Y.P., Sun, H.D.: Two new iridoid glucosides from Clerodendrum serratum. *Chinese Chemical Letters*. **11**(3), (2000), 231-234.

-
13. Yang, H., Hou, A.J., Mai, S.X., Peng, L.Y., Sun, H.D.: A new phenylpropanoid glycoside: serratumoside A from *Clerodendrum serratum*. *Chinese Chemical Letters*, **11**(4), (2000), 323-326.
 14. Chen, J-C and Zhu, Q-X.: Two new terpenoid glucosides from *Clerodendrum serratum*. *Pharmazie*, **56**(3), (2001), 270-271.
 15. Scifinder.
URL:<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>.
2015.05.05.
 16. Gupta, S.S.: Development of antihistamine and anti-allergic activity after prolonged administration of a plant saponin from *Clerodendron serratum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **20**(10), (1968), 801-802.
 17. Gupta, S.S.: Antiallergic activity of plant saponins in relation to their histamine-releasing and anticholinesterase effects. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, **14**(2), (1970), 95-101.
 18. Hazekamp, A., Verpoorte, R., Panthong, A.: Isolation of a bronchodilator flavonoid from the Thai medicinal plant *Clerodendrum petasites*. *Journal of ethnopharmacology*, **78**(1), (2001), 45-49.
 19. The Plant List.
URL:<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-42934>. 2015.05.12.
 20. Kajaria, D.: “in-vitro Evaluation of immunomodulatory Effect of Polyherbal Compound-Bharangyadi”. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **3**(1), (2013).
 21. Vidya, S.M., Krishna, V., Manjunatha, B.K., Mankani, K.L., Ahmed, M., Singh, S.D.J.: Evaluation of hepatoprotective activity of *Clerodendrum serratum* L. *Indian Journal of Experimental Biology*, **45**(6), (2007), 538.
 22. Narayanan, N., Thirugnanasambantham, P., Viswanathan, S., Vijayasekaran, V., Sukumar, E.: Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of ethanol extract of *Clerodendron serratum* roots in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, **65**(3), (1999), 237-241.
 23. Mohamed, A.J., Mohamed, E.A., Aisha, A.F., Ameer, O.Z., Ismail, Z., Ismail, N., Abdulmajid, A.M.S., Asmawi, M.Z., Yam, M.F.: Antioxidant, antiangiogenic and vasorelaxant activities of methanolic extract of *Clerodendrum serratum* (Spreng.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(3), (2012), 348-360.