



TJAS

Thematic Journal of Applied Sciences

informing scientific practices around the world
through research and development

Thematic Journal of Applied Sciences

Volume 3, No. 4, July 2023

Internet address: <http://ejournals.id/index.php/TJAS/issue/archive>

E-mail: info@ejournals.id

Published by ejournals PVT LTD

Issued Bimonthly

Chief editorS.

G. Ahmed

Professor of Computational Mathematics and Numerical Analysis Faculty of Engineering, Zagazig University, Zagazig, Egypt, P. O. Box 44519

Requirements for the authors.

The manuscript authors must provide reliable results of the work done, as well as an objective judgment on the significance of the study. The data underlying the work should be presented accurately, without errors. The work should contain enough details and bibliographic references for possible reproduction. False or knowingly erroneous statements are perceived as unethical behavior and unacceptable.

Authors should make sure that the original work is submitted and, if other authors' works or claims are used, provide appropriate bibliographic references or citations. Plagiarism can exist in many forms - from representing someone else's work as copyright to copying or paraphrasing significant parts of another's work without attribution, as well as claiming one's rights to the results of another's research. Plagiarism in all forms constitutes unethical acts and is unacceptable. Responsibility for plagiarism is entirely on the shoulders of the authors.

Significant errors in published works. If the author detects significant errors or inaccuracies in the publication, the author must inform the editor of the journal or the publisher about this and interact with them in order to remove the publication as soon as possible or correct errors. If the editor or publisher has received information from a third party that the publication contains significant errors, the author must withdraw the work or correct the errors as soon as possible.

OPEN ACCESS

Copyright © 2023 by Thematics Journals of Applied Sciences

CHIEF EDITOR

S.G. Ahmed

*Professor of Computational Mathematics and Numerical Analysis Faculty
of Engineering, Zagazig University, Zagazig, Egypt, P. O. Box 44519*

EDITORIAL BOARD

Yu Li

*Wuhan University of
Technology, China*

Seung Man Yu

*Seoul National University of Science
and Technology, South Korea*

Syed Saeid Rahimian Kolor

*Universiti Teknologi Malaysia,
Malaysia*

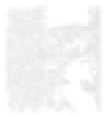
Eko Susanto

Menegment of journal Indonesia

Siti Mazlina Mustapa Kamal

Universiti Putra Malaysia, Malaysia

ELSEVIER



SSRN

Universal
Impact Factor



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВА ГЛИЦИРАМ ИЗ ТЕХНИЧЕСКОЙ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ОПЫТНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Матчанов А.Д., Расулов А.Х., Ибрагимов А.С.

Институт биоорганической химии им.А.С.Садыкова АН Республики Узбекистан

Введение

Глицирризиновая кислота (ГК) является тритерпеноидом, диасахаридным гликозидом, который, как доказано, и оказывает противовоспалительное, антидиабетическое, антиаллергическое и многие другие свойства (Li J, Cao H, Liu P, Cheng G, Sun M., 2014; Darvishi B, Manoochehri S, Kamalinia G, et al., 2015; Ram HNA, Lachake P, Kaushik U, Shreedhara CS., 2010.). Глицирризиновая кислота является основным активным компонентом корня солодки, известного в традиционной китайской и японской медицине с древних времен.

ГК имеет механизм противовоспалительного эффекта за счёт ингибирования образования активных форм кислорода, продуцируемых нейтрофилами – выраженный антиоксидантный эффект (Račková L et al., 2007; Yang R, Yuan B-C, Ma Y-S, Zhou S, Liu Y., 2016). Так же в 21 веке было обнаружено новое необычное свойство ГК усиливать действие других лекарств (Selyutina OY, Polyakov NE., 2019).

Имеется ряд данных о противовирусной активности глицирризина в отношении различных вирусов. Так, показано, что ГК в концентрациях 0,04–4,8 мМ ингибирует репликацию вируса Эпштейна-Барр (вирус герпеса человека 4 типа) *in vitro* (Lin, 2003), при этом механизм действия ГК не связан с прямой инактивацией вируса. Предположительно, действие ГК проявляется на стадии проникновения вируса. Было показано, что глицирризиновая кислота может ингибировать репликацию коронавируса SARS *in vitro* (Hoefer et al., 2005).

Несмотря на обилие исследований активности ГК в отношении различных ДНК- и РНК-вирусов, механизм ее противовирусного действия остается неясным. Показано, что действие ГК на вирус герпеса, ассоциированный с саркомой Капоши, связано с ингибированием синтеза вирусных РНК (Kang, Lieberman, 2011). Влияние ГК на репликацию различных вирусов обнаружено в ряде работ (Huan, C. et al., 2020, Huang, W. et al., 2012, Ashfaq, U. A. et al. 2011). Однако тот факт, что противовирусная активность ГК выявляется в отношении различных слабо связанных между собой ДНК- и РНК-вирусов, позволяет предположить, что действие ГК связано не только с влиянием на синтез РНК. В работе Lin (2003) установлено, что ГК избирательно блокирует проникновение вируса в клетку. В других работах Huan et al. (2021) показано, что действие ГК связано в основном со стадией проникновения вируса и мало влияет на стадии абсорбции и высвобождения вируса, так же авторы исключили прямое ингибирующее действие ГК на вирусные частицы. Также в ряде исследований показано, что ГК и его производные препятствуют проникновению ряда вирусов через плазматическую мембрану (Lin, 2003, Hoefer et al., 2005.). Кроме того, установлено, что действие ГК приводит к снижению текучести клеточных мембран (Harada, 2005). Также было установлено (Matsumoto et al., 2013), что ГК может предотвращать заражение вирусом. Дальнейшие исследования показали, что этот эффект является результатом комбинированного действия глицирретиновой кислоты и Ca^{2+} , которые могут генерировать перекись водорода, взаимодействуя с митохондриальной дыхательной цепью (Fiore et al., 2004)..

Благодаря своей амфифильной природе ГК способна образовывать самоассоциаты в водных и неводных средах, а также водорастворимые комплексы с широким спектром липофильных препаратов. Некоторые исследователи заявляют о способности ГК встраиваться в липидный биослой и повышать текучесть и проницаемость мембраны. Способность биомолекул и их агрегатов изменять свойства клеточных мембран имеет большое значение как с фундаментальной, так и с практической точек зрения (Selyutina OY, Polyakov NE., 2019).

Одной из важных проблем медицинской химии на данный момент является низкая биодоступность большинства используемых лекарственных соединений. Низкая биодоступность в основном определяется низкой растворимостью и низкой проницаемостью или тем и другим. Особое значение имеет растворимость препаратов, предназначенных для приема внутрь. Возможным путем решения этой проблемы является использование систем доставки в виде комплексов с хорошо растворимыми соединениями. Во многих случаях это позволяет значительно снизить эффективную дозу при сохранении терапевтического эффекта. Липофильная молекула лекарственного средства могла проходить через липидный слой за счет пассивного транспорта (против градиента концентрации), но для этого необходимо достичь достаточно большой концентрации лекарственного соединения во внеклеточной среде. Однако около 30% высвобождаемых лекарственных соединений нерастворимы в воде. Принимая во внимание, что около 85% наиболее популярных препаратов принимаются перорально, можно сказать, что это направление является наиболее перспективным.

Ряд физико-химических исследований показывает, что комплексообразование гидрофобных препаратов с глицирризиновой кислотой способно увеличить растворимость препарата в десятки раз по сравнению с исходным соединением.

Для подтверждения образования комплексов между самоассоциатами ГК и молекулами лекарственного вещества в твердом состоянии, а также в водных и неводных растворах применялись различные физико-химические методы. Такие комплексы были исследованы методами инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье, дифференциальной сканирующей калориметрии, рентгеновской дифракции и сканирующей электронной микроскопии (Lekar et al., 2011a, Yang et al., 2015, Zu et al., 2013, Kong et al., 2017). Физико-химические свойства и поведение комплексов ГК в растворе охарактеризованы методами ЯМР, масс-спектропии, электрохимическими и оптическими методами (Балтина, 2003, Апанасенко и др., 2015, Конкина и др., 2015, Поляков и др., 2005). В частности, с помощью спектроскопии ЯМР ¹H изучали изменение подвижности лекарственного соединения в присутствии ГА, подтверждающее образование комплекса включения (Апанасенко и др., 2015, Поляков и др., 2008). Исследования Swati Chauhan, Neha Gulati, Upendra Nagaich (2018) показали, что существует значительная разница находится между обшим веществом и веществом, нерастворимым в кислоте, которая указывает на то, что она содержит значительное количество неорганических радикалов, таких как оксалат кальция, которые растворимы в кислоте. Фитохимический скрининг выявил наличие в экстракте флавоиноидов, сапонинов и тритерпеноидов. Противовоспалительная оценка *in vitro* показала ингибирование 27,11%, из чего можно сделать вывод, что экстракт обладает меньшим воспалительным свойством, чем стандарт, но способен показывает значительный процент воспалительного свойства.

ГК имеет молекулярную массу 822,93 г/моль и молекулярную формула C₄₂H₆₂O₁₆, имеющий физический вид порошка от желтого до оранжевого цвета. Глицирризиновая кислота не всасывается в водных средах, что уменьшает её возможности медицинского применения, так же противовоспалительный эффект ГК отсутствует, в то время как её соединения - Моноаммонийная соль 3-о-(2'-β-D-глюкуронопиранозил)-α-D-глюкуронопиранозида-3-β-гидрокси-11-оксо-12-ен-18β-Н, 20β-олеан-30-овой кислоты (Глицерам) хорошо растворима в водных средах, так же доказана её противовоспалительная способность активно используемая в медицине.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для поведения анализа использовали следующее сырье:

Наименование сырья	Количество для получения 10 кг субстанции
Техническая Глицирризиновая кислота	- 34,0 кг
Ацетон безводный (пл. 0,792)	- 272,0 кг (340,0 л)
Аммиак водный 25%	- 9,70 кг (10,666 л)
Кислота уксусная ледяная	- 66,15 кг (63,0 л)
Спирт этиловый 96% (пл. 0,8075) для приготовления 80% раствора для промывки	- 48,50 кг (60,00 л) - 27,00кг (33,5 л) -21,50кг (26,5 л)
Кислота серная концентрированная	- 4,50кг (2,460 л)

Характеристика технологического процесса: 0,0500 г (точная навеска) глицирризиновой кислоты помещают в мерную колбу на 100 мл, прибавляют ацетонитрил, и навеску растворяют при интенсивном перемешивании, в течение 10-15 мин. Прибавляют 0,1 мл уксусной кислоты и объем доводят до метки 01 моль/л раствором хлористоводородной кислоты, сильно взбалтывают и перед хроматографированием центрифугируют при 10 тыс. об/мин в течение 5 мин или отфильтровывают через фильтр «Миллипор» с диаметром пор 0,22μ (0,5мг/мл).

Экстракция технической глицирризиновой кислоты.

Экстракцию технической глицирризиновой кислоты (ТГК) проводят в реакторе - 4, с рубашкой, сферическим днищем, нижним 8 и боковым спуском 6, снабженным якорной мешалкой, и двумя теплообменником 5.

Экстракцию ТГК ведут в пять приемов, что зависит от полноты извлечение ГК. В весах 1 взвешивает 34 кг ТГК и вручную загружается на реактор 4. Первый порция ацетона в количестве 81,6кг или 102л, (гидромодул 1:3 по объёму) из мерника 2 самотеком подаются в ректор 4 при работе мешалки. После перемешивании около 0,5 час к экстракционному массу осторожно тонкой струей подаются 0,9кг (0,492л) концентрированной серной кислоты в течение 0,5 час из мерника 3. После добавление серной кислоты, экстракция продолжается при непрерывной перемешивание ещё 2 часа и после чего электродвигатель мешалки отключается и масса отстаивает в течение 1 часа.

После истечения время откроется боковой крана 6 и ацетоновый экстракт с помощью вакуума фильтруется через фильтр-пресс 7 и собирают в емкость 10. Осадок ТГК в фильтр-прессе 7 возвращают в реактор 4 для дальнейшей экстракции. Таким же образом повторяют экстракцию ТГК новой партией безводного ацетона по гидромодули (по объёму) 2-экстракция 1:2,5; 3-экстракция 1:2; 4-экстракция 1:1,5; 5-экстракция 1:1. Расход безводного ацетона соответственно: 2-экс. – 68,0кг. (85,0л) 3-экс. – 54,4кг. (68,0л) 4-экс. – 40,8кг (51,0л) 5-экс. – 27кг. (34,0л) В каждой экстракций добавляется при перемешивании 0,9кг (0,492л) концентрации серной кислоты в течение 0,5 час из мерника 3. Каждый раз осадка ТГК в фильтр-прессе 7 возвращают в реактор 4 для экстракции. А ацетоновый экстракт после фильтрации собирают в емкость 10. После пятой экстракций вес экстрагируемой массы с ацетоном опускается из реактора 4 через нижний кран 8 в нутч-фильтр 9. После фильтрации остатка ТГК в нутч-фильтре сушат под вытяжным шкафом при комнатной температуре 11 и выбрасывают. А ацетоновый фильтрат отправляют в емкость 10. Все экстракты объединяют в ёмкости 10, и направляется для концентрирования в вакуум-выпарной аппарат 12. ВВА экстракт сгущается до остатка 5/1 части и получают около 43,5кг концентрированной ацетонового раствора ГК, которого подают в реактор 14 для получения триаммониевой соли глицирризиновой кислоты (ТАСГК).

Получение триаммониевой соли глицирризиновой кислоты (ТАСГК).

Концентрированный ацетоновый раствор сливают в реактор 14, с рубашкой, сферическим днищем, нижним спуском, снабженным якорной мешалкой и двумя теплообменником 15. При непрерывном перемешивании к содержимое в реакторе 14 самотеком осторожно добавляют тонкой струей аммиак водный 25% из мерника 16, в количестве 9,7кг (10,666л).

Аммиак водный 25% добавляют до pH 8-9, т.е. до прекращения выпадения осадка. Триаммониевая соль глицирризиновой кислоты (ТАСГК) - темно-коричневого смола образного осадка при перемешивание с маточным раствором пропускает через нижний кран реактора 14 в нутч-фильтр 19, который после фильтрации осадок обратно поступает в реактор 14, для продолжения обработки. А фильтрат из нутч-фильтра 19 направляют к сборнику 20.

Получение моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты (МАСГК)

В реактор 14, помещают вес полученное осадок ТАСГК, подаются в рубашку реактора пар, теплообменнику 15, холодной вода для конденсации паров уксусной кислоты.

При работе мешалки из мерника 17, в реактор 14 самотеком заливают рассчитанного количества (66,15кг или 63,0л) концентрированной ледяное уксусной кислоты для гидролиза ТАСГК. Гидролиз ТАСГК производят при перемешивании и при температуре 69-75⁰С в течение 20-30 минут. После истечения время останавливает мешалка и подачи пара в рубашку реактора 14. И реакционная масса отстаивают в течение 24 часа. После истечения времени при работе мешалки вес реакционная масса опускается в нутч-фильтр 19 и фильтруются. Фильтрат (маточник уксусной кислоты) собирается в сборник 21. А осадок – первый моно аммониевая соль глицирризиновой кислоты (МАСГК) - промывают порциями по 2,0 - 3,0 л 96% спиртом этиловым (общее количество 10,5кг или 13,0л) из мерника 18, 3-4 раза до исчезновения запаха кислоты уксусной. Промывной спирт собирают в сборник 22. Первый осадок МАСГК сушат сперва под вентиляции в столе 23, затем измельчает а затем сушат в шкафу сушильном 30, при температуре 70-85⁰С в течение 1,5-2 часов. При этом получает порошок МАСГК с чистотой 72-75%. Порошок взвешивают в весах 1 и подаются вручную для дальнейшей переработки в реактор 26.

Получение субстанции Глицерам

В реакторе 26, снабженный паровой рубашкой, якорной мешалкой, теплообменником 25, помешает взвешенный (12,4кг) порошок осадка МАСГК и при работе мешалки самотеком заливает из мерника 24, рассчитанное количества (34,53кг или 40,18л) 80% этилового спирта. Реакционная масса при непрерывном перемешивании нагревают до температуры кипения спирта (78,5⁰С). Нагревание и перемешивание продолжается до полного растворения. Моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты. Полученный раствор с температурой около 70⁰ С фильтруют через бязь в нутч-филт্রে 27, и вновь поступает в реактор 26. Отфильтрованного раствора оставляют в реакторе для кристаллизации в течение 24 часа, при этом выпадает осадок – МАСГК - субстанции Глицерам. После истечения времени работы мешалки осадок фильтруется в нутч-филт্রে 27, через одного слоя бязи и одного слоя фильтрованной бумаги. Фильтрат 80% ного спирта собирают в сборнике 28. Осадок в нутч-филт্রে 27, промывается порциями с 96% этиловой спиртом (общие количества 11,0кг или 13,62л), Маточник 96% спирт собирают в сборник 22. Осадок сначала сушат в столе 29, и измельченном виде сушат в сушильном шкафу 30, при температуре 70-85⁰С в течении 1,5-2 часов. При этом получает субстанции Глицерам с чистотой 82-85% (схема 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для поиска оптимальных условий экстракции глицирама из ГК варьировали температуру процесса, а также скорость потока экстрагента. В качестве экстрагентов для субкритических условий брали только раствор аммиака. Экстракты, полученные в среде субкритической воды, имели коричневую окраску и представляли из себя мутную субстанцию, раствор не становился прозрачным даже при фильтрации через мембранный фильтр.

После выхода из экстрактора, полученные экстракты переходят в стандартные условия (25 °С, 101.3 кПа), а вещества, не растворимые в воде в стандартных условиях, образуют коллоид. При экстракции растворами аммиака лучшие результаты показал 3 % раствор. При этом аммиачные экстракты отличались от водных ярко-желто-коричневой окраской, характерной для глицирризината аммония. Данный способ извлечения можно применять, если ГК необходимо переводить в трехаммонийную соль. Оценить эффективность применения субкритической воды для экстракции ГК помогает сравнение с традиционными способами извлечения [14]. Извлечение МАСГК относительно сухого сырья позволяет сравнить различные методы экстракции, однако нельзя недооценивать факт использования в работах разного исходного сырья, содержание ГК в котором, как уже говорилось выше, может колебаться в широких пределах.

Время удерживания этилового спирта 8,0-9,0 мин.

На рис. 1 приведены только динамические кривые извлечения глицирама при экстракции со скоростью потока 1.7 см³/мин.

Идентификация Глицерама. 0,0500 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу на 100 мл, прибавляют 64,4 мл 0,1 моль/л раствора хлористоводородной кислоты и 0,1 мл уксусной кислоты. Навеску растворяют при интенсивном перемешивании, и после растворения к смеси добавляют 35,5 мл ацетонитрила, отфильтровывают. Определение проводили методом ВЭЖХ. Детектирование: проводят при длине волны 251 нм; Время анализа: 13 мин. ВЭЖХ проводят с помощью хроматографа Agilent Technologies-1200 (США) в изократическом режиме, или в аналогичном жидкостном хроматографе снабженной УФ (DAD) детектором. При ВЭЖХ кроме основного пика при 5,9-6,2 мин, допускается обнаружение до 8-10 пиков, соответствующих тритерпеновым гликозидам сумма площади которых, не должна

превышать ($20 \pm 2\%$) относительно суммы площади пиков всех компонентов в хроматограмме.

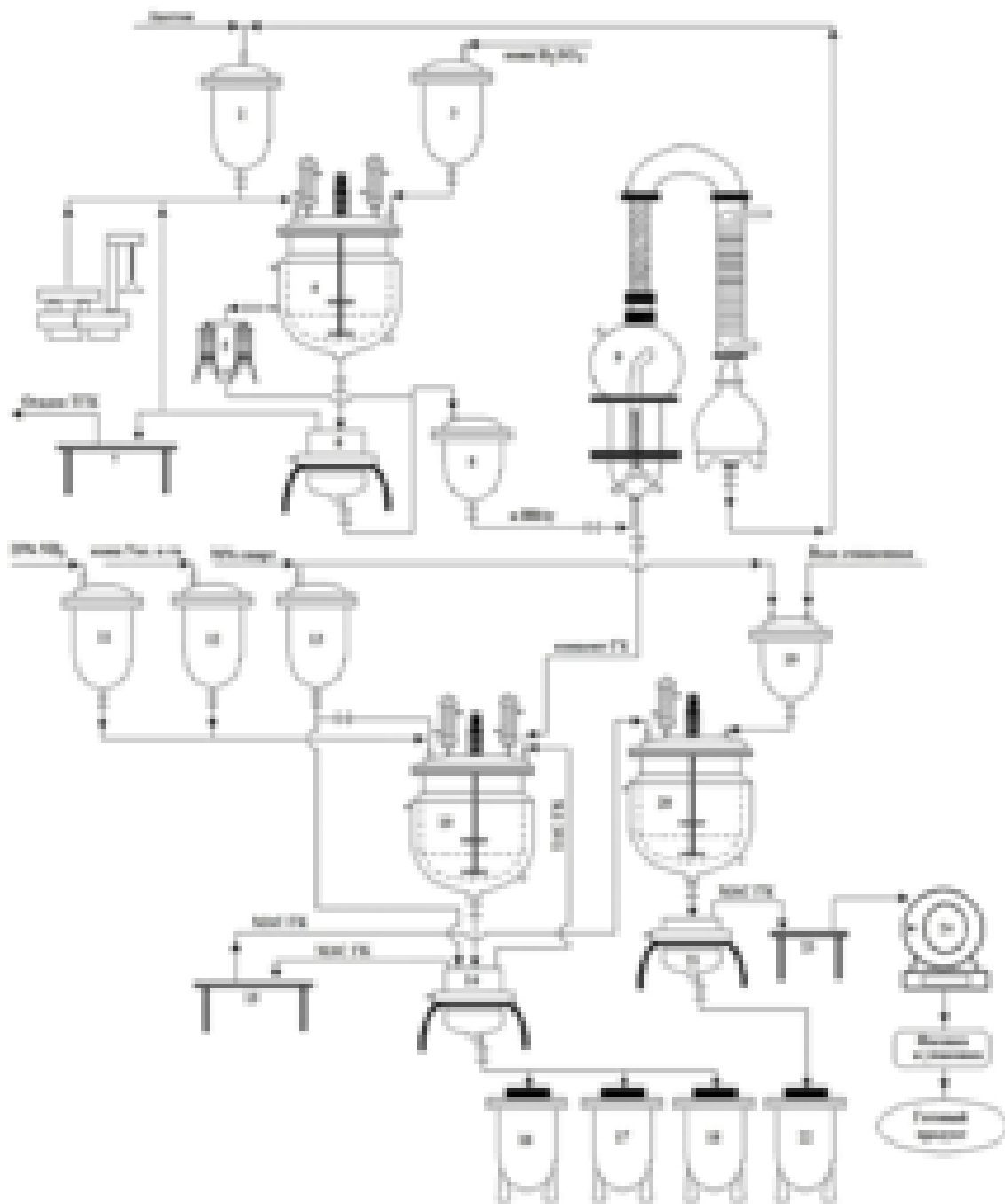


Схема 1. Производственная схема производства Глицерама из глицирризиновой кислоты

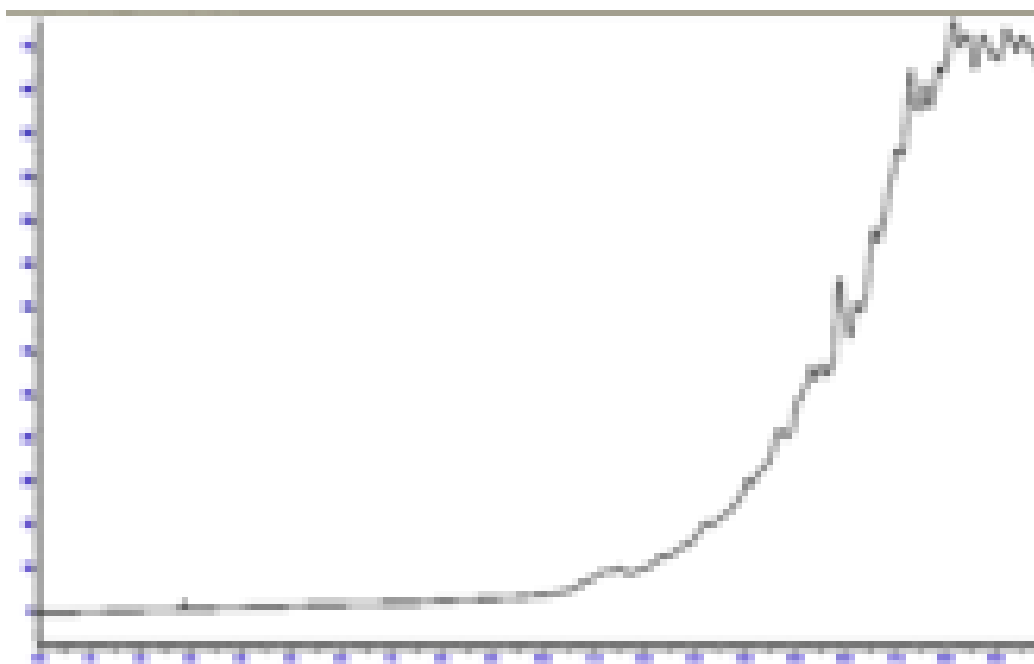


Рис 1. Хроматограмма препарата Глицерам.

К суспензии 0,4 г порошка в 10 мл хлороформа прибавляют 10 капель уксусного ангидрида, 2-3 капли кислоты серной концентрированной, нижний слой жидкости окрашивается в оранжевый цвет (тритерпеноиды).

УФ спектр 0,004% раствора препарата в 50% водно-спиртовом растворе в области от 240 до 260 нм имеет максимум поглощения при длине волны 251 ± 2 нм.

Определение содержания Глицерама в процентах проводят при сравнении площади основного пика с общей площадью пиков в хроматограмме. При этом площадь основного вещества должна быть от 80% до 82% от общей суммы площадей всех компонентов в хроматограмме. (Рис 2).

При хроматографировании ВЭЖХ, кроме основного пика Глицерама, допускается обнаружение до 8-10 пиков, соответствующих тритерпеновым гликозидам сумма площади которых, не превышает ($20 \pm 2\%$) относительно суммы площадей пиков всех компонентов.

По данным $^1\text{H-NMR}$ спектроскопии, сопутствующими веществами являются: пик соответствующий к времени выхода 6,8-7,1 мин показал, что он отличается в химическом строении агликоновой части, относительно Глицераму и поэтому оно идентифицировано как, $18\alpha\text{-H}$ изомер глицирризиновой кислоты. Остальные пики соответственно являются частично гидролизованными производными $18\text{-}\alpha$ и $18\text{-}\beta$ глицирризиновой кислоты и глицирретовая кислота.

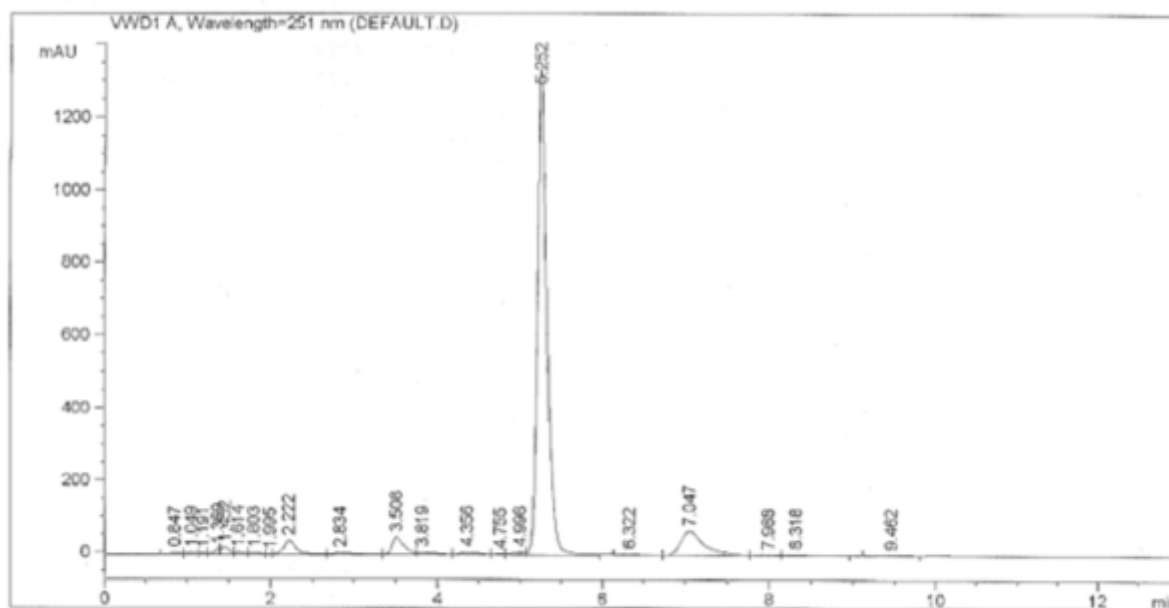


Рис-2 Хромограмма субстанции препарата Глицерам

Список использованной литературы:

1. Ashfaq, U. A., Masoud, M. S., Nawaz, Z., and Riazuddin, S. (2011). Glycyrrhizin as Antiviral Agent against Hepatitis C Virus. *J. Transl Med.* 9, 112. doi:10.1186/1479-5876-9-112
2. Darvishi B, Manoochehri S, Kamalinia G, et al.. Preparation and Antibacterial Activity Evaluation of 18- β -glycyrrhetic Acid Loaded PLGA Nanoparticles. *IJPR.* 2015; 14(2):373-383.
3. Harada S. The broad anti-viral agent glycyrrhizin directly modulates the fluidity of plasma membrane and HIV-1 envelope. *Biochem J.* 2005 Nov 15;392(Pt 1):191-9. doi: 10.1042/BJ20051069. PMID: 16053446; PMCID: PMC1317678.
4. Hoefer, G., Baltina, L., Michaelis, M., Kondratenko, R., Baltina, L., Tolstikov, G. A., et al. (2005). Antiviral Activity of Glycyrrhizic Acid Derivatives against SARS–Coronavirus. *J. Med. Chem.* 48 (4), 1256–1259. doi:10.1021/jm0493008
5. Huan Changchao, Yao Xu, Wei Zhang, Tingting Guo, Haochun Pan, Song Gao Research Progress on the Antiviral Activity of Glycyrrhizin and its Derivatives in Licorice.// *Front. Pharmacol.*, 06 July 2021. Sec. Ethnopharmacology Volume 12 - 2021 | <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.680674>
6. Huan, C., Chen, C., Xu, W., Guo, T., Pan, H., and Gao, S. (2020). Study on Antiviral Activities of Glycyrrhizin. *Int. J. Biomed. Eng. Clin. Sci.* 6 (4), 68–70. doi:10.11648/j.ijbecs.20200604.11
7. Huang, W., Chen, X., Li, Q., Li, P., Zhao, G., Xu, M., et al. (2012). Inhibition of Intercellular Adhesion in Herpes Simplex Virus Infection by Glycyrrhizin. *Cell Biochem Biophys.* 62 (1), 137–140. doi:10.1007/s12013-011-9271-8
8. Li J, Cao H, Liu P, Cheng G, Sun M. Glycyrrhizic Acid in the Treatment of Liver Diseases: Literature Review. *BioMed Research International.* 2014:872139.
9. Lin, J.-C. (2003). Mechanism of Action of Glycyrrhizic Acid in Inhibition of Epstein-Barr Virus Replication *In Vitro.* *Antiviral Res.* 59 (1), 41–47. doi:10.1016/s0166-3542(03)00030-5
10. Racková L, Jancinová V, Petříková M, Drábíková K, Nosál R, Stefek M, Kostálová D, Prónayová N, Kováčová M. Mechanism of anti-inflammatory action of licorice extract and glycyrrhizin. *Nat Prod Res.* 2007 Dec;21(14):1234-41. doi: 10.1080/14786410701371280. PMID: 18075885.

11. Ram HNA, Lachake P, Kaushik U, Shreedhara CS. Formulation and evaluation of floating tablets of liquorice extract. *Pharmacognosy Research*. 2010; 2(5):304-308
12. Selyutina OY, Polyakov NE. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier - From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug. *Int J Pharm*. 2019 Mar 25;559:271-279. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.047. Epub 2019 Jan 25. PMID: 30690130; PMCID: PMC7126914.
13. Yang R, Yuan B-C, Ma Y-S, Zhou S, Liu Y. The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. *Pharmaceutical Biology*. 2016; 55(1):5–18