

Beställarens namn: Zofia Kurowska, RG-KS, RG-RÅ

Övergripande frågeställning

Begäran om utredning av riskerna med lakrits i kosttillskott.

Specifika frågor/kommentarer som skall besvaras

Bakgrunden till frågeställningen är att Gävle kommun har inkommit till SLV med frågor rörande ett kosttillskott som innehåller 750 mg lakritsextrakt och 675 mg lakritsrotpulver per kapsel. Den rekommenderade dosen av kosttillskottet är 1-3 kapslar per dag. Då lakrits innehåller glycyrrhizinsyra, som i högre doser kan påverka blodtrycket, beställer kontrollstödsenheten en utredning av riskerna med detta preparat.

Riskvärderingen ska användas av Livsmedelsverket som riskvärderingsunderlag för ställningstagande och inriktningsbeslut för myndighetsutövning (riskhantering) och i praktiken som riskvärderingsunderlag för Livsmedelsverket för vägledning/rådgivning till både företag och inspektörer vid kontroll av företag. Dokumentet ska vara av sådan kvalitet att det kan bifogas till kommuner/företag och vid behov publiceras på hemsidan.

Innehåll

Information om yttrandet..... 2
Lakrits härkomst – latinskt namn på växten..... 2
Familj..... 2
Geografiskt ursprung, växtsätt..... 2
Använda växtdelar/beredningar..... 2
Kemiska beståndsdelar..... 3
Toxikologisk information..... 4
<i>Sammanfattning om verkningsmekanismen.....</i> 5
<i>Fördjupad information om absorption, distribution och utsöndring.....</i> 5
Halten av glycyrrhizinsyra i olika produkter..... 6
Exponering för glycyrrhizinsyra..... 7
<i>Intagsuppskattningar.....</i> 8
Riskvärdering.....10
Kommentarer till den specifika frågeställningen.....11
Referenser.....12
Annex 1 - Toxicitetsstudier på försöksdjur.....14
<i>Akut toxicitet.....</i>14
<i>Toxicitet vid upprepad exponering.....</i>14
<i>Studier på reproduktionstoxicitet.....</i>16
Annex 2 – Fallbeskrivningar och epidemiologiska data på lakritsinducerad effekter....18
<i>Kliniska studier med engångsdosering.....</i>18
<i>Kliniska studier med flergångsdosering.....</i>19
<i>Studier på gravida kvinnor.....</i>21

Information om yttrandet

Denna sammanställning utgör inte en fullständig riskvärdering, utan presenterar och sammanfattar tre tidigare utförda riskvärderingar av förekomsten av glycyrrhizinsyra i lakrits. Dessa tidigare riskvärderingar har utförts av:

- Størmer et al. (1993) för Nordiska ministerrådets räkning,
- EU-kommissionens vetenskapliga kommitte (2003)¹
- JECFA (Williams et al., 2006) för Codex Alimentarius räkning.

En litteratursökning har även utförts i PubMed för att utvärdera om vetenskaplig litteratur av stor betydelse för riskvärderingen av glycyrrhizinsyra tillkommit efter 2006. Denna sökning har använt söktermerna glycyrrhizinsyra, glycyrrhetinsyra och lakrits. Identifierad sentida litteratur har refererats i den händelse den tillför kompletterande information.

Om ingen referens till vetenskapliga data anges i texten är informationen hämtad ifrån någon av de tre ovan angivna referenserna. Kommer informationen från senare publicerade artiklar refereras dessa på traditionellt sätt i texten.

Lakrits härkomst - latinskt namn på växten

Lakrits är en av våra äldsta och vanligaste aromer. Den används framför allt i konfektyr och i olika typer av drycker, samt i tobak, mediciner och kosttillskott/hälsokost. På senare tid har den allt oftare börjat användas som aromgivare i matlagningen, speciellt av desserter. Aromen framställs från ärtväxten Lakritsrot (*Glycyrrhiza glabra* L.) eller en besläktad kinesisk art (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.). Lakritsroten (*G. glabra*) är en 1-2 m hög, busklik, halvt förvedad flerårig ört tillhörande ärtväxternas familj. Lakritsroten finns i tre varieteter och är inhemsk i sydvästra Asien och sydöstra Europa. De tre varieteterna ger italiensk/spansk lakrits (*G. glabra* L. var. *typica* Reg. et Herd.; växter runt Medelhavet fram till Kaukasusregionen), persisk/turkisk lakrits (*G. glabra* L. var. *violacea* Boiss.; växter i mellanöstern) och rysk lakrits (*G. glabra* L. var. *grandulifera* Waldsst. et Kit.; växter i Ungern, delar av forna Sovjetunionen, Turkestan och Afganistan). Andra *Glycyrrhiza* arter förekommer i södra Europa och i Nordamerika men dessa används inte för produktion av aromen.

Familj

Fabaceae Ärtväxter

Geografiskt ursprung, växtsätt.

Det geografiska ursprunget anges under rubriken **Latinskt namn** ovan. Växten odlas bäst i djupa dalar med väl-dränerad jord och god instrålning av sol. Man skördar växten på hösten, två till tre år efter plantering (Huxley, 1992). Länder som producerar lakritsrot inkluderar Afghanistan, Kina, Pakistan, Irak, Azerbajdzjan, Uzbekistan, Turkmenistan och Turkiet. I Europa odlas växten i till exempel Frankrike och Tyskland. Den kan ibland förekomma som trädgårdsväxt.

Använda växtdelar/beredningar

Råmaterialet till lakrits kommer från växtens rötter, men inte från den djupt gående rotstocken utan de upp till 9 m långa jordstammar som i horisontell riktning växer ut från huvudroten. De torkade

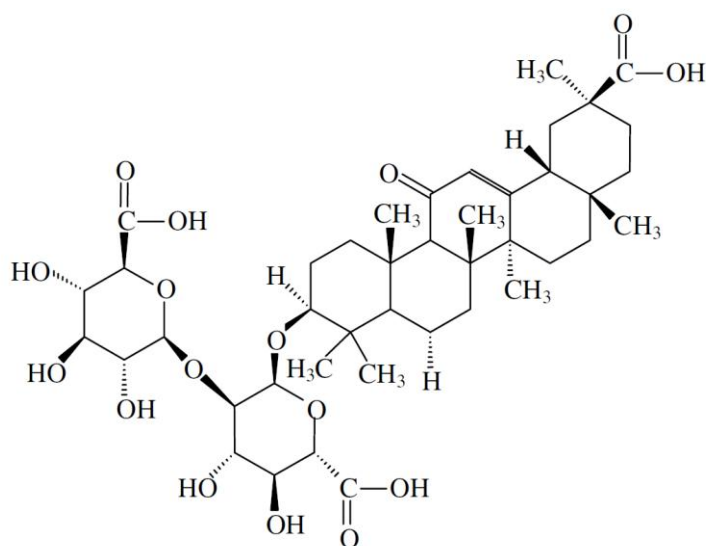
¹ Riskvärderingen utförd av EUs Scientific Committee on Food (2003) betraktade riskerna med glycyrrhizinsyra och dess salter utifrån den totala exponeringen från kosten, inkluderande bidrag från den naturliga förekomsten i lakrits och via livsmedelsprodukter som tillsats lakritsarom. I det arbetet ingick även det semisyntetiska ammoniumsaltet av glycyrrhizinsyra, en ofta använd arom.

jordstammarna krossas eller mals och pulvret kokas sedan i vatten. Dekokten silas och indunstas till sirapskonsistens, och ger efter formning och avsvälning de så bekanta kolsvarta lakritsblocken och lakritsstängerna. Denna form av lakrits går under många olika namn: glycyrrhiza, glycyrrhizaextrakt, lakrits, lakritsrot, lakritsrotextrakt, sötrot och Succus Liquiritia (inom farmacin).

Ett ammoniumsalt av glycyrrhizinsyra tillverkas genom syrabehandling av vattenextraktet från lakritsrot. Hydrolysaten neutraliseras i utspädd ammoniak och ammoniumsaltet faller ut och används efter rening. Inom EU är både glycyrrhizinsyra och ammoniumglycyrrhetinat registrerade som aromämnen. De används med anledning av deras söta smak (33-200 gånger sötare än sukros).

Kemiska beståndsdelar

Lakrits innehåller många ämnen som skulle kunna ha biologisk effekt om intaget är tillräckligt högt. Exempel på sådana ämnen är olika triterpener och B-vitaminer, flavonoider, chalconer och coumariner. I den lilla fraktionen av flyktiga oljor, som bidrar till den karakteristiska smaken har man identifierat över 80 olika ämnen, bland annat estragol, anetol, eugenol, indol, cuminaldehyd och g-nonalakton. Den aktiva substansen med avseende på användningen av lakrits som arom är triterpen saponinen 18 β -glycyrrhizinsyra (Figur 1), ett ämne där två sockermolekyler (glukuronsyra) är sammanbundna med en glycyrrhetinsyra-enhet till en så kallad 18- β -isomer². Glycyrrhizinsyran bildar naturliga salter med kalium, natrium och magnesium. Katjonen i syntetiska salter är ofta ammonium.



Figur 1 Strukturformel för 18 β -glycyrrhizinsyra

Den fria glycyrrhizinsyran och dess salter har en karakteristisk, skarp och kvardröjande smak, 50-200 gånger sötare än sukros. Den söta smaken utnyttjas både av livsmedelsindustrin och av den farmaceutiska industrin som tillsätter lakrits för att dölja bittra smaker av andra ämnen. Man kan dock endast tillsätta mindre mängder lakrits eftersom lakritssmaken annars blir för dominerande. Mängden tillförd glycyrrhizinsyra kan emellertid vara tillräcklig för att ge oönskade biologiska effekter. Lakrits används bara till neutrala och basiska produkter, eftersom glycyrrhizinsyran bryts ned till icke sötande ämnen i en sur miljö.

² Även om 13% av den glycyrrhetinsyra som bildas vid hydrolysen av glycyrrhizinsyra är 18 α -formen, är det osäkert om denna form förekommer naturligt eller om den endast bildas genom isomerisering under den analytiska processen.

Toxikologisk information

Lakritsroten har utnyttjats som läkeväxt i över 4 000 år. I Europa har den använts mot hosta, matsmältningsrubbingar och inflammerade magar. Strax efter andra världskriget upptäcktes att vattenextrakt av lakritsrot var verksamt mot magsår. Emellertid fick ungefär 20 procent av patienterna som drack sådana extrakt viktuppgång och ödem i ankelregionen. Biverkan har knutits till glycyrrhizinsyra. Såväl lakrits som glycyrrhizinsyra och glycyrrhetinsyra har på senare tid rapporterats ha såväl positiva som negativa effekter (Isbrucker and Burdock, 2006). De positiva effekterna gentemot diverse sjukdomar och dålig hälsostatus omnämns inte vidare i denna sammanställning. På senare tid har bruket av lakritsextrakt eller glycyrrhizinsyra/glycyrrhetinsyra som arom i livsmedel tilltagit. Genomgången begränsas till de eventuella risker som kan uppkomma vid konsumtion av livsmedel som innehåller lakrits eller lakritsaromer på grund av deras innehåll av glycyrrhizinsyra.

Den akuta toxiciteten har studerats experimentellt efter oral tillförsel av glycyrrhizinsyra eller dess salter till mus, marsvin och hund. LD₅₀ ligger i intervallet 308 – 12 700 mg/kg kroppsvikt (se Annex 1). Inga synbara risker för människa har dock knutits till enstaka exponeringar för stora mängder glycyrrhizinsyra. Det är den upprepade exponeringen för anseliga mängder av ämnet som kan vara problematiskt.

Glycyrrhizinsyra och flera av dess salter har, liksom lakritsextrakt, testats i mutations- och genotoxicitetstester. Även om underlaget är något bristfälligt (till exempel saknas data på glycyrrhetinsyra) för att dra säkra slutsatser och några positiva utslag erhållits i dessa tester ger den samlade bilden intryck av att glycyrrhizinsyra och dess salter inte är genotoxiska *in vitro* eller *in vivo*. Denna bild stämmer väl överens med resultaten av en cancerstudie på möss som getts glycyrrhizinsyra dagligen under 96 veckor och sedan följts under ytterligare 14 veckor - upp till 229 mg av dess dinatrium-salt/kg kroppsvikt per dag till handjur och 407 mg/kg kroppsvikt per dag till hondjur. I studien observerades endast en dosberoende reduktion i vattenkonsumtion jämfört med kontrolldjuren. Tumörfrekvensen och fördelningen påverkades inte av behandlingen. Ingen cancer-studie på råttor har utförts. Tillgängliga data tyder dock på att glycyrrhizinsyra och dess salter inte har någon cancerframkallande aktivitet. Såväl lakritsextrakt som glycyrrhizinsyra har i experimentella studier rapporterats hämma utvecklingen av tumörer inducerade av kemiska carcinogen.

En annan frågeställning är om glycyrrhizinsyra kan orsaka missbildningar och annan fortplantningstoxicitet under graviditeten, något som studerats i djurförsök (se Annex 1) och epidemiologiskt på människor. Den samlade bilden från djurförsök antyder att glycyrrhizinsyra inte är teratogent. I en epidemiologisk undersökning utförd i Australien studerades effekten av en hostmedicin innehållande lakrits. Av 6 408 gravida kvinnor använde 137 hostmedicinen. Inget samband kunde påvisas mellan hostmedicinen och havandeskapets utfall.

Fysiologiskt ogynnsamma effekter har dock rapporterats från såväl försöksdjur (se Annex 1) som människor som kontinuerligt exponerats för inte oansenliga mängder lakrits eller glycyrrhizinsyra. Inte minst finns det ett stort antal vetenskapliga rapporter på personer som utvecklat märkbara symptom efter ett kontinuerligt högt intag av lakritskonfekt och andra produkter (Asl & Hosseinzadeh, 2008; EU, 2003; JECFA, 2006; Strømmer et al., 1993). En del av den informationen är sammanfattad i Annex 2. Det finns också indikationer på att vissa personer kan vara särskilt känsliga (t.ex., Farese et al., 2009; Støving et al., 2011). Sammantaget ger de studier som utförts en bild över mekanismen varmed glycyrrhizinsyra förmedlar sin negativa effekt. Denna har sammanfattats i det följande avsnittet.

Sammanfattning om verkningsmekanismen

Binjurehormonet aldosteron (och i någon mån deoxykortikosteron) har till uppgift att reglera elektrolyt och vattenbalansen i kroppen. Regleringen av elektrolytbalansen är kritisk för att man skall kunna behålla normalt blodtryck, muskelaktivitet och pH i kroppsvätskor. Ett potentiellt problem är att också ett annat ämne i kroppen, steroidhormonet kortisol, kan binda till aldosterons receptor. Kortisols uppgift är att medverka i metabolismen av fett, protein och kolhydrater genom att binda till glukokortikoida receptorer. På grund av dess molekylära likhet med binjurehormonet aldosteron kan hormonet även binda till den mineralokortikoida receptorn och med en affinitet som är jämförbar med aldosterons. Under normala fysiologiska förhållanden är koncentrationen av kortisol i blodet 100-1000 gånger högre än nivån av aldosteron. Trots denna ogynnsamma situation ges dock normalt inte kolesterol möjligheten att interferera i vävnader där aldosteron skall vara verksamt, till exempel i njuren, då det omvandlas till det inaktiva ämnet kortison (binder inte till aldosteron receptorn) av 11 β -hydroxysteroid dehydrogenas 2 (11 β -HSD2). Enzymet HSD-11 β 2 finns därför lokaliserat i närheten av de intracellulära adrenal steroidreceptorerna. Det finns en annan variant av enzymet 11 β -HSD1. Det har visats att 11 β -HSD2 katalyserar oxidation av kortisol till kortison och har relativt hög aktivitet i njuren, medan 11 β -HSD1 katalyserar omvandlingen av kortison till kortisol och är relativt inaktiv i njuren, men i stället aktiv i levern.

Den absorberade glycyrrhetinsyran har förmåga att hämma 11 β -HSD2s konvertering av kortisol till kortison, men hämmar inte 11 β -HSD1³, vilket resulterar i att höga nivåer av kortisol behålls i aldosteronreceptorernas närhet och effekter som påminner om aldosterons uppstår (det vill säga, vatten och natrium behålls medan kalium utsöndras). Den kliniska bilden benämns ofta det mineralokortikoida överflödssyndromet.

Hos friska personer som regelbundet konsumerar stora mängder av livsmedel som innehåller glycyrrhizinsyra (lakrits), kan glycyrrhetinsyra nå konstant höga nivåer i blodet och konstant hämma konverteringen av kortisol till kortison, vilket resulterar i att natrium och vatten behålls, medan kalium utsöndras. Förändringen i elektrolytbalans kan sedan leda till högt blodtryck och kompenserande effekter som till exempel minskning i plasmanivån av aldosteron och renin.

Fördjupad information om absorption, distribution och utsöndring

Absorptionsstudier har visat att den oförändrade glycyrrhizinsyran, vare sig om det är den fria formen eller ett ammoniumsalt, tas dåligt upp från mag-/tarmkanalen. Bakteriefloren i matsmältningsskanalen (den som har β -glucuronidasaktivitet), men inte magsaften, har emellertid förmåga att hydrolysera molekylerna till glycyrrhetinsyra och två molekyler glukuronsyra. Vi har dock bristande kunskap om hur snabbt och hur effektivt klyvningen av glycyrrhizinsyra sker i vår tarm och hur stor variationen är mellan olika individer. Mycket tyder på att det är avspjälkningen av den första glukuronsyraenheten som är den tidsbegränsande reaktionen. Det är möjligt att den enzymatiska hydrolysen ibland kräver mer än ett glucuronidas. Eftersom det är glycyrrhetinsyra och inte glycyrrhizinsyra som kan påvisas i serum och urin efter lakritskonsumtion, antar man att tarmbakterierna klyver glycyrrhizinsyramolekylerna och det är glycyrrhetinsyran som absorberas. Denna absorption är i det närmaste total. Ingen omvandling av glycyrrhetinsyra sker i blodet om ämnet injiceras direkt i blodet. Vid låga doser, mindre än 10 mg/kg kroppsvikt, tas glycyrrhetinsyra omhand av levern så att kroppens exponering blir låg och utsöndringen via gallan snabb.

Hos människan erhålls den maximala nivån av glycyrrhetinsyra i plasman, oftast bundet till albumin, cirka 8-12 timmar efter konsumtionen av livsmedel som innehåller glycyrrhizinsyra (Ding et al., 2006;

³ Däremot hämmas 11 β -HSD1 av 18 α -glycyrrhetinsyra (Classen-Houben et al., 2009).

Zhao et al., 2008); ämnet återfinns endast i ringa mängder i vävnader vid normala doser. Glycyrrhizinsyra absorberas inte från tarmen och kan inte påvisas i plasman. Doser över 25 mg/kg kroppsvikt kan mätta tarmens bakterieflora så att den inte har kapacitet till att fullt ut omvandla glycyrrhizinsyran till glycyrrhetinsyra. Därmed uppträder vid högre doser en absorptionsmättnad.

Efter tillförelse av låga doser glycyrrhizinsyra (vanligen i form av lakritskonfekt med modesta mängder lakrits) var halveringstiden för elimination av glycyrrhetinsyra från plasman 2,7 – 4,8 timmar. Vid högre doser blir halveringstiden längre (t.ex. Zhao et al., 2008). I studier där kapslar med 18 β -glycyrrhetinsyra gavs till friska frivilliga försökspersoner fann man att biotillgängligheten var konstant i det dosintervall som studerades (0,5; 1,0; 1,5 g). Den maximala koncentrationen som uppmättes i blodet efter de tre doserna var 4,5; 7,0 och 9,0 mg/l. Vid den lägre dosen följde eliminationen en enkompartmentmodell, som övergick till en tvåkompartmentmodell vid högre doser. Halveringstiden för den första fasen var 2 timmar medan den var 11,5 och 38,7 timmar vid de två högre doserna. Eliminationen var således snabbare vid de lägre doserna än vid de högre och detta tolkades av författarna som en påtaglig vävnadsfördelning av 18 β -glycyrrhetinsyra vid högre doser. En alternativ förklaring skulle kanske kunna vara att en enterohepatisk cirkulation av glycyrrhetinsyra, kopplad till en lagring av glycyrrhetinsyrametaboliter i gallblåsan, resulterar i att plasmanivån av glycyrrhetinsyra når flera maximum efter den orala tillförelsen av ämnet.

Upptaget av glycyrrhetinsyra från tarmen har studerats på fem försökspersoner som fick dricka 100 mg glycyrrhizinsyra. Inom det första dygnet kunde man i serum påvisa 50-500 ng glycyrrhetinsyra per ml, men det mesta var försvunnet 48 timmar efter intaget. Liknande information erhöles från en nyazeeländsk studie som visade att 15 försökspersoner som åt mellan 2 och 4 lakritsstänger per dag under 2-4 veckor erhöles plasmanivåer av glycyrrhetinsyra på 0-480 ng/ml. Hos en 70-årig man som fördes till sjukhus på grund av förgiftning efter att ha förtärt 60-100 g lakrits per dag (med cirka 0,3 procent glycyrrhizinsyra) under de senaste 4-5 åren, observerades en plasmanivå av 320 ng/ml glycyrrhetinsyra. Femton dagar senare, utan lakritskonsumtion, hade denna nivå sjunkit till bestämningsgränsen.

I en annan studie när två patienter fick dricka stora mängder 18- β -glycyrrhetinsyra kunde man påvisa 53 respektive 61 procent av intagen glycyrrhetinsyra i avföringen under de första 9 respektive 13 dagarna efter intaget. Merparten av det återstående materialet utgjordes av metaboliter, vilket tyder på att glycyrrhetinsyran omvandlats. I metabolismstudier med tarmbakterier isolerade från avföring från människor fann man att glycyrrhizinsyra eller ammoniumglycyrrhizinat omvandlades till 18 β -glycyrrhetinsyra, 3-hydro-18 β -glycyrrhetinsyra och 3-epi-18 β -glycyrrhetinsyra, sannolikt i angiven ordning. Genom att glycyrrhetinsyran utsöndras via gallsalterna kan ämnet återabsorberas via enterohepatisk cirkulation. Detta kan medföra att farmakologiskt aktiva nivåer bibehålls hos personer med långsamt gastrointestinalt genomflöde.

Halten av glycyrrhizinsyra i olika produkter

Den huvudsakliga produktionen av lakrits i Europa sker i Spanien, Italien och Turkiet. Lakritsroten (*G. glabra*) innehåller mellan 2 och 15 procent glycyrrhizinsyra, medan den extraherade lakritsen innehåller ungefär dubbelt så mycket, 4-25 % glycyrrhizinsyra i form av dess calcium-, magnesium- eller kaliumsalter (EFFA, 2001; Fenwick et al., 1990; Gibson, 1978; Montoro et al., 2011; Rauchensteiner et al., 2005; Sabbioni et al., 2006; Wang et al., 2000). Nederländska undersökningar tyder på att lakritsblock, utgångsprodukten vid produktion av lakritskonfekt, innehåller mellan 27 och 115 mg glycyrrhizinsyra per gram, men antalet studier är begränsat.

Även vår kunskap om halter glycyrrhizinsyra i lakritskonfekt är bristfällig. Vanligen analyseras glycyrrhizinsyra med HPLC (high performance liquid chromatography) eller gaskromatografi. I de

nordiska länderna har man studerat detta enbart i Finland, och resultaten stämmer överens med data från Tyskland, Belgien, England och USA, som tyder på att halten glycyrrhizinsyra ligger inom intervallet 0.29-7.9 mg/g konfekt. I det stora flertalet fall ligger halten under 3,5 mg/g (Strømmer et al., 1993). Medelhalten i 17 lakritsprodukter från Storbritannien låg vid 2 mg/g (Spinks & Fenwick, 1990). Maas (2000) undersökte 19 godisprover från Nederländerna och rapporterade att i medeltal låg halten glycyrrhizinsyra på 1,7 mg/g, med en variation mellan 0,3 och 5,1 mg/g.

En produkt kallad "lakritspulver" och två märken av en produkt kallad "bay liquorice" (lakritsextrakt) innehöll 18 respektive 25-28 mg glycyrrhizinsyra per gram (Maas, 2000). Vissa hälsokostprodukter med lakritsmak, t.ex. tuggummi, lakritste (pulvret) och halspastiller, innehåller också höga halter av glycyrrhizinsyra – 15-20 respektive 47 mg/g (Strømmer et al., 1993).

Försök har även gjorts att uppskatta exponeringen för glycyrrhizinsyra från örtteer, drycker, tuggummi och tobak. Maas (2000) drog slutsatsen att örtteer kan bidra med en betydande andel av den totala dagsdosen av glycyrrhizinsyra. Bland 33 olika märken av färdigbryggda örtteer, innehöll 13 mindre än 10 mg/l, 16 en koncentration av 10-100 mg/l och fyra mer än 100 mg/l. Den högsta uppmätta mängden var 450 mg/l. Bland de 10 örtteer som angav att de innehöll lakrits ingredienser var halten glycyrrhizinsyra i medeltal 126 mg/l. Maas (2000) studerade även 18 fabrikat av alkoholhaltiga örtdrycker. Av dessa innehöll 6 mindre än 10 mg/l, två mellan 10 och 100 mg/l och övriga 10 mer än 100 mg/l. Den högsta nivån var 422 mg/l. Två drycker som inte innehöll alkohol studerades också och här upptäcktes ingen glycyrrhizinsyra i den ena, medan den andra, en lakritsirap, innehöll 411 mg/l. Rosseel & Schoors (1993) analyserade ett tuggummi som innehöll 0.15 % glycyrrhizinsyra. Ett paket (16 g) med sådant tuggummi skulle ge ett dagsintag av 24 mg glycyrrhizinsyra om det konsumerades under en dag. Slutligen, lakritsextrakt tillsätts även till tobaksprodukter. Tobaksrökning leder sannolikt till obetydliga intag av glycyrrhizinsyra eftersom ämnet förväntas pyroliseras vid rökning. Däremot kan exponeringen för glycyrrhizinsyra vid bruk av tuggtobak rapporterats ge symptom av lakritsförgiftning (Blakey, 1998).

Den europeiska branschorganisationen för aromer och doftämnen, EFTA (European Flavour and Fragrance Association) har uppskattat de högsta koncentrationer (95^{te} percentilen) av ammoniumglycyrrhizinat och glycyrrhizinsyra som används som kemiskt definierade aromer i olika livsmedelskategorier (EFTA, 2001, 2003). För glycyrrhizinsyra var dessa 375 mg/kg i mejeriprodukter och glass, 200 mg/kg i bakverk, 135-550 mg/kg i alkoholhaltiga drycker, 50 mg/kg i läskedryck, 25 mg/kg i kött och köttprodukter, 20 mg/kg i fisk och fiskprodukter och 10 mg/kg i sammansatta livsmedel. Motsvarande koncentrationer i konfekt, glasyrer, godis och tuggummi varierar mellan 400 och 5000 mg/kg. För ammoniumglycyrrhizinat var de 51 mg/kg i läskedryck, 59 mg/kg i alkoholhaltiga drycker, 61 mg/kg i bakverk, 79 mg/kg i gelatin och puddingar, 91 mg/kg i frysta mejeriprodukter, 625 mg/kg i glasyren på konfekt, 676 mg/kg i hård godis, 1511 mg/kg i mjukgodis och 2278 mg/kg i tuggummi (Burdock, 2002).

I USA är de högsta tillåtna tillsats av aromen glycyrrhizinsyra följande: 500 mg/kg i bakverk, 1000 mg/kg i alkoholhaltiga drycker, 1500 mg/kg i läskedryck, 11 000 mg/kg i tuggummi, 160 000 mg/kg i hård godis, 1500 mg/kg i örtteer och kryddblandningar, 1500 mg/kg i växtprotein produkter, 31 000 mg/kg i mjukgodis, 5 000 mg/kg i vitamin och mineralsupplement och 1 000 mg/kg i övriga livsmedel med undantag för sockersubstitut.

Exponering för glycyrrhizinsyra

Exponeringen för glycyrrhizinsyra sker via livsmedel och andra produkter (t.ex. konfekt, desserter, drycker, tuggummi, tandkräm, hälsokost, medicinska produkter, tobak, eller torkad lakritsrot) som

innehåller lakrits eller aromerna glycyrrhizinsyra eller ammoniumglycyrrhizinat. Hos den vanliga konsumenten härstammar huvuddelen av exponeringen för glycyrrhizinsyra från konsumtion av lakrits i godisprodukter.

Intagsuppskattningar

Man har gjort försök att uppskatta exponeringen för glycyrrhizinsyra på olika platser i världen. Vid dessa beräkningar har man vanligen förutsatt att lakrits innehåller 2000 mg glycyrrhizinsyra per kg. Uppskattningar baserade på konsumtionsdata under ett dygn, insamlat i mitten av 1990-talet, har presenterats från Australien och Nya Zeeland (Russell et al., 1999). Baserat på 13 858 individer uppskattades konsumtionen av lakrits i Australien till 0,3 g/dag, motsvarande 0,6 mg glycyrrhizinsyra/dag (0,01 mg/kg kroppsvikt per dag). Eftersom lakritskonsumtionen är väldigt ojämnt fördelad, uppskattade man även nivåerna för de 108 individer som konsumerade lakritsgodis. De exponerades i medeltal för 40,2 g/dag (162,8 g/dag vid 95^{te} percentilen), motsvarande en exponering för 80,4 mg glycyrrhizinsyra/dag (1,4 mg/kg kroppsvikt per dag) för medelkonsumenten av lakritskonfekt. Exponeringen vid den 95^{te} percentilen var 325,5 mg/dag (5,6 mg/kg kroppsvikt per dag).

Baserat på 4 636 individer uppskattades konsumtionen av lakrits i Nya Zeeland till 0,25 g/dag, motsvarande 0,5 mg glycyrrhizinsyra/dag (0,01 mg/kg kroppsvikt per dag). Bland de 30 individer som konsumerade lakritsgodis i undersökningen var exponeringen i medeltal 38,2 g/dag, motsvarande 76 mg glycyrrhizinsyra/dag (1,1 mg/kg kroppsvikt per dag).

Eftersom exponeringsuppskattningarna från Australien och Nya Zeeland baserades på en 24 timmar lång registrering av vad man konsumerade, är det stor risk att exponeringen för konsumenter över-skattats och för icke konsumenter (denna dag) underskattats.

I Nederländerna har man gjort en likande exponeringsuppskattning som den som gjordes i Australien och Nya Zeeland. Uppskattningen byggde på konsumtionsdata under två dagar från 6 218 personer i en ålder av 1-92 år. Även i denna studie förutsatte man att glycyrrhizinsyrahalten var 2000 mg/kg i lakrits. Medelkonsumtionen av lakritsprodukter var 2 g per dag (10 g vid 95^{te} percentilen). Detta motsvarade 4 respektive 20 mg glycyrrhizinsyra per dag (0,07 respektive 0,3 mg/kg kroppsvikt för en person på 60 kg). Den högsta konsumtionen observerades hos barn. Medelkonsumtionen av lakritsprodukter hos 7-10 år gamla barn var 5 g och intaget vid den 95^{te} percentilen låg vid 20 g. Detta motsvarade 10 respektive 40 mg glycyrrhizinsyra per dag. Hos de som konsumerade lakrits i undersökningen låg medelkonsumtionen vid 13 g per dag (50 g vid 95^{te} percentilen), vilket motsvarar 26 respektive 100 mg glycyrrhizinsyra per dag. Bland konsumenterna var intaget störst hos 16-19 år gamla kvinnor och 19-22 år gamla män – 17-26 g per dag (95^{te} percentilen 54-122 g per dag). Omräknat till mängd glycyrrhizinsyra motsvarar detta 34-52 mg/dag, respektive 108-244 mg/dag. Hos barnkonsumenter (7-10 år) låg medelintaget vid 7-8 g per dag (14-16 mg glycyrrhizinsyra per dag), medan storkonsumenterna åt 16-25 g per dag (32-50 mg glycyrrhizinsyra per dag).

Intaget av glycyrrhizinsyra från lakritskonfekt har uppskattats även hos 223 gymnasieelever i Italien från vilka man erhöll 12 olika 24-timmars registreringar av det man konsumerat. Medelkonsumtionen av lakrits var 0,4 g/dag medan en hög konsumtion (95^{te} percentilen) låg vid 2,5 g/dag. Detta motsvarade 0,8 respektive 5 mg glycyrrhizinsyra/dag. Bland de 39 lakritskonsumenterna låg intaget på 2,4 respektive 13,5 g/dag, motsvarande 4,8 respektive 27 mg glycyrrhizinsyra/dag.

Tillgängliga data på konsumtionen av lakritskonfekt i Australien, Nya Zeeland och vissa Europeiska länder visar att exponeringen för glycyrrhizinsyra inom den totala befolkningen ligger mellan 0,01 och 0,1 mg/kg kroppsvikt per dag. Andelen av befolkningen som konsumerar lakritskonfekt tycks vara 15-20%, med högsta andelen konsumenter bland tonåringar (upp till 35 %). Det är dock troligt att

redovisade data på konsumenter är en underskattning på grund av den relativt korta tid kostregistreringarna genomförts. Intaget av glycyrrhizinsyra hos den lakritskonsumerade andelen av befolkningen ligger i medeltal inom området 5-50 mg/dag, medan högkonsumenter (95^{te} percentilen) exponeras för 100-300 mg/dag. Konsumenter som ofta intar produkter som innehåller mer än 2000 mg glycyrrhizinsyra/kg kan förväntas exponeras för större mängd glycyrrhizinsyra.

Ingen exponeringsuppskattning av glycyrrhizinsyra från örtteer eller andra drycker med lakrits arom har identifierats. Om man förutsätter att en hög konsumtion av bryggda örtteer motsvarar konsumtionen av andra drycker kan en grov uppskattning av eventuell exponering för glycyrrhizinsyra utföras. Den högsta exponeringen (per kg kroppsvikt) av läskedryck hittar man hos barn och tonåringar. Baserat på data gällande livsmedelskonsumtion över 14 dagar insamlat från 948 tonåringar från de fem Europeiska städerna Dublin, Ghent, Helsingfors, Potsdam och Rom (medelvärden för åldersgruppen 13-16 år, med kroppsvikten 53-64 kg, varierande mellan städerna), beräknades medelkonsumtionen av läskedryck till 136 ml/dag, medan högkonsumenter (95^{te} percentilen) drack mellan 371 ml/dag (i Rom) och 995 ml/dag (i Ghent). Förutsatt att bryggt örtte innehåller 126 mg glycyrrhizinsyra/l te, uppskattades exponeringen för glycyrrhizinsyra hos konsumenter av sådana drycker till 46-125 mg per dag, motsvarande 0,77 - 2,1 mg/kg kroppsvikt per dag.

En grov exponeringsuppskattning från lakritskonfekt i de nordiska länderna gjordes av en arbetsgrupp under det Nordiska Ministerrådet 1993. Eftersom halten av glycyrrhizinsyra varierar påtagligt i de studier som gjorts av lakritsrot, lakritsextrakt och olika typer av lakritskonfekt var det svårt att uppskatta intaget av ämnet. Konsumtionen av lakritskonfekt uppskattades till 1-2,5 kg/person per år, vilket motsvarade 2,7 - 6,8 g lakrits/person per dag. Om man förutsätter att lakritskonfekt i medeltal innehåller 0,2 procent glycyrrhizinsyra, skulle en nordbo i medeltal sätta i sig 6-15 mg glycyrrhizinsyra per dag (0,1-0,25 mg/kg kroppsvikt per dag för en person som väger 60 kg).

Konsumtionen av lakritsprodukter är emellertid inte jämnt fördelad i populationen. Vissa äter inga produkter med lakrits eller mycket litet, medan andra sätter i sig stora mängder. En studie av högstadiel elever på Nya Zeeland visade att 29 procent av flickorna och 17 procent av pojkarna åt lakritskonfekt varje vecka. Veckokonsumtionen var över 2 hg hos 5,9 procent av flickorna och 4,9 procent hos pojkarna och över 5 hg hos 1,8 procent av flickorna och 1,0 procent av pojkarna. Två ungdomar åt mer än 1 kg lakritskonfekt/vecka!

Den ojämnt fördelade konsumtionen av lakritsgodis har påvisats även i en nederländsk studie (Kistemaker et al., 1998). Cirka 10 % av befolkningen som deltog i studien konsumerade lakritsgodis minst en gång under de två dagar konsumtionen registrerades. Glycyrrhizinsyraintaget hos dem som konsumerade lakritsgodis låg mellan 1 och 313 mg/dag, med ett medelvärde på cirka 10 mg/dag. Det är väl känt att den typ av undersökningsmetodik som användes underskattar intaget hos personer som sällan konsumerar ett livsmedel. Hulshof & Kistemaker (1995) visade senare att hela 60 % av den nederländska befolkningen konsumerade lakritskonfekt en gång i månaden. Studierna tydde på att holländaren i medeltal konsumerar 11,5 g lakritskonfekt per dag. Använder man Maas (2000) data avseende innehållet av glycyrrhizinsyra i lakritskonfekt (i medeltal 0,17 %) motsvarar denna konsumtion av lakritskonfekt ett intag av 19 mg glycyrrhizinsyra per dag. Cirka 3 % av de regelbundna konsumenterna åt mer än 50 g lakritskonfekt per dag, vanligen i form av söt lakritskonfekt. Dessa data tyder på att ett par procent av de som konsumerar lakritskonfekt erhåller ett dagsintag av glycyrrhizinsyra över 100 mg.

Sammanfattningsvis kan konstateras att exponeringen för glycyrrhizinsyra från lakrits har utvärderats på basis av ett antal kostundersökningar som varat 1-14 dagar. Under förutsättning att lakritskonfekt i medeltal innehåller 2000 mg glycyrrhizinsyra per kg, blir exponering för dem som konsumerar

lakritskonfekt i medeltal 5-50 mg glycyrrhizinsyra per dag. Vid den 95^{te} percentilen för intag ligger exponeringen vid 100-300 mg/dag.

Baserat på att bryggt örtte med lakritsarom i medeltal innehåller 126 mg glycyrrhizinsyra per liter kan höga exponeringar förväntas för konsumenter av sådana produkter.

Riskvärdering

Det råder ingen tvekan om att lakritskonsumtion kan ge upphov till oönskade effekter. De flesta av dessa, såsom ödem, svaghet och ökat blodtryck kan tillskrivas en mineralokortikoid effekt av glycyrrhizinsyra, medan det är svårare att spåra orsaken till vissa andra effekter.

Glycyrrhizinsyra konverteras av mikroorganismerna i magtarmkanalen till glycyrrhetinsyra. Den senare kan absorberas och ge upphov till farmakologiska effekter som påminner om de som induceras av binjurehormonet aldosteron. Glycyrrhetinsyran hämmar 11 β -hydroxysteroid dehydrogenas 2 (HSD2), ett enzym som omvandlar kortisol till kortison. Hämmningen får som konsekvens att kortisolnivån behålls på hög nivå och detta är inte gynnsamt i vissa mineralokortikoida vävnader eftersom det är aldosteron som skall reglera elektrolytbalansen i dessa vävnader och kortisol har affinitet till den receptor som är ämnad för aldosteron. Behålls en hög nivå av kortisol får man som konsekvens retention av natrium och utsöndring av kalium. Denna elektrolytobalans kallas pseudohyperaldosteronism eller det skenbara mineralokortikoida överflödssyndromet.

Eftersom glycyrrhetinsyrans hämning av enzymet 11- β HSD2 är reversibel är det sannolikt inte något problem att vid enstaka tillfällen konsumera sådana mängder lakrits att hämningsnivån av glycyrrhetinsyra uppnås i plasman. Däremot kan ett regelbundet intag av lakrits som resulterar i konstant hämmande nivåer av glycyrrhetinsyra i plasman, leda till långsiktigt verkande kompenationseffekter som orsakar kliniska symptom. För att hindra att allmänheten drabbas av skadliga effekter av glycyrrhizinsyra är det lämpligt att inte enbart betrakta kliniska symptom som oönskade utan även inkludera de hämmande effekterna på enzymet bland oönskade effekter.

Toxiciteten av glycyrrhizinsyra och/eller dess monoammoniumsalt har utvärderats i ett antal toxikologiska studier på mus och råtta där testsubstansen tillförts kontinuerligt eller dagligen. Vid höga doser uppträder effekter som påminner om pseudohyperaldosteronism eller det skenbara mineralokortikoida överflödssyndromet. En svag myolys of hjärtats papillarmuskel rapporterades i honråttor som en månads tid dagligen erhållit 30 mg/kg kroppsvikt per dag av ett lakritsextrakt eller 15 mg 18 α - eller 18 β -glycyrrhezinsyra.

Många fallstudier har rapporterat oönskade effekter hos personer med upprepad hög konsumtion av lakrits (>200 mg glycyrrhizinsyra per dag). Observerade effekter inkluderar natriumretention i serum, förlust av kalium i serum, ödem, högt blodtryck och myopati. Fallrapporterna visar att oönskade effekter som karakteriserar pseudohyperaldosteronism, till exempel högt blodtryck, även uppträder hos vissa konsumenter vid ett intag som är mindre än 100 mg/dag. Detta skulle kunna bero på olika känslighet för glycyrrhizinsyra.

Samtidigt kan man konstatera att glycyrrhizinsyra gavs GRAS (generally recognised as safe) status i USA 1985, dock med förbehållet att man definierade en övre gräns i livsmedel (Anonym, 1985). Inom EU granskades glycyrrhizinsyra som ett sötningsmedel 1985. Vid den tidpunkten kunde den vetenskapliga kommitteen inte godkänna bruket av glycyrrhizinsyra som sötningsmedel. En senare riskvärdering har utförts av JECFA (2006). Man drog slutsatsen att riskvärderingen bör baseras på humandata, samt att känsligheten mot glycyrrhizinsyra varierar mellan konsumenter. Det är således

sannolikt att vissa konsumenter kommer att uppvisa pseudohyperaldosteronism vid lägre exponeringar än de som krävs för att ge samma effekt i normalpopulationen. Tillgängliga data tillät emellertid inte att ett ADI fastställdes för den gruppen av konsumenter. Med dagens kunskap har det således inte varit möjligt att fastställa en lakritskonsumtion som garanterar att inga skadliga effekter uppstår. Detta beror naturligtvis på att vår kunskap till vissa delar baseras på information från en selekterad grupp människor som vårdats för att de skadats av sin lakritskonsumtion. Tillgängliga data antyder att konsumenter med ett högt intag av lakritskonfekt eller örtte smaksatt med lakrits kan erhålla en exponering för glycyrrhizinsyra som överstiger 100 mg/dag men de berättar även att det är osannolikt att ett intag av 100 mg glycyrrhizinsyra/dag ger upphov till oönskade effekter hos en stor andel av befolkningen. JECFA-kommitteen var införstådd med att bland vissa mycket känsliga individer kan fysiologiska effekter uppträda vid intag som ligger under 100 mg glycyrrhizinsyra per dag. Av praktiska skäl skulle man dock kunna använda denna nivå som ett provisoriskt LOAEL för vuxna.

En fysiologiskt baserad farmakokinetisk-farmakodynamisk modell har utvecklats för att karakterisera sannolikheten att människan utvecklar pseudohyperaldosteronism på grund av exponeringen för glycyrrhizinsyra. Baserat på modellen beräknades att vid ett intag av 100 mg glycyrrhizinsyra/dag (cirka 2 mg/kg kroppsvikt per dag) kommer cirka 18 % av de som exponeras erhålla glycyrrhizinsyra-koncentrationer över 800 µg/l. Beräkningarna visade även att en störning i förhållande mellan kortisol och korticosteron kan förväntas i 26 % av de exponerade och att en klinisk manifestation på pseudohyperaldosteronism kan förväntas hos 0,04 % av de exponerade.

Det kan även nämnas att i en Philip Morris-finansierad riskvärdering av bruket av lakritsrot, lakritspulver och lakritsextrakt som livsmedelsingrediens, slår Isbrucker & Burdock (2006) fast att studier på råttor och möss har indikerat NOEL-värden i området 15-229 mg/kg kroppsvikt per dag. Genom att applicera en illa beskriven säkerhetsfaktor på NOEL-värdet som bland annat tog hänsyn till skillnader inom arten och mellan arter, presenterade de ett accepterbart dagligt intag (ADI) för glycyrrhizin motsvarande 0,015-0,229 mg/kg kroppsvikt per dag. Författarna konstaterade att utifrån nuvarande konsumtionsnivåer av produkter som inkluderar lakritsextrakt eller aromer baserade på glycyrrhizinsalter, föreligger inga säkerhetsrisker. Denna riskvärderare har inte anammat detta ADI.

Kommentarer till den specifika frågeställningen

Mot bakgrund av vad som sammanfattats ovan om vår kunskap om lakrits och dess aktiva ämnen kan följande kommentarer ges till den specifika frågeställningen. Om man bestämmer sig för att ett intag av 100 mg glycyrrhizinsyra/dag är den lägsta dos vid vilken effekter uppträder på normalbefolkningen, och förutsätter att lakrits innehåller 0,2 % glycyrrhizinsyra och lakritsrotpulver 4 %⁴ glycyrrhizinsyra, skulle 750 mg lakritsextrakt och 675 mg lakritsrotpulver i en kapsel motsvara cirka 29 mg glycyrrhizinsyra och inte utgöra någon risk. Tre kapslar skulle ge en total mängd av 87 mg glycyrrhizinsyra (motsvarande 1,45 mg glycyrrhizinsyra/kg kroppsvikt per dag), vilket hos speciellt känsliga individer eventuellt skulle kunna ge oönskade effekter. Det skall dock påpekas att detta överslag är behäftat med påtaglig osäkerhet. Halten glycyrrhizinsyra i de aktuella ingredienserna lakritsextrakt och lakritsrotpulver är okänd. Då det finns vissa data på lakritsextrakt ligger sannolikt det använda värdet 0,2 % inte så långt från verkligheten, men halten i lakritspulver är mycket osäker. Dessutom förutsätter beräkningen ovan att konsumenten av dessa kapslar inte konsumerar några andra produkter som innehåller lakrits eller aromer baserade på glycyrrhizinsyra eller glycyrrhetinsyra.

⁴ Produkten lakritspulver är dåligt definierad och dess innehåll av glycyrrhizinsyra är i det närmaste okänd. Vi har endast funnit en uppgift i litteraturen och den anger 1.8 %. Lakritsroten innehåller emellertid 2-15 % glycyrrhizinsyra och Europeisk farmakopé anger 4%.

Referenser

- Anonym (1985) 21 CFR Parts 182 and 184 GRAS status of licorice, (*Glycyrrhiza*). Ammoniated glycyrrhizin and monoammonium glycyrrhizinate. Federal Register 50, 21043-21044.
- Asl AN & Hosseinzadeh H (2008) Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. And its bioactive compounds. *Phytotherapy Research* 22, 709-724.
- Blakey SA (1998) Hypokalemia in a tobacco chewer: licorice link. *Journal of Pharm Pract* 11:78-79.
- Burdock (2002) Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, 4th Ed., New York: CRC Press LLC.
- Celik MM, Karakus A, Zeren C, Demir M, Bayarogullari H, Duru M & Al M (2012) Licorice induced hypokalemia, edema, and thrombocytopenia. *Human and Experimental Toxicology* 31, 1295-1298.
- Classen-Houben D, Schuster D, Da Cunha T, Odermatt A, Wolber G, Jordis U & Kueenburg B (2009) Selective inhibition of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 by 18 α -glycyrrhetic acid but not 18 β -glycyrrhetic acid. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 113, 248-252.
- Ding L, Huang Z, Yang J, Bian Z, Zhang Z & Liu G (2006) Determination of glycyrrhetic acid in human plasma by LC-ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 40, 758-762.
- EFFA (2001) Ammonium glycyrrhizinate. European Flavour and Fragrance Association (EFFA). Submission to SCOOP Working group on Chemically defined Flavouring Substances, document No: SCOOP/FLAV/8.4, SCF document No: SCF/CS/ADD/MsAd/203.
- EFFA (2003) European Flavour and Fragrance Association (EFFA). Submission to the European Commission, February 20th, 2003.
- EU (2003) Opinion of the Scientific Committee on Food on glycyrrhizinic acid and its ammonium salt. SCF/CS/ADD/EDUL/225 Final, 10 April 2013.
- Hayashi K, Hayashi R, Maruyama K & Yanagisawa N (1995) Histopathologic and MRI findings in hypokalemic myopathy induced by glycyrrhizin. *Acta Neurol. Scand.* 92, 127-131.
- Hulshof KFAM & Kistemaker C (1995) The consumption of licorice and the intake of ammonium chloride among Dutch population groups. TNO-report V 94-599, July, 1995.
- Huxley A, Griffiths M & Levy M (1992). *The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening*. Macmillan Publishing.
- Isbrucker RA & Burdock GA (2006) Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 46, 167-192.
- JECFA (2006) Glycyrrhizinic acid (prepared by G Williams, C Leclercq and AGAC Knaap), WHO Food Additives Series 54, p. 561-620.
- Kistemaker C, Bouman M and Hulshof KFAM (1998) De consumptie van afzonderlijke producten door Nederlandse bevolkingsgroepen. Voedselconsumptiepeiling 1997-1998. [The consumption of separate products by Dutch population subgroups. Food Consumption Survey 1997-1998; in Dutch] TNO Voeding, Zeist, The Netherlands.
- Lin D, Sun W, Wang Z, Chen L-G, Chen X-L, Wang S-H, Li W-S, Ge R-S & Hu G-X (2012) The effect of glycyrrhetic acid on pharmacokinetics of cortisone and its metabolite cortisol in rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012:ID 856324, 5 pages.
- Maas P (2000) Zoethout in levensmiddelen: onderzoek naar het glycyrrhizine gehalte van thee, kruidenmengsels, dranken en drop. *De Ware(n) Chemicus* 30:65-74.
- Montoro P, Maldini M, Russo M, Postorino S, Piacente S & Pizza C (2011) Metabolic profiling of roots of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) from different geographical areas by ESI/MS/MS and determination of major metabolites by LC-ESI/MS and LC-ESI/MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 54, 535-544.
- Morgan RD, Chou SH & Stelfox HT (2011) Posterior reversible encephalopathy syndrome in a patient following binge liquorice ingestion. *Journal of Neurology* 258, 1720-1722.

- Rauchensteiner F, Matsumura Y, Yamamoto Y, Yamaji S & Tani T (2005) Analysis and comparison of *Radix Glycyrrhizae* (licorice) from Europe and China by capillary-zone electrophoresis (CZE). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 38, 594-600.
- Rosseel M & Schoors D (1993) Chewing gum and hypokalaemia. *The Lancet* 341:175.
- Russell D, Parnell W, Wilson N, etc (1999) NZ Food: NZ People, Key results of the 1997 National Nutrition Survey Wellington: Ministry of Health.
- Sabbioni C, Ferranti A, Bugamelli F, Cantelli Forti G & Raggi MA (2006) Simultaneous HPLC analysis, with isocratic elution, of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in liquorice roots and confectionery products. *Phytochemical Analysis* 17, 25-31.
- Spinks EA & Fenwick GR (1990) The determination of glycyrrhizin in selected UK liquorice products. *Food Additives and Contaminants* 7, 769-778.
- Stromer FC, Reistad R & Alexander J (1993) Adverse health effects of glycyrrhizinic acid in licorice. A risk assessment. *TemaNord* 1993:526.
- Støving RK, Lingqvist LE, Bonde RK, Andries A, Hansen MH, Andersen M & Hørder K (2011) Is glycyrrhizin sensitivity increased in anorexia nervosa and should licorice be avoided? Case report and review of the literature. *Nutrition* 27, 855-858.
- Wang ZY, Athar M & Bickers DR (2000) Licorice in foods and herbal drugs: chemistry, pharmacology, toxicology and uses. In: *Herbs, Botanicals and Teas*, Mazza G and Oomah BD (Eds.), Technomic Publ. Co. Inc., Lancaster, UK, pp. 321-353.
- Williams G, Leclercq C and Knaap AGAC. (2006) Glycyrrhizinic acid. Safety evaluation of certain food additives. *WHO Food Additives Series: 54*. Sixty third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO, Geneva, pp. 561-620.
- Zenone T & Blanc Q (2009) Rhabdomyolyse liée à une hypokaliémie profonde par intoxication chronique à la glycyrrhizine. *La Revue de Médecine interne* 30, 78-80.
- Zhao W-J, Wang B-J, Wei C-M, Yuan G-Y, Bu F-L & Guo R-C (2008) Determination of glycyrrhetic acid in human plasma by HPLC-MS method and investigation of its pharmacokinetics. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 33, 289-294.

Annex 1 - Toxicitetsstudier på försöksdjur

Akut toxicitet

Oral tillförsel av glycyrrhizinat (ammonium- och kaliumsalter) har visat ge LD₅₀ värden mellan 1 220 och 12 700 mg/kg kroppsvikt i möss. Inga dödsfall observerades i möss vid den högsta dosen glycyrrhetinsyra (610 mg/kg kroppsvikt). Injektion av glycyrrhizinsyra i bukhålan på råttor gav inga effekter vid den högsta dosen (1 500 mg/kg kroppsvikt), medan injektion av glycyrrhetinsyra ledde till döden (2 000 mg/kg kroppsvikt). De döda djuren uppvisade ödem i hjärnan, lillhjärnan och lungorna, samt blodstas i njurarna, binjurarna, mjälten och levern. Även defekter på hjärtat observerades. Tillgängliga studier som studerat den akuta toxiciteten hos glycyrrhizinsalter och extract från *Glycyrrhiza* har summerats av Isbrucker and Burdock (2006).

Toxicitet vid upprepad exponering

Tillgängliga studier på gnagare som getts lakritsextrakt eller glycyrrhizinsalter i fodret eller dricksvatten kontinuerligt från 5 dagar till 96 veckor har sammanfattats av Isbrucker & Burdock (2006). Vissa studier observerade inte några toxikologiska effekter av betydelse i möss eller råttor som exponerats oralt för (1) glycyrrhizinsyra upp till 442 mg/kg kroppsvikt per dag; (2) 533 mg glycyrrhizin/kg kroppsvikt per dag; eller 1500 mg glycyrrhetinsyra/kg kroppsvikt per dag. Andra studier har rapporterat effekter och några av dessa sammanfattas nedan.

I en bristfälligt rapporterad lågdosstudie sondmatades möss och råttor dagligen under trettio dagar med 7 eller 28 mg/kg kroppsvikt per dag. Inga tecken på förgiftning eller relevanta ändringar i hematologiska parametrar, enzymaktiviteter i blodet eller morfologiska förändringar i inre organ påvisades. Djur som fick en andra, extra dos, med 28 mg/kg kroppsvikt under försöket svarade med förändringar i aktiviteten av vissa enzym i hjärnan och leverpåverkan.

I en screeningsstudie omfattande ett stort antal aromämnen sondmatades möss (stammarna CD-1 och B6C3F₁) med 0, 1250, 2500 eller 5000 mg lakritsextrakt/kg kroppsvikt per dag under fem dagar. Lakritsextraktet resulterade i en förändrad vikt på mjälten och en förändrad viktkvot mjälte:kroppsvikt. De observerade effekterna antogs bero på slumpen eftersom skillnaderna i organvikt inte var dosberoende och inga andra immunologiska parametrar var påverkade.

I en studie ämnad att studera möjligheten att använda glycyrrhizinsyra vid behandling av autoimmun sjukdom gavs möss (stam MRL/Fas 1 pr) dricksvatten som innehöll glycyrrhizinsyra i en mängd som resulterade i en exponering motsvarande 5 mg/kg kroppsvikt per dag. Exponeringen pågick för vissa djur i 21 dagar, för andra i 170 dagar. Två djur från försöksgruppen som exponerades i 21 dagar avlivades och de inre organen analyserades. Exponeringen påverkade inte vikten på levern, njurarna, tymus och mjälten. I försöksgruppen som exponerades under 170 dagar påvisades ingen skillnad i kroppsvikt jämfört med kontrollgruppen. Däremot var utsöndringen av protein i urinen lägre hos mössen som fått glycyrrhizinsyra än hos kontrollmössen. Efter 21 dagar fann man en reducerad nivå av IgG i serum hos glycyrrhizin-exponerade djur medan serumnivån av den anti-reumatoida faktorn och anti-cardiolipin antikroppar var oförändrad. Även om serumnivån av corticosterone inte påverkats i möss som getts glycyrrhizinsyra, innebar den signifikanta reduktionen i dehydrocorticosterone en påtaglig reduktion i medelkvot dehydrocorticosteron:corticosteron. Detta tolkade författarna som en systemisk påverkan av 11 β -HSD2 aktivitet. Koncentrationen av corticosteron och dehydrocorticosteron rapporterades vara högre i levern hos djur som fått glycyrrhizinsyra än i levern hos kontroldjur, kvoten dem emellan var dock inte påverkad och nivåerna var inte påverkade i njurarna, tymus och mjälte. Aktiviteten av 11 β -HSD2 var signifikant hämmad i lever och njurar hos möss som getts glycyrrhizinsyra jämfört med kontrollmöss, medan ingen påverkan observerades på detta enzym i tymus och mjälte. Författarna drog slutsatsen att glycyrrhizinsyran hämmar 11 β -HSD2

aktiviteten vilket senare, som en konsekvens, resulterar i en förändrad corticosteroid metabolism hos mössen, och denna förändrade corticosteroidmetabolism ger sig uttryck i en reducerad utsöndring av protein i urinen och lägre serumnivåer av IgG.

Wistar-råttor gavs 3000 mg glycyrrhizinsyra±antagonister av aldosteronreceptorn (spironolacton eller splerenone) per liter dricksvatten under minst 21 dagar. Kontrolldjuren fick dricksvatten utan någon tillsatt substans. Djuren erhöll en exponering av 442 mg glycyrrhizinsyra/kg kroppsvikt per dag, medan exponeringen för antagonisterna var 5,8 respektive 182 mg/kg kroppsvikt per dag. Även om inte någon av exponeringarna resulterade i förändrad kroppsvikt eller puls, resulterade exponeringen för glycyrrhizinsyra i ökat systoliskt blodtryck, ökad koncentrationer av proteinet endothelin-1 (ET-1) i blodet och ET-1-inducerad kärlkontraktion jämfört med övriga grupper av försöksdjur. Omvänt observerades koncentrationen av nitrat i aortavävnad och den kväveoxid-medierade endotelfunktionen vara signifikant lägre i glycyrrhizinsyraexponerade gruppen än i övriga grupper. Alla effekter som kunde tillskrivas glycyrrhizinsyra normaliserades i närvaro av aldosteronantagoniserna spironolactone och splerenone.

I en studie på honråttor av stammen Sprague-Dawley studerades sambandet mellan glycyrrhizinsyra-intaget och myolys i den papillära muskulaturen. Försöksgrupper om 40 djur administrerades oralt under 30 dagar destillerat vatten eller vattenlösningar av 18 α - eller 18 β -glycyrrhetinsyra (15 mg/kg kroppsvikt per dag) eller glycyrrhizin (30 mg/kg kroppsvikt per dag). Tio av djuren i varje grupp avlivades efter 0, 15 respektive 30 dagar för att kunna spåra förändringar i biokemiska och histologiska parametrar. En svag myolys av hjärtats papillarmuskel observerades hos råttor som getts glycyrrhizin eller 18 α -glycyrrhizinsyra dag 30 av studien och ingen läkning av effekterna kunde påvisas efter ytterligare 30 dagar i frånvaro av de studerade ämnena. 18 α -Glycyrrhizinsyra resulterade efter femton dagar även i calculi i tubuli (med tillhörande ökad kalciumutsöndring) och en svag ökning i utvidgning av lymfoidvävnaden i lungorna associerad till brokerna. En ökning i calculi i tubuli erhöles även med 18 β -glycyrrhizinsyra men denna nådde statistisk signifikans först efter 30 dagars exponering. Den ökade utsöndringen av kalcium fortgick även efter att exponeringen för glycyrrhizinsyra upphört. Författarna betraktade inte de biokemiska och histologiska förändringarna som allvarliga biverkningar men de rekommenderade att konsumtionen av produkter som innehåller lakrits skall undvikas av personer som lider av hyperaldosteronism, hjärtsjukdom eller behandlas med urindrivande läkemedel.

I en äldre studie på råttor som fortgick i 50 dagar utfodrades djuren med ett lakritsextrakt (10g/kg kroppsvikt per dag) eller ammoniumglycyrrhizinat (1g/kg kroppsvikt per dag). Det rapporterades att djuren uppvisade progressivt stigande blodtryck och tillväxthämning. Relativa viktsökningar och allvarliga skador påvisades på njurarna, binjurarna och hjärtat. Många djur dog och överlevnaden efter 50 dagar låg på 36 % bland djuren som fick lakritsextraktet och 77 % för de som fick ammoniumglycyrrhizinat (kontrollen 100%).

En annan studie på Sprague-Dawley råttor visade att ammoniumglycyrrhizinat efter 2-3 veckors oral tillförsel (1 eller 2 g/kg kroppsvikt per dag) resulterade i ökat blodtryck. En sådan effekt kunde inte påvisas i en annan råttstam, Osborne-Mendel råttor, efter betydligt längre exponering. Ytterligare en annan studie doserade 160 mg glycyrrhizin per dag oralt till råttor (533 mg/kg kroppsvikt per dag) och fann en 25 %-ig ökning i blodtryck. Blodtrycket återgick till normala nivåer när exponeringen upphörde. Flera olika glycyrrhizin-relaterade ämnen hade liknande effekt.

Japanska forskare utfodrade råttor under 90 dagar med ett foder som innehöll 0,1 eller 0,5 % diammonium- eller dikaliumglycyrrhizinat (motsvarande en exponering för cirka 50 respektive 250

mg/kg kroppsvikt per dag). Handjuren som fick den högre dosen rapporterades ha reducerad tillväxt. Inga yttre eller inre skador rapporterades.

I en studie på hanrättor av stammen Sprague-Dawley som avsåg att studera eventuell neurologiska påverkan på råttors beteende efter konsumtion av ammoniumglycyrrhizinat under 4-6 månader. Försöksdjuren var fördelade på tre grupper om 40 djur per grupp, där olika parametrar studerades för varje grupp. Fyra dosnivåer studerades: 0, 1, 2 eller 4 % av fodret som ammoniumglycyrrhizinat. Doseringarna resulterande i en exponering motsvarande 0, 1,23, 1,87 respektive 2,55 g ammoniumglycyrrhizinat per kg kroppsvikt och dag. Bland de sju typer av studier som genomfördes observerades en påverkan endast på aversionsbeteende. Detta var starkare i exponerade djur än i kontrolldjur. Däremot fann man att tillväxten hämmades vid den högsta dosen (2,55 g/kg kroppsvikt per dag) i en av de tre försöksgrupperna. Foderintaget minskade i en annan av högdosgrupperna. Hos båda dessa grupper av försöksdjur rapporterades förändrat blodtryck och puls vid olika tidpunkter under försöket, jämfört med kontrolldjuren. Ingen påverkan på blodtryck och puls påvisades i djur som erhöll 2 % ammoniumglycyrrhizinat i fodret. Vid försökets slut, då djuren avlivades, påvisades en signifikant trend för en dosberoende ökning i hjärtats vikt i två av de tre försöksgrupperna och i njurvikt i alla tre försöksgrupperna. Dessutom fann man ökad vikt på hjärnan och reducerad vikt på binjurarna i en av försöksgrupperna. En brist var att de olika dosgrupperna inte redovisades enskilt i de senare studierna.

I en annan studie på råttor rapporterades ökad kroppsvikt och utsöndring av kalium hos djur som getts glycyrrhetinsyra i fodret under 8, 10 eller 14 dagar och som resulterade i en exponering upp till 1500 mg/kg kroppsvikt.

Studier på reproduktionstoxicitet

Hundertmark et al. (2002) visade för ett tiotal år sedan att glycyrrhetinsyra har förmåga att passera placentabariären hos dräktiga råttor och påvisas hos fostren. I studien utfodrades de dräktiga hondjuren med 100 mg glycyrrhetinsyra/kg kroppsvikt per dag från den trettionde dagen av dräktigheten. På dag 17, 19 och 21 av dräktigheten låg plasmanivån av glycyrrhetinsyra hos hondjuren vid cirka 100 µg/ml, medan fostrens plasmanivåer låg vid 5, 18 respektive 32 100 µg/ml. Det finns således anledning att undersöka huruvida glycyrrhetinsyra har en teratogen effekt.

Ammoniumglycyrrhizinat är en av de glycyrrhizinsalter som studerats med avseende på teratogena effekter i flera olika typer av försöksdjur. Oral tillförsel av monoammoniumsaltet i doser upp till 1000 mg/kg kroppsvikt under dag 6-15 av graviditeten hos CD-1 albino möss och Wistar albino råttor gav inga teratogena effekter eller effekter på överlevnad hos hondjuren och deras foster. Inte heller motsvarande behandling av syrisk guldhamster dag 6-10 av graviditeten eller en vanlig kaninstam dag 6-18 av graviditeten resulterade i teratogena effekter eller effekter på överlevnad. Däremot observerades en dosberoende (0, 21, 239 eller 680 mg/kg kroppsvikt) ökning i embryotoxicitet och smärre anomalier hos råttor som administrerades oralt med ammoniumglycyrrhizinat under dag 7-17 av graviditeten. Den enda effekt som påvisades i fostren var variationer i bröstbenets fullständighet vid de två högsta doserna, sannolikt en konsekvens av fostertoxicitet snarare än teratogenicitet. Förekomsten av njurförändringar var förhöjd i den lägsta och högsta dosen. Dessutom påvisades en ökning i inre blödningar i djur som fick den intermediära dosen. Hos honorna var den enda påverkan av ammoniumglycyrrhizinat en ökad vattenkonsumtion vid de två högsta doserna.

En motsvarande studie gjordes på Wistar råttor som gavs dinatriumglycyrrhizinat under de första tjugo dagarna av graviditeten. Doseringen var 0, 0,08, 0,4 eller 2,0 % av fodret. I denna studie erhöles inga effekter på fostren. Den enda effekt som påvisades i studien var en påverkan på förändringen i kroppsvikt efter att ungarna fötts. Vid de två högsta doserna erhöles en lägre ökning i kroppsvikt än i

kontrolldjuren. Effekten kommenterades inte men författarna konstaterade att studien inte antydde någon risk för teratogena effekter.

Ytterligare information om tillgängliga studier på teratogenicitet och reproduktionstoxicitet av lakritsextrakt och glycyrrhizinsyra finns tillgängligt i Isbrucker & Burdock (2006). Sammanfattningsvis kan konstateras att det inte finns några belägg för att glycyrrhizinsyrasalter har en teratogen effekt.

Annex 2 – Fallbeskrivningar och epidemiologiska data på lakritsinducerade effekter

Den vetenskapliga litteraturen är rik på rapporter som beskriver människor som förgiftats vid överdriven konsumtion av lakrits. Flera av de kliniska rapporterna gällde personer som sökt läkarvård och visats kroniskt konsumera lakritskonfekt. De effekter som rapporterats inkluderar retention av natrium och brist på kalium i blodet, reducerad reninaktivitet i plasma, reducerad aldosteronnivå i blodet och urinen, ödem, högt blodtryck och myopati. Symptomen intensifierades hos personer som använt vissa läkemedel, speciellt diuretika, eller lider av till exempel hyperaldosteronism eller hjärtsjukdom. Efter elektrolytbehandling och upphörd konsumtion av lakritskonfekt normaliserades dessa värden.

De enskilda fallbeskrivningarna visar även att exponering för mindre än 100 mg glycyrrhizinsyra per dag under en längre tid kan ge upphov till effekter som påminner om pseudohyperaldosteronism, inkluderande högt blodtryck. Ofta förelåg i fallbeskrivningen andra genetiska eller livsstilsfaktorer som ökar känsligheten för individen för effekter av glycyrrhizinsyran på 11β -HSD2. Hos vissa personer är den typiska bilden av lakritsförgiftning kompletterad med andra toxiska effekter, som till exempel rhabdomyolys, posterior reversible encephalopathy, and thrombocytopenia (Celik et al., 2012; Morgan et al., 2011; Zenone & Blanc, 2009). I flera fall rapporterades att symptombilden förbättrades när fallen upphörde konsumera lakrits.

Hayashi och medarbetare (1995) rapporterade två förgiftningsfall där patienterna konsumerat lakrits. Den första patienten var en man som beskrevs ha exponerats för 273 mg glycyrrhizinsyra per dag (4.6 mg/kg kroppsvikt per dag) under två månader som en del av en behandling av en leversjukdom. Den andra patienten var en kvinna som under tre år använt kinesiska örter för att banta och behandla förstoppning; hur mycket lakrits eller glycyrrhizinsyra hon fick i sig angavs inte. Båda patienterna uppvisade myopati och muskelsvaghet i armar och ben, rapporterades ha serum- och urinvärden som antydde ett mineralokortikoid överflödsyndrom. Muskelförändringar påvisades i biopsier. Läkarna tillskrev effekten exponeringen för glycyrrhizinsyra. När båda patienterna upphörde med att använda preparationen som innehöll glycyrrhizinsyra och behandlades oralt med kaliumklorid tillfrisknade båda personerna och fick full muskelstyrka.

Ett relativt stort antal kliniska studier har utförts för att studera effekterna av glycyrrhizinsyra och dess salter på människor. Dessa är sammanfattade nedan. Inga påtagliga negativa effekter erhöles vid engångsdosering. Upprepad exponering resulterade emellertid i det spektrum av effekter som är kända från fallbeskrivningar av lakritsförgiftning.

Kliniska studier med engångsdosering.

Det har rapporterats att friska män som intar enstaka orala doser på 0.5, 1.0 eller 1,5 g 18β -glycyrrhizinsyra (cirka 8.3, 16.67 respektive 25.0 mg/kg kroppsvikt) inte resulterar i några oönskade effekter på blodtryck och puls. Plasmanivån av kortisol påverkades inte. Däremot sjönk plasmanivån kortison relativt nivå hos kontrollpersoner. I de lägre två dosgrupperna inträdde minskningen i kortisonnivå 2,5 - 7,5 timmar efter intaget av glycyrrhizinsyra. I högdosgruppen var nivån reducerad mellan 2,5 och 10 timmar efter intaget.

National Cancer Institute sponsrade en klinisk fas-1 studie med glycyrrhetinsyra hos patienter som tidigare haft bröstcancer. Hos de tio kvinnor som erhöles en engångsdos med 100-500 mg glycyrrhetinsyra/m² (2,70 - 13,51 mg/kg kroppsvikt) erhöles inga tecken på toxicitet. Ingen skillnad i förhållande till basnivån i systoliskt och diastoliskt blodtryck, natriumhalt i serum och plasmakoncentration av renin påvisades och försökspersonerna rapporterade inte några oangenäma effekter.

Kliniska studier med flergångsdosering

I en randomiserad välkontrollerad nederländsk studie på 39 friska frivilliga kvinnor i åldern 18-40 år gavs kapslar med glycyrrhizinsyra som innehöll 0, 1, 2 eller 4 mg/kg kroppsvikt per dag. Kvinnorna svalde en kapsel per dagligen under åtta veckor. En förstudie hade antytt att kvinnor var mer känsliga för glycyrrhizinsyra än män. En kvinna i högdosgruppen avslutade studien på grund av koncentrationssvårigheter och allmän olustkänsla. Det visade sig att hon hade något förhöjt blodtryck och 3 kg förhöjd kroppsvikt. Symptomen återgick till normalvärden när hon drog sig ur studien. Inga förändringar i kroppsvikt påvisades i någon dosgrupp. Reninaktiviteten i plasma var reducerad endast i högdosgruppen och kvinnorna som fick denna dos hade reducerad aldosteronnivå i serum från och med vecka 2. Två veckor efter försöket avslutata var nivån åter normal. Aldosteronnivån påverkades inte i de två lägsta doserna. Vid den högsta dosen, men inte de två lägre doserna, påvisades en ökning i koncentrationen av hormonet atriopentin, vilken normaliserades efter försökets avslutning. Ingen skillnad i blodtryck uppvisades mellan högdosgruppen och kontrollgruppen trots att blodtrycket var högre hos dem som fick den högsta dosen glycyrrhizinsyra. Detta berodde på att blodtrycket minskade i kontrollgruppen ju längre studien pågick. Under vecka 2-4 av studien sjönk plasmakoncentrationen av kalium i högdosgruppen relativt kontrollgruppen; emellertid återställdes plasmanivån av kalium till normala värden under de följande fyra veckorna av studien. Studie resulterade i ett NOEL för glycyrrhizinsyra på 2 mg/kg kroppsvikt.

En tidigare klinisk studie gav 400 eller 800 mg ren glycyrrhizinsyra per dag till åtta kvinnor och åtta män under 2-4 veckor. Effekter som påminde om pseudohyperaldosteronism påvisades, med högre känslighet hos kvinnor.

I tidiga studier av den farmakologiska effekten av lakrits vid magsår, uppvisade cirka 20 % av patienterna som tre gånger dagligen erhölet en tesked av ett vattenlösning innehållande 100 g lakritsextrakt (motsvarande totalt 10 g lakritsextrakt per dag, cirka 850 mg glycyrrhizinsyra, förutsatt att lakritsextrakt innehåller 8,5 % glycyrrhizinsyra) ödem. Ödemen uppträdde först i ansiktet och senare i benen och händerna. Ofta uppträdde kraftigt huvudvärk, yrsel, ont i överkroppen, tryck över bröstet, ökad kroppsvikt och högt blodtryck parallellt med ödemen. Inga studier gjordes på blodet eller hjärtat. Ödem inträffade vanligen inte när dosen reducerades till 3 g lakritsextrakt per dag (cirka 255 mg glycyrrhizinsyra, förutsatt att lakritsextrakt innehåller 8,5 % glycyrrhizinsyra); vissa patienter verkade dock vara mer känsliga och uppvisade dessa effekter även vid lägre doser. Ett sällsynt fall av lungödem har rapporterats i en annan studie, men doseringen med glycyrrhizinsyra var i det fallet mycket hög (3,6 g).

I en annan tidig klinisk studie utvärderades konsumtionen av läkemedelsingrediensen 'succus liquoritate' (innehåller 26 % glycyrrhizinsyra) med avseende på kroppsvikt, vattenupplagring, ödem och blodtryck hos 17 individer som följdes under en icke definierad tidsperiod. Medelintaget av glycyrrhizinsyra var 1560 mg per dag. Hos sex av deltagarna rapporterades ett intag av 780 mg/dag resultera i en signifikant ökning av kroppsvikten och hos fyra av dem ökat blodtryck. En av de sju individerna var speciellt känslig för glycyrrhizinsyra eftersom ett förhöjt blodtryck erhöles redan vid ett intag av 130 mg glycyrrhizinsyra per dag.

I ytterligare en klinisk studie fick 14 friska personer konsumera 100 eller 200 g lakritskonfekt (700 eller 1400 mg glycyrrhizinsyra) per dag under 1-4 veckor. Sex kvinnor fick dra sig ur studien eftersom de utvecklade försämrad saltbalans och/eller ödem i extremiteterna. Andra rapporterade biverkningar inkluderade huvudvärk, apati och viktökning. Studiet av blodparametrar visade att plasmanivån av kalium sjönk och att hormonen som påverkar saltbalansen påverkats (t.ex. reducerades aldosteronnivån i plasma och urin). Förändringarna i blodet och urinen återgick när konsumtionen av lakritskonfekt upphörde. Även om författarna inte åtskilde effekterna vid de två dosnivåerna, rapporterade de att effekterna uppträdde snabbare vid den högre dosen.

En klinisk studie studerade effekten av konsumtion av intorkade lakritsextrakt hos frivilliga män och kvinnor. Försökspersonerna gavs 108, 217, 380 eller 814 mg av extraktet varje dag vilket motsvarade en exponering för 1.8, 3.6, 6.2 eller 13 mg glycyrrhizinsyra/kg kroppsvikt per dag. Ingen effekt på njurfunktion, serum elektrolyter, blodsocker, hormonen som reglerar saltbalans och en del blodparametrar erhöles vid de två lägsta doserna. Vid de två högsta doserna drog sig tre försökspersoner ur studien på grund av huvudvärk, ödem och högt blodtryck. Två av dessa var kvinnor och de drog sig ur studien i samband med menstruationsperioden. Den ena av dem tog parallellt med den högsta dosen lakritsextrakt ett preventivmedel. Den tredje personen, en man, hade tidigare högt blodtryck som förvärrades under försöket. De övriga tre personerna rapporterade inga biverkningar.

Sex friska män konsumerade frivilligt 7 g lakrits (med 0,5 g glycyrrhizinsyra) under 7 dagar. Konsumtionen resulterande i en exponering för 9,33 mg glycyrrhizinsyra/kg kroppsvikt per dag och gav upphov till en signifikant reduktion i serumnivån av testosteron och en signifikant ökning i 17 β -hydroxyprogesteron, medan serumkoncentrationen av androstenedion inte förändrades. Författarna drog slutsatsen att enzymet 17,20-lyase, som omvandlar 17 β -hydroxyprogesteron till androstenedion, hämmas av glycyrrhizinsyra.

En studie undersökte specifikt interaktionen mellan lakrits och ämnen som metaboliseras av CYP3A. I studien gavs tio friska män 1g lakrits alternativt sockerpiller två gånger om dagen under sju dagar, samt 7,5 mg midazolam en dag senare. Studien observerade inga tecken på att lakrits inducerar CYP3A hos människor.

En annan studie jämförde effekten av att dagligen ge 225 mg surt extrakt av lakritsrot (glycyrrhizinsyrahalten inte angiven) i sju dagar och att ge extraktet tillsammans med 1.5 mg av det glukokortikoida läkemedlet dexamethasone. Det sura lakritsrotsextraktet reducerade renin-aktiviteten i plasma, koncentrationen kalium i serum och aldosteron i urin, medan nivån av natrium i serum, kalium i urin, kortisol i plasma och urin och kortison i urin ökade. Dexamethasonebehandlingen reducerade den mineralokortikoida effekten. I en liknande studie på fem friska män och fem friska kvinnor gavs 500 mg glycyrrhetinsyra per dag (motsvarande cirka 200 g lakritskonfekt). Koncentrationen av kortisol och kalium i urin ökade, medan nivån av kortison i plasma och urin, kalium, reninaktivitet och aldosteron i plasma minskade. Även koncentrationen av kortisol i plasma var lägre, men denna minskning nådde inte statistisk signifikans.

I en bristfälligt rapporterad studie jämfördes blodtryck och endokrina funktioner hos 83 män som använde tuggtobak med motsvarande parametrar hos 22 åldersmatchade kontrollpersoner. Brukarna av tuggtobak hade högre blodtryck, lägre reninaktivitet i plasma och lägre kvot mellan tetrahydrokortison och tetrahydrokortisol i urin. Parallellt studeras fem frivilliga som gavs en dos av 200 mg glycyrrhizinsyra per dag (motsvarande två portionsförpackningar lakritsinnehållande tuggtobak per dag) under en vecka. I denna grupp observerades reducerad reninaktivitet i plasma, lägre kvot mellan tetrahydrokortison och tetrahydrokortisol i urin och utsöndring av aldosteron i urin. Man drog slutsatsen att användning av tuggtobak som innehåller lakritsextrakt kan ge upphov till mineralokortikoida effekter.

En isländsk studie undersökte sambandet mellan dos respektive tid och förhöjt blodtryck vid lakritskonsumtion, samt variationen i hur olika människor reagerar på glycyrrhetinsyra. Tre studier genomfördes. I den första ingick tio frivilliga som konsumerade 200 g söt lakrits dagligen i två veckor (motsvarande 540 mg glycyrrhetinsyra per dag; 9 mg/kg kroppsvikt för en person på 60 kg). I den andra konsumerade 30 frivilliga 100 g söt lakrits dagligen under fyra veckor. I den tredje studien gavs 24 frivilliga 50 g söt lakrits under fyra veckor. Försökspersonerna i den första studien uppvisade

signifikant förhöjt systoliskt och diastoliskt blodtryck efter de två veckornas konsumtion av 200 g lakrits. Plasmanivån av kalium var reducerad, men pulsen oförändrad. Liknande resultat erhöles i den andra studien. Det systoliska blodtrycket var signifikant förhöjt efter två och fyra veckors lakritskonsumtion. Kaliumnivån i plasma var reducerad efter två veckor, men ingen inverkan på det diastoliska blodtrycket och pulsen konstaterades. Även om ett förhöjt systoliskt blodtryck observerades även i den tredje studien efter två veckor, observerades ingen påverkan efter fyra veckor. Inte heller erhöles påverkan på diastoliskt blodtryck, puls och plasmanivå av kalium. Det var inte någon påtaglig skillnad mellan individer vad gällde ökat blodtryck. Tiden lakritskonsumtionen pågick inverkade inte på blodtrycksökningens storlek.

Sammanfattningsvis konstateras att de kliniska effekter som uppkommer efter konsumtion av lakritsrotextrakt eller glycyrrhizinsyra kan beskrivas som fysiologiska och avspeglar de effekter som uppstår vid överdosering av det endogena binjurehormonet aldosteron, som medverkar i regleringen av elektrolytbalansen. Den kliniska bilden omfattar hypokalaemia, reducerad reninaktivitet i plasma, reducerade nivåer av aldosteron i urin, uppsamling av natrium och ödem. Emellertid är effekterna reversibla när tillförseln av glycyrrhizinsyra upphör.

Studier på gravida kvinnor

Tre studier har fokuserat på effekterna av glycyrrhizinsyra från lakrits på graviditetsutfall. Den första av dessa studier studerade användningen av en hostmedicin som innehöll ett lakritsextrakt hos 313 gravida kvinnor. Då studien inte kontrollerade för någon potentiellt inverkan variabel är den av ringa värde vad gäller effekterna av glycyrrhizinsyra på graviditetsutfall.

Övriga två studier var från Finland. I den första undersöktes de potentiella effekterna av lakritskonsumtion på födelsevikt och graviditetslängd hos 1049 kvinnor som besvarat en kostenkät under 1998 som undersökte hur ofta och hur mycket lakritskonfekt som förtärdes. Uppgifter om glycyrrhizinsyrainnehållet i godiset erhöles från tillverkare och finska undersökningar. I medeltal exponerades de kvinnor som åt lakrits för 363 mg glycyrrhizinsyra dagligen (0,87 mg/kg kroppsvikt per dag). Knappt hälften av kvinnorna konsumerade lakritskonfekt varje vecka och 2 % dagligen. Graviditetslängden var 40,1; 40,0 och 39,7 veckor för kvinnor med lågt (<250 mg/vecka), medelstort (250-499 mg/vecka) och högt (\geq 500 mg/vecka) intag av glycyrrhizinsyra. Regressionsanalys antydde en signifikant reduktion i graviditetslängd (2,52 dagar) vid ett glycyrrhizinsyraintag över 500 mg/vecka. Den signifikanta reduktionen i graviditetslängd kvarstod när man kontrollerade för kända samverkande faktorer. Ingen skillnad mellan grupperna observerades för födelsevikt. Författarna uppmanade till försiktighet vid tolkningen av resultaten eftersom de kände sig osäkra om de kontrollerat för alla samverkande faktorer.

I en uppföljande studie analyserade samma forskarlag risken för tidig födsel (graviditetslängd <37 veckor) och mycket tidig födsel (graviditetslängd <34 veckor) vid stor konsumtion av lakrits i en grupp av 95 finska kvinnor. Etthundrasju kvinnor som födde barn efter förväntad graviditetslängd vid samma sjukhus utgjorde kontrollgrupp. Kvinnorna placerades i intervallen med olika glycyrrhizinsyraexponering som i den tidigare studien: lågt (<250 mg/vecka), medelstort (250-499 mg/vecka) och högt (\geq 500 mg/vecka) intag av lakritsgodis. Risken för tidig födsel eller mycket tidig födsel jämfördes hos kvinnor med högt intag av lakritsgodis jämfört med kvinnor som konsumerade låga eller medelstora mängder. Jämfört med de lägre konsumtionskategorierna tillsammans, innebar en konsumtion av minst 500 mg glycyrrhizin/vecka en åldersjusterad ökad risk för tidig födsel motsvarande OR=2,28 (konfidensintervall 1,01 – 5,14). Motsvarande beräkning för mycket tidig födsel gav OR=3,07 (konfidensintervall 1,17 – 8,05). Om andra tänkbara samverkande faktorer som rökning och "parity" togs med i beräkningen försvagades sambandet mellan lakritsintag och tidig födsel till icke signifikant nivå OR=2,15; konfidensintervall 0,83 – 4,95. En sådan justering påverkade inte slutsatsen gällande

mycket tidig födsel. En svaghet med studien var att kostenkäten var retrospektiv. Å andra sidan är sambanden tänkbara mot bakgrund av de effekter glycyrrhizinsyra visats ha på kortisol- och prostaglandinmetabolism.