

Odabrane biljne droge i tvari biljnog podrijetla za liječenje i prevenciju infekcija mokraćnog sustava

Menalo, Marina

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:832491>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Marina Menalo

**Odabrane biljne droge za liječenje i prevenciju
infekcija mokraćnog sustava**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Maje Bival Štefan.

Od srca hvala mentorici, doc. dr. sc. Maji Bival Štefan, na stručnom vodstvu i pruženoj pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala mojim prijateljima što su bili uz mene u svakom trenutku i što su bili spremni slušati sve moje jadikovke kojih je uvijek bilo previše.

Hvala mojim drugim roditeljima, tetku i tetki, što sam uvijek imala gdje uteći kad je bilo teško.

Hvala sestrama i bratu – najbolji ste i bolje ne bih mogla poželjeti.

I na kraju, hvala mami i tati na bezuvjetnoj potpori, ljubavi i vjeri u mene. Zbog vas sam danas sve što jesam i nikad vam neću moći zahvaliti dovoljno zbog svega što ste učinili za mene.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Infekcije mokraćnog sustava	2
1.2. Patofiziologija bolesti	2
1.3. Podjela infekcija mokraćnog sustava.....	3
2. Obrazloženje teme.....	6
3. Materijali i metode	8
4. Rezultati i rasprava.....	10
4.1. Uvae ursi folium – list medvjetke.....	11
4.1.1. Definicija droge	11
4.1.2. Fitokemijski sastav	11
4.1.3. Mehanizam djelovanja i uporaba	12
4.1.4. <i>In vitro</i> i <i>in vivo</i> istraživanja.....	13
4.1.5. Kliničke studije.....	13
4.1.6. Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji	14
4.2. Vaccinii macrocarpi fructus – plod američke brusnice	16
4.2.1. Definicija droge	16
4.2.2. Fitokemijski sastav	16
4.2.3. Mehanizam djelovanja i uporaba	17
4.2.4. <i>In vitro</i> i <i>in vivo</i> istraživanja.....	18
4.2.5. Kliničke studije.....	20
4.2.6. Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji	21
4.3. Solidaginis virgaureae herba – zelen obične zlatnice	23
4.3.1. Definicija droge.....	23
4.3.2. Fitokemijski sastav	23
4.3.3. Mehanizam djelovanja i uporaba	24

4.3.4.	<i>In vitro</i> i <i>in vivo</i> istraživanja	25
4.3.5.	Kliničke studije.....	26
4.3.6.	Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji	26
4.4.	D-manoza.....	28
4.4.1.	Kemijske i fizikalne osobine	28
4.4.2.	Mehanizam djelovanja i uporaba	28
4.4.3.	<i>In vitro</i> i <i>in vitro</i> istraživanja	29
4.4.4.	Kliničke studije.....	30
4.4.5.	Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji	32
5.	Zaključak.....	33
6.	Literatura	35
7.	Sažetak/Summary.....	43

1.Uvod

1.1. Infekcije mokraćnog sustava

Urinarne infekcije ozbiljan su problem za javno zdravstvo, a uzrokuje ih čitav niz patogena od kojih je najčešća *Escherichia coli*. Ostali uzročnici su *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus saprophyticus*. Visoke stope recidiva i porast antibiotske rezistencije nose prijetnju povećanja ekonomskog tereta ovih infekcija. Neracionalnim propisivanjem antibiotika dolazi do pojave multirezistentnih sojeva. Uropatogeni posjeduju mnoge virulentne faktore koji su uključeni u invaziju i kolonizaciju patogenima. Nužno je detaljno poznavanje mehanizama djelovanja tih faktora kako bi se mogli razviti novi terapeutici protiv infekcija mokraćnog sustava (Flores-Mireles i sur., 2015).

Prema Hrvatskom zdravstveno-statističkom ljetopisu, u 2016. godini u ordinacijama primarne zdravstvene zaštite dijagnosticirano je 215 519 slučajeva cistitisa od kojih najviše u dobnoj skupini od 20 do 64 godine (120 508).

Istraživanja su pokazala da klinički simptomi akutne epizode infekcije mokraćnog sustava traju u prosjeku šest dana, a slabost i klonulost su prisutne barem dva dana. Osoba ženskog spola koja pati od uroinfekcije nije sposobna za posao najmanje jedan dan dok u krevetu provede barem pola dana. Kao što je vidljivo iz navedenog, infekcije mokraćnog sustava, pogotovo rekurirajuće, smanjuju kvalitetu života oboljelih, dovode do gubitka radnih dana, povećane potrošnje antibiotika i povećanja medicinskih troškova (Škerk i Dujnić Špoljarević, 2012).

1.2. Patofiziologija bolesti

Mokraćni sustav je organski sustav koji sudjeluje u stvaranju i sakupljanju mokraće, njenom izbacivanju iz tijela te održavanju ravnoteže vode i elektrolita. Čine ga bubrezi koji prvenstveno imaju ulogu filtriranja krvi i uklanjanja otpadnih produkata, vode i soli i tako stvaraju mokraću, mokraćovod, mokraćni mjehur koji skladišti i potom izbacuje mokraću iz tijela te mokraćna cijev ili uretra. U fiziološkim uvjetima je mokraćni sustav sterilan i zaštićen od patogenih organizama samim tokom mokraće i stanicama imunskog sustava. Upale nastaju kada mikroorganizmi, najčešće iz probavnog sustava, kroz mokraćnu cijev dospiju do mokraćnog mjehura i tamo se počnu razmnožavati (Song i Abraham, 2008).

Urinarnom infekcijom se naziva svaka infekcija koja zahvaća bilo koji dio mokraćnog sustava. Ovisno o mjestu koje je zahvaćeno urinarne infekcije možemo svrstati u:

→ Uretritis – infekcija uretre

→ Cistitis – infekcija mokraćnog mjehura

→ Pijelonefritis – infekcija bubrega (Johnson i Stamm, 1989).

Neki autori svrstavaju infekcije na nešto drugačiji način, pa tako upalu donjeg urinarnog trakta nazivaju cistitisom, a upalu gornjeg urinarnog trakta pijelonefritisom (Flores-Mireles i sur., 2015).

Najčešći simptomi urinarnih infekcija su učestalo i bolno mokrenje, suprapubični pritisak te hitna potreba za mokrenjem (Foxman, 2013).

Tri su moguća puta kojima bakterije mogu prodrijeti i proširiti se unutar mokraćnog sustava: ascendentnim, hematogenim i limfogenim putem. Najznačajniji put nastanka je ascendentni, uzlazni: bakterije najprije koloniziraju mokraćnu cijev, a zatim pri različitim mehaničkim podražajima ulaze u mokraćni mjehur. Upale su 14 puta češće kod žena nego kod muškaraca jer je ženska mokraćna cijev kratka i usko povezana s perianalnom regijom, dok je kod muškaraca mokraćna cijev duža, a sekret prostate je baktericidan (Johnson i Stamm, 1989).

1.3. Podjela infekcija mokraćnog sustava

Infekcije mokraćnog sustava svrstane su u pet kategorija. To su: akutni nekomplikirani cistitis, akutni nekomplikirani pijelonefritis, komplicirane infekcije mokraćnog sustava, rekurirajuće infekcije te asimptomatska bakteriurija (Andrašević, 2012).

Akutni nekomplikirani cistitis akutna je upala koja pogađa žene koje su u premenopauzi i nisu trudnice, a nemaju druge komplicirajuće čimbenike za infekcije mokraćnog sustava. Simptomi traju do 7 dana, a najčešći su: disurija, polakisurija, urgencija, suprapubični pritisak i tjelesna temperatura viša od 37,5 °C. U ovom tipu infekcija pozitivan je test leukocitne esteraze, a urinokulturu ne treba raditi. Veći rizik od bubrežnih infekcija prisutan je ako simptomi akutnog nekomplikiranog cistitisa traju 7 dana ili duže, ako pacijentica ima povijest nedavnih infekcija mokraćnog sustava ili ako je slabijeg socijalno-ekonomskog statusa. Prva linija liječenja je nitrofurantoin i to u dozi od 100 mg 2 puta dnevno tijekom 7 dana. U slučaju da je potrebna i druga linija liječenja, u obzir dolaze

koamoksiklav (2x1 g, p.o. tijekom 7 dana), cefaleksin (2x1 g, p.o. tijekom 7 dana) te norfloksacin (2x400 mg, p.o. tijekom 3 dana) (Škerk i Dujnić Špoljarević, 2012).

Akutni nekomplikirani pijelonefritis akutna je upala bubrega koju prati značajna bakteriurija. Pogađa žene u premenopauzi koje nisu trudne i koje nemaju druge komplicirajuće čimbenike za infekcije mokraćnog sustava. Simptomi su sljedeći: febrilitet ($> 38^{\circ}\text{C}$), zimica, tresavica, mukla lumbalna bol često lokalizirana uz epigastrij sa širenjem u donji dio trbuha, nikturija te poliurija. Kod starijih osoba oboljelih od akutnog nekomplikiranog pijelonefritisa, najčešće su izraženi samo opći simptomi, a često je prisutna i inkontinencija urina. Što se tiče laboratorijske dijagnostike, test leukocitne esterase je pozitivan, a broj bakterija u urinu je $\geq 10^4$ po mililitru. Lijek izbora je koamoksiklav u dozi od 1 g 2 puta dnevno tijekom 10-14 dana. Koamoksiklav je dobar lijek za ovakve slučajeve zbog niske rezistencije i niske intermedijarne osjetljivosti *E. coli* u Hrvatskoj te relativno uskog spektra djelovanja i netoksičnosti. Europske smjernice za liječenje akutnoga nekomplikiranog pijelonefritisa preporučuju koamoksiklav samo u slučaju dokazane osjetljivosti gram-pozitivnog uzročnika te ga ne preporučuju kao lijek prvog izbora u empirijskoj terapiji akutnog pijelonefritisa. Alternativni izbori liječenja su cefalosporini 2. i 3. generacije tijekom 10-14 dana (cefuroksim aksetil 2x500 mg p.o., ceftibuten ili cefiksim 1x400 mg p.o.) (Škerk i Dujnić Špoljarević, 2012).

Komplicirane infekcije mokraćnog sustava pogađaju one osobe koje imaju bolesti ili stanja koja pospešuju infekciju te otežavaju izlječenje. Komplicirane infekcije su sve one koje nisu nekomplikirane što znači da komplicirani mogu biti i cistitis i pijelonefritis. Komplicirajući čimbenici su: muški rod, trudnoća, kateteri, intermitentna kateterizacija mokraćnog mjehura, funkcionalne ili anatomske abnormalnosti urotrakta, kamenci, tumori, transplantacija, bubrežna insuficijencija, kirurška intervencija na urotraktu unatrag 2 tjedna, upotreba antibiotika unatrag 3 mjeseca, šećerna bolest, imunosupresija te trajanje simptoma duže od 7 dana. Dijagnoza kompliciranih uroinfekcija se postavlja na temelju simptoma i znakova cistitisa/pijelonefritisa, laboratorijskih nalaza i prisutnosti komplicirajućih čimbenika. Vrlo je bitno znati da se kod trudnica urinokultura treba napraviti uvijek prije antimikrobne terapije te 1-2 tjedna nakon prestanka liječenja. Laboratorijski dijagnostički kriteriji za komplicirane infekcije mokraćnog sustava su: pozitivan test leukocitne esterase ili ≥ 10 L/mL te značajna bakteriurija ($\geq 10^5$ bakterija/mL – u žena, $\geq 10^4$ bakterija/mL – u muškaraca ili kateterskom urinu žena, $\geq 10^3$ bakterija/mL - za trudnice). Kod liječenja je bitno prepoznati komplicirajuće čimbenike te ih ukloniti ili staviti pod kontrolu. Antibiotik treba

postizati visoke koncentracije u urinu, tkivu bubrega i prostati. U ambulantnom liječenju kao lijek izbora se koristi koamoksiklav u dozi od 2x1 g tijekom 10-14 dana. Alternativni izbori su cefalosporini 2. ili 3. generacije tijekom 10-14 dana (cefuroksim aksetil 2x500 mg p.o., ceftibuten ili cefiksim 1x400 mg p.o.) ili ciprofloksacin 2x500 mg p.o. tijekom 7-10 dana (Škerk i Dujnić Špoljarević, 2012).

Rekurirajuće uroinfekcije su infekcije mokraćnog sustava koje se javljaju u odsutnosti jasnih komplicirajućih čimbenika u najmanje dva ili više navrata tijekom šest mjeseci ili u najmanje tri ili više navrata u tijeku godine dana, a dokazane su urinokulturom. Najčešće se radi o cistitisu, a vrlo rijetko o pijelonefritisu. Koliko je to čest problem, govori i podatak da najmanje trećina ženske populacije doživi jednu ili više uroinfekcija tijekom života, a neke žene pate i od multiplih infekcija.

Patogeneza rekurirajućih uroinfekcija ista je kao i patogeneza ostalih infekcija mokraćnog sustava. Smatra se da neke rekurirajuće infekcije žena, koje su izazvane istim sojem, potječu iz rezervoara uzročnika u epitelu mokraćnog mjehura, gdje soj perzistira nakon prethodne infekcije. Postoje dvije vrste rekurirajućih infekcija, relaps i reinfekcija. Ako se infekcija javi unutar dva tjedna nakon završetka liječenja prethodne infekcije i uzročnik je isti, onda se radi o relapsu. Za razliku od relapsa, reinfekcija se javlja više od dva tjedna nakon završetka liječenja prethodne infekcije i smatra se reinfekcijom čak i ako je uzročnik isti. Većina rekurirajućih uroinfekcija su reinfekcije. Više čimbenika predisponiraju ženu na pojavu rekurirajućih uroinfekcija, a oni se dijele na genske, biološke i čimbenike ponašanja, a ovise o dobi i funkcionalnom statusu urogenitalnog sustava.

Budući da rekurirajuće infekcije mokraćnog sustava predstavljaju velik javnozdravstveni problem te bitno utječu na kvalitetu života, puno pažnje se poklanja njihovoj profilaksi. Postoje brojne mogućnosti prevencije. To su: kontinuirana profilaktička primjena antibiotika (najčešće nitrofurantoin, trimetoprim/sulfametoksazol i cefaleksin), postkoitalna profilaksa (uzimanje jedne doze antibiotika nakon spolnog odnosa) i samoliječenje (kod pacijentica koje su spremne surađivati; samoinicijativno uzimanje antibiotika kada se pojave jasni simptomi infekcije). Profilaksa uključuje i korištenje preparata brusnice, intravaginalnu primjenu estrogena te primjenu laktobacila (Andrašević, 2012).

Asimptomatska bakteriurija se liječi prema antibiogramu osoba koji pretkazuje nastanak simptomatske infekcije mokraćnog sustava. Ne liječi se kod osoba u kojih je najčešća: djevojaka školske dobi, starijih osoba, žena u menopauzi, bolesnika sa šećernom bolešću te kod intermirentne i dugotrajne kateterizacije (Škek i sur., 2006).

2.Obrazloženje teme

Infekcije mokraćnog sustava obuhvaćaju sve infekcije lokalizirane na bilo kojem dijelu mokraćnog sustava te se ubrajaju u najčešće infekcije koje pogađaju ljude. U današnje vrijeme predstavljaju jako velik javnozdravstveni problem zbog svoje učestalosti kao i zbog rastuće bakterijske rezistencije na antibiotike. Najveći problem predstavljaju rekurirajuće infekcije mokraćnog sustava koje su definirane kao najmanje tri epizode nekomplikirane infekcije (cistitis, pijelonefritis) dokazane u urinokulturi u posljednjih 12 mjeseci ili dvije epizode u posljednjih 6 mjeseci i to samo u žena bez strukturnih i funkcionalnih abnormalnosti urotakta. Pogađaju velik broj žena, a simptomi rekurirajućih infekcija mokraćnog sustava dovode do smanjenja kvalitete života, gubitka radnih dana, povećane potrošnje antibiotika, ponavljanih liječničkih pregleda i konzultacija te povećanja medicinskih troškova.

Stoga je cilj ovog diplomskog rada bio prikupiti podatke o fitokemijskom sastavu, mehanizmu djelovanja i učinkovitosti odabranih biljnih droga u prevenciji i liječenju infekcija mokraćnog sustava. U radu su obrađeni dostupni podaci o listu medvjette, plodu američke brusnice, zeleni obične zlatnice i D-manozi.

3. Materijali i metode

Istraživanja u okviru ovoga diplomskog rada bila su teorijskog karaktera i uključivala su detaljan pregled stručne i znanstvene literature o primjeni biljnih droga *Uvae ursi folium*, *Vaccinii macrocarpi fructus*, *Solidaginis virgaureae herba* i D-manoze u prevenciji i liječenju infekcija mokraćnog sustava. Prikupljeni su podatci o pretkliničkim i kliničkim istraživanjima ovih biljnih droga, te o njihovom mehanizmu djelovanja, doziranju, kontraindikacijama i nuspojavama. Pretraživane su dostupne knjige iz područja farmakognozije i fitofarmacije te internetske baze podataka PubMed, ResearchGate, Scopus i ScienceDirect. Pri pretraživanju znanstvenih i stručnih članaka u bibliografskim bazama korištene su sljedeće ključne riječi: *Uvae ursi folium*, *Vaccinii macrocarpi fructus*, *Solidaginis virgaureae herba* i D-mannose, contraindications, posology, *in vitro* activity, *in vivo* activity, clinical study i sl. Od značaja su se pokazale internetske stranice EMEA (European Medicines Agency). Prikupljeni podaci su nakon sistematiziranja i obrade prikazani i interpretirani.

4.Rezultati i rasprava

4.1. Uvae ursi folium – list medvjette

4.1.1. Definicija droge

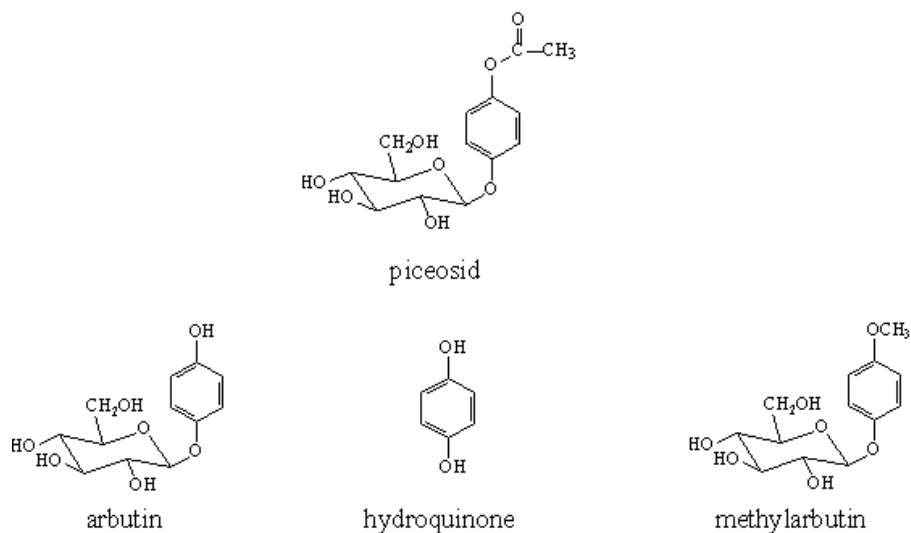
Cijeli ili fragmentirani, osušeni list *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng, Ericaceae. Osušena droga sadrži najmanje 7,0% bezvodnog arbutina ($C_{12}H_{16}O_7$; M_r 272.3) (EDQM, 2018).



Slika 1. Medvjetkin list (Wichtl, 2004.)

4.1.2. Fitokemijski sastav

Droga sadrži fenolne glikozide, većinom arbutin kojeg ima od 5 do 15% te metilarbutin u količini koja varira zavisno od geografskog podrijetla biljke (do 4%) (ESCOP, 2003). Također sadrži i male količine slobodnih hidrokinona i metilhidrokinona. Od ostalih sastavnica u medvjetkinu listu mogu se naći galna kiselina, do 20% galotanina, zatim flavonoidi – hiperozid i glikozidi kvercetina, kemferola i miricetina te triterpeni od kojih najviše ima ursolne kiseline i alkohola uvaola (ESCOP, 2003). Također je prisutan i iridoid monotropein kao i piceozid (p-hidroksi-acetofenon-glukozid) (Wichtl, 2004).



Slika 2. Fitokemijske sastavnice medvjетка lista (www.tankonyvtar.hu)

4.1.3. Mehanizam djelovanja i uporaba

Uvae ursi folium, u narodu poznata i kao „uvin čaj“, ima uroantiseptično djelovanje (antiseptično u mokraćnom sustavu) te je stoga indicirana za tretman bakterijskih infekcija urinarnog sustava, pogotovo infekcija mokraćnog mjehura.

Medvjetkinu listu se obično pripisuju antimikrobna i diuretička svojstva. Takva svojstva rezultat su prisutnosti hidrokinonskih derivata u drogi, posebice arbutina. Arbutin se u ljudskom organizmu brzo apsorbira iz tankog crijeva nakon čega se metabolizira u jetri. U jetri se arbutin prvo deglikozilira β -glukozidazom pri čemu nastaje hidrokinon, a potom se metabolizira konjugacijom s glukuronskom kiselinom ili sulfatom (Garcia de Ariba i sur., 2013). Ukupni hidrokinonski metaboliti (slobodni hidrokinon i konjugati) se izlučuju bubrezima u urin, ali neće pokazivati antibakterijsko djelovanje sve dok se ne dekonjugiraju (Schindler i sur., 2002). Istraživanja pokazuju da bakterije metaboliziraju te hidrokinonske konjugate u slobodni hidrokinon. Dekonjugacija je vjerojatno katalizirana enzimima prisutnim u bakterijskoj citoplazmi dok su slične aktivnosti u eukariotskim stanicama lokalizirane u lizosomima. Budući da bakterije koje uzrokuju infekciju urinarnog trakta očigledno sudjeluju u oslobađanju po njih toksičnog slobodnog hidrokinona, ovaj mehanizam možemo nazvati suicidalnim. Aktivni slobodni hidrokinon ima adstrigentno i antiseptičko djelovanje na mukozne membrane urinarnog sustava kada je urin alkaln, pH 8 (Siegers i sur., 2003). Istraživanja pokazuju da je suhi ekstrakt učinkovitiji od izoliranog arbutina kao adstrigent i antiseptik. To može biti zbog ostalih hidrokinonskih derivata koji su prisutni u sirovom

ekstraktu i koji će također dati hidrokinon. Štoviše, pokazano je da galna kiselina u sirovom ekstraktu može spriječiti β -glukozidazu da razgradi arbutin u gastrointestinalnom traktu prije apsorpcije čime se povećava količina hidrokinona nastalog tijekom renalne ekskrecije (Barnes i sur., 2002).

4.1.4. *In vitro* i *in vivo* istraživanja

Medvjеткин list je pokazao antimikrobnu aktivnost protiv niza mikroorganizama kao što su *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Mycobacterium smegmatis*, *Shigella sonnei* i *Shigella flexneri* (Moskalenko, 1986). Dosad provedena istraživanja pokazuju da je antimikrobna aktivnost arbutina direktno ovisna o aktivnosti β -glukozidaze infektivnih organizama. Najveću enzimsku aktivnost pokazale su *Enterobacter*, *Klebsiella* i *Streptococcus*, a najmanju *E. coli* (Jahodář i sur., 1985).

Ispitivan je antimikrobni učinak etanolnog ekstrakta vršnih dijelova biljne vrste *Arctostaphylos uva-ursi* (pripremljen maceracijom s 80%-tnim etanolom tijekom 4 dana, omjer otapala prema biljnom materijalu 5:1) i njegove etil-acetatne frakcije. Test je proveden *in vitro* na sljedeće bakterije: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis* i *Enterobacter aerogenes*. Etanolni ekstrakt medvjette kao i etil-acetatna frakcija pokazali su antimikrobni učinak protiv svih testiranih mikroorganizama, a antimikrobna aktivnost uspoređivana je s aktivnošću streptomycina (Holopainen i sur., 1988).

Metanolni ekstrakt (5 g droge macerirano u 25 ml etanola tijekom 24 sata i potom osušeno) se pokazao učinkovitim protiv *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* i *Mycobacterium phlei* pri MIK (minimalna inhibitorna koncentracija) od 4 g/L i protiv *Staphylococcus aureus* pri MIK 2 g/L dok se kloroformski ekstrakt pripremljen na isti način pokazao inaktivnim (Ríos i sur., 1987).

4.1.5. Kliničke studije

1970. godine provedeno je istraživanje u kojem je zdravim dobrovoljcima oralno dano 800 mg čistog arbutina ili infuz lista medvjette s ekvivalentnim sadržajem arbutina te je utvrđena snažna antibakterijska aktivnost protiv sojeva *S. aureus* SG511 i *E. coli*. Ta antibakterijska aktivnost primjećena je u uzorcima urina čiji je pH podešen na 8. Antibakterijska aktivnost arbutina nije uočena u uzorcima urina čiji je pH bio 6. (Frohne, 1970).

U jednom istraživanju provedenom na dobrovoljcima, skupljali su se uzorci urina nakon peroralno primjenjene doze arbutina od 0,1 g ili 1 g s ili bez primjene 0,250 g acetazolamida (da bi se postigao alkalni pH urina). Uzorci su testirani na antibakterijsku aktivnost protiv 74 soja bakterija uključujući sojeve *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* i *S. aureus*. Rezultati su uspoređivani s rezultatima 20 drugih antimikrobnih tvari. Samo su arbutin (prisutan u uzorcima urina prikupljenima nakon primjene 1 g arbutina), gentamicin i nalidiksična kiselina bili djelotvorni protiv svih testiranih sojeva. Antimikrobno djelovanje arbutina je bilo primjetno čak i nakon primjene 0,1 g arbutina te je primjećeno da je djelovanje jače u alkalnom urinu nego u onome pH 6 (Kedzia i sur., 1975).

U otvorenoj, randomiziranoj studiji kojom je ispitivana brzina metabolizma različitih formulacija ekstrakta medvjетка lista, 16 zdravih dobrovoljaca (8 muškaraca, 8 žena, prosječne dobi 25,4 godina) primili su jednokratnu oralnu dozu suhog ekstrakta medvjетка lista u obliku filmom obloženih tableta (2 tablete koje sadrže 472,5 mg suhog ekstrakta što odgovara dozi od 105 mg arbutina) ili vodenu otopinu (945 mg suhog ekstrakta medvjетка lista što odgovara 210 mg arbutina). Konjugati hidrokinona, glukuronid i sulfat, nađeni su u urinu prikupljenom tijekom prva 4 sata, no nikakvi metaboliti u urinu nisu nađeni nakon perioda od 24 sata. Metabolizam je bio brži u grupi kojoj je dana vodena otopina suhog ekstrakta medvjетка lista. Ukupna koncentracija metabolita pronađenih u urinu predstavljala je 66,7 % primjenjene doze u obliku filmom obloženih tableta te 64,8% doze primjenjene u obliku vodene otopine (Schindler i sur., 2002).

4.1.6. Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji

Droga se koristi peroralno i to u obliku hladnog infuza od osušenog lišća u dozi do 8 g na dan, što odgovara 200-840 mg arbutina na dan, podijeljenog u 2-4 doze. Uporaba pripravaka medvjette nije preporučena djeci. Potrebno je naglasiti pacijentima da uzimaju dovoljnu količinu tekućine tijekom terapije kao i da bi alkalizacija urina mogla unaprijediti terapiju (www.ema.europa.eu).

Vrijeme trajanja terapije bi trebalo biti do 7 dana, a ukoliko se u tom razdoblju simptomi ne poboljšaju ili se čak pogoršaju, potrebno se posavjetovati sa zdravstvenim djelatnikom.

Kontraindikacija za primjenu *Uvae ursi folium* su bubrežne bolesti.

Količina slobodnog hidrokinona u preparatima medvjetkinog lista trebala bi biti kontrolirana jer je hidrokinon topikalni iritans i hepatotoksin. Pokazalo se da bi oralni unos 5-12 g bio fatalan.

Kao nuspojave često se javljaju povraćanje i mučnina jer dolazi do iritacije želuca zbog visokog udjela tanina u medvjetkinu listu.

Pripravci medvjetkina lista se ne smiju koristiti u trudnoći i laktaciji. Uputno je izbjegavati ljekovite tvari i hranu koji zakiseljavaju urin jer se na taj način može smanjiti učinkovitost *Uvae ursi folium* (ESCOP, 2003).

4.2. *Vaccinii macrocarpi fructus* – plod američke brusnice

4.2.1. Definicija droge

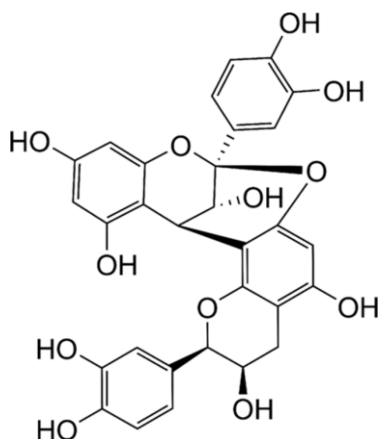
Drogu čine cijeli, zreli, svježi ili osušeni plodovi vrste *Vaccinium macrocarpon* Aiton, Ericaceae (ESCOP, 2009).



Slika 3. Plod brusnice (<http://www.inpharma.hr>)

4.2.2. Fitokemijski sastav

Plod brusnice sadrži vodu (čak 88%), organske kiseline kao što su limunska, jabučna, kina, benzojeva te vitamin C u visokim količinama – do 200 mg/kg svježih plodova brusnice. Od šećera su prisutne fruktoza i dekstroza, a od ostalih spojeva katehini, flavonoidi i triterpeni. Kemijske sastavnice odgovorne za njihov okus su iridoidni glikozidi. Najvažnije sastavnice za djelovanje brusnice su antocijanini i proantocijanidini (PAC) – tanini pronađeni samo u plodu brusnice koji djeluju kao prirodni obrambeni mehanizam biljke protiv mikroorganizama (Hisano i sur., 2012). Proantocijanidin tipa A smatra se odgovornim za profilaktičko djelovanje plodova brusnice na infekcije mokraćnog sustava (Ulrey i sur., 2014).



Slika 4. Proantocijanidin tipa A (Ulrey i sur., 2014)

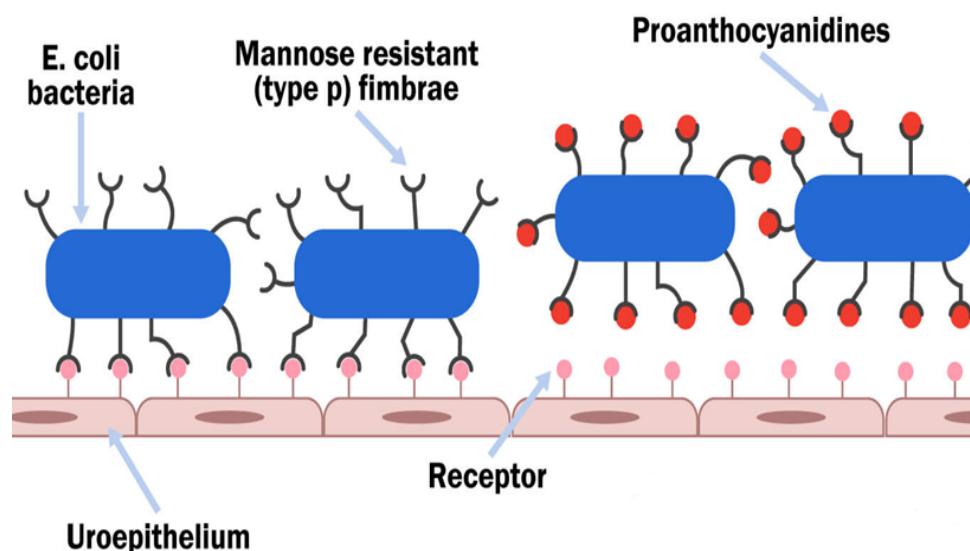
4.2.3. Mehanizam djelovanja i uporaba

Plod brusnice se primjenjuje u prevenciji infekcija urinarnog trakta (ESCOP, 2009). Sok brusnice ili drugi preparati ploda brusnice mogu smanjiti potrebu za učestalom antibiotskom terapijom u liječenju rekurentnih urinarnih infekcija i tako smanjiti nuspojave kao što je vulvovaginalna kandidijaza.

Jedan od najčešćih uzročnika urinarnih infekcija je *E. coli* čije je obilježje adherencija na tkivo domaćina (Hisano i sur., 2012). Ta adherencija na mukozne površine je incijalni događaj u patogenezi mnogih infektivnih bolesti uzrokovanih bakterijama (Sobota, 1984). Glavne proteinske strukture koje sudjeluju u ovim zbivanjima su adhezijski proteini – fimbriji (Hooton, 2001). Bakterijska adhezija se zbiva na način da se lektini, eksprimirani na površini fimbrija, vežu za komplementarne oligosaharide prisutne na tkivu domaćina. Manozosjetljivi fimbriji ili fimbriji tipa 1 vežu se na manozne epitope uroepitela. Virulentniji sojevi *E. coli*, izolirani iz pacijenata oboljelih od pijelonefritisa i rekurirajućih urinarnih infekcija, imaju i druge tipove fimbrija, većinom P-fimbrije. Ti fimbriji se vežu za disaharidne završetke glikolipida u uroepitelu i bubregu (Svanborg i Godaly, 1997; Hisano i sur., 2012).

Smatra se da brusnica djeluje na način da sprječava adheziju fimbrija tipa 1 i P-fimbrija na epitel urinarnog trakta. Utvrđeno je da je sprječavanje adhezije posredovano dvjema komponentama ploda brusnice: fruktozom koja sprječava vezanje fimbrija tipa 1 i PAC koji sprječavaju vezanje P-fimbrija. Moguće je da se fruktoza i PAC ponašaju kao receptorski analozi te kompetitivno inhibiraju vezanje *E. coli* na epitel urinarnog trakta (Gupta i sur., 2007).

Drugi mehanizam djelovanja *Vaccinii macrocarpi fructus* je mijenjanjem konformacije P-fimbrija *E. coli* što dovodi do njihova skraćivanja i smanjenja mogućnosti adhezije (Pinzon-Arango i sur., 2009).



Slika 5. Mehanizam djelovanja proantocijanidina (www.intelligentlabs.org)

4.2.4. *In vitro* i *in vivo* istraživanja

U eksperimentu provedenom 1984. dokazano je da je sok brusnice potentni inhibitor bakterijske adherencije. Ispitivano je 77 kliničkih izolata *E. coli*. Sok brusnice je inhibirao adherenciju za 75% ili više u preko 60% kliničkih izolata. U istom istraživanju, miševima je 14 dana umjesto vode apliciran fruktozom i vitaminom C obogaćen sok brusnice. U usporedbi s urinom sakupljenim od kontrolne skupine miševa, urin sakupljen od ovih miševa je inhibirao adherenciju *E. coli* na epitel urinarnog trakta za otprilike 80% (Sobota, 1984).

Zafriri i suradnici su ispitali učinak soka brusnice na adherenciju *E. coli*. Razrijeđeni sok brusnice kojem su dodani glukoza, fruktoza i vitamin C inhibirao je adherenciju bakterija izoliranih iz urina koje su ekspresirale fimbrije tipa 1 i P-fimbrije, ali nije pokazao nikakav učinak na bakterijski izolat iz stolice s ekspresijom CFA/I adhezina. Također je pretpostavljeno da je fruktoza ta koja je odgovorna za inhibiciju tipa 1 fimbrija budući da su i sok naranče i ananasa, uz sok brusnice, inhibirali adherenciju pomoću tipa 1 fimbrija, vjerojatno zbog prisutnosti fruktoze. Međutim, sokovi naranče i ananasa nisu inhibirali P-fimbrije što je znanstvenike dovelo do zaključka da sok brusnice sadrži barem dvije

komponente koje inhibiraju adherenciju uropatogena na eukariotske stanice (Zafriri i sur., 1989). Kasnije je utvrđeno da je druga komponenta, odgovorna za inhibiciju p-fimbrija, molekula velike molekularne mase koja je karakteristična samo za rod *Vaccinium* (Ofek i sur., 1996).

Istraživanja su se dalje fokusirala na identifikaciju te nepoznate sastavnice koja inhibira P-fimbrije. Howell i suradnici su 1998. otkrili da su zapravo kondenzirani tanini odnosno proantocijanidini ti koji sprječavaju vezanje uropatogenih fenotipova *E. coli* na epitel putem P-fimbrija. Ekstrakti pročišćenih proantocijanidina su pripremljeni iz brusnica pomoću reverzno-fazne i adsorpcijske kromatografije. Biološkim testovima se mjerila sposobnost kromatografskih frakcija da spriječe adherenciju uropatogenih sojeva *E. coli* putem već spomenutih P-fimbrija na izolirani epitel urinarnog trakta i utjecaj na aglutinaciju sintetičkih čestica prekrivenih oligosaharidnim receptorima. Antiadherencijska aktivnost je zamijećena pri koncentracijama od 10 do 50 µg/ml. Druge vrste roda *Vaccinium*, kao što je borovnica, su također pokazale sličan antiadherencijski učinak dok veliki broj drugih ispitivanih voćnih vrsta nije (Howell i sur., 1998).

Nakon što su proantocijanidini identificirani kao mogući inhibitori adherencije putem P-fimbrija, krenulo se u daljnja istraživanja kako bi se saznalo u kojem rasponu doza su proantocijanidini zapravo učinkoviti. Jedan od ciljeva istraživanja koje su proveli Gupta i suradnici 2007. bilo je ispitivanje učinka brusnice na stanicama urogenitalnog trakta. Ispitan je učinak brusnice u prahu (9 mg proantocijanidina po gramu brusnice u prahu) i ekstrakta proantocijanidina na adherenciju izolata *E. coli* s P-fimbrijama na dva tada nova modela, primarnoj kulturi epitelnih stanica mokraćnog mjehura i kulturni vaginalnih epitelnih stanica. Izolat *E. coli* je bio inkubiran s brusnicom u prahu ili s rastućim koncentracijama ekstrakta proantocijanidina te je adherencija mjerena prije i poslije inkubacije, odnosno izlaganja ovim preparatima. Pokazano je da je brusnica u prahu smanjila adherenciju bakterija na vaginalne epitelne stanice s 18,6 na 1,8 bakterija po stanici. Ekstrakt proantocijanidina koncentracije 50 µg/ml je smanjio adherenciju *E. coli* na epitelne stanice mokraćnog mjehura s 6,9 na 1,6 bakterija po stanici. Inhibicija adherencije *E. coli* ekstraktom proantocijanidina je bila linearna, o dozi ovisna, u rasponu koncentracija od 5 do 75 µg/ml (Gupta i sur., 2007).

U istraživanju provedenom 2015. godine cilj je bio utvrditi učinak ploda brusnice na nekomplikirane urinarne infekcije te pokazati da kiseli pH ne utječe na antiadherencijski učinak ploda brusnice. U eksperiment je bilo uključeno 96 različitih uropatogenih sojeva bakterija. Koncentrat brusnice je priređen u različitim koncentracijama s destiliranom vodom

te su pripravci stavljeni u mikrotitarske pločice na hranjivi agar. Kulture bakterija su inkubirane na 37 °C 24 sata. Otopina limunske kiseline iste pH vrijednosti kao pH brusnice je također stavljena u mikrotitarske pločice na hranjivi agar kako bi se isključio učinak kiselog pH. Pokazano je da je ukupno 35 izolata *E. coli* od ukupno 96 različitih uropatogenih sojeva bakterija bilo osjetljivo na učinak ploda brusnice te da pH vrijednost nije utjecala na antimikrobni učinak (Bukhari i sur., 2015).

4.2.5. Kliničke studije

Skupina znanstvenika se fokusirala na istraživanje učinka soka brusnice na bakteriuriju i piuriju kod starijih žena budući da je to dosta čest problem upravo kod starije ženske populacije. U randomiziranoj, dvostruko slijepoj, placebo-kontroliranoj studiji sudjelovale su 153 žene prosječne dobi od 78,5 godina. Ispitanice su pile 300 ml komercijalno dostupnog pripravka od brusnice, dok je kontrolnoj grupi dan sintetički pripremljen napitak istog okusa, istog sadržaja vitamina C i istog izgleda, ali bez sastavnica koje se obično nalaze u soku brusnice. Uzorci urina su skupljani tijekom šest mjeseci i praćena je prisutnost bakterija i bijelih krvnih stanica u njemu. Nakon 4 do 8 tjedana uzimanja preparata, zabilježeno je znatno smanjenje učestalosti bakteriurije i piurije u grupi koja je uzimala sok od brusnice (Avorn i sur., 1994).

U randomiziranoj, dvostruko-slijepoj, placebo-kontroliranoj, križnoj studiji istraživani su učinci koncentrata brusnice s ciljem sprječavanja bakteriurije i simptomatske infekcije urinarnog trakta kod djece s neurogenim mjehurom. U studiji je sudjelovalo 15 djece u dobi od 2 do 18 godina koja su pila ili koncentrirani sok brusnice ili placebo napitak tri mjeseca nakon čega su skupine zamijenile napitke. Istraživanjem je pokazano da koncentrirani sok brusnice nije imao učinak na smanjenu pojavnost bakteriurije i urinarnih infekcija kod ispitanika, odnosno nije zabilježena bitna razlika između skupine koja je uzimala koncentrirani sok brusnice i placebo. Također nije zabilježeno niti značajno zakiseljavanje urina u odnosu na placebo skupinu. Zaključak istraživanja je bio da sok brusnice nije učinkovit u prevenciji urinarnih infekcija kao ni bakteriurije kod djece s neurogenim mjehurom (Schlager i sur., 1999).

Svrha randomiziranog, dvostruko slijepog, placebo kontroliranog istraživanja provedenog 2002. godine bila je istražiti učinkovitost i isplativost primjene tableta brusnice (sadržavale su 30 puta ukoncentriraniji sok brusnice) i soka brusnice u prevenciji infekcija mokraćnog sustava kod odraslih žena. U istraživanju su sudjelovale žene u dobi od 21 do 72

godine koje su bile nasumično podijeljene u tri skupine u periodu od jedne godine. Prva skupina je uzimala placebo sok i placebo tablete (dvije tablete dnevno i 250 ml soka tri puta dnevno), druga skupina placebo sok i tablete brusnice (dvije tablete čiji sastav nije precizno definiran i 250 ml soka tri puta dnevno) dok je treća skupina za to vrijeme uzimala sok brusnice i placebo tablete (dvije tablete i 250 ml soka tri puta dnevno). Rezultati istraživanja su pokazali da su oba preparata, i sok i tablete, značajno smanjili incidenciju uroinfekata u usporedbi s placebom odnosno da su smanjili broj pacijentica koje iskuse barem jednu infekciju mokraćnog sustava u godini dana. Jako je bitno naglasiti da je potrošnja antibiotika u obje skupine bila značajno manja na godišnjoj razini u usporedbi s placebo skupinom. Zaključak studije je bio da brusnice mogu biti korisne u profilaksi urinarnih infekcija (Stothers, 2002).

U randomiziranom, dvostruko slijepom, placebom kontroliranom ispitivanju kojeg su proveli Takahashi i suradnici ispitivana je stopa recidiva kod pacijenata oboljelih od infekcija mokraćnog sustava koji su iskusili višestruke relapse bolesti. U istraživanju je sudjelovalo 300 pacijenata u dobi od 20 do 79 godina koji su nasumično podijeljeni u dvije grupe od kojih je jedna uzimala sok brusnice (grupa A), a druga je uzimala placebo napitak (grupa P). Sok korišten u istraživanju je sadržavao više od 40 mg proantocijanidina na 125 ml. Pacijenti su konzumirali 125 ml soka jednom dnevno, prije spavanja tijekom 24 tjedna. Krajnja točka ispitivanja bila je ponovna pojava bolesti. U skupini pacijentica starijih od 50 godina uočena je značajna razlika u incidenciji relapsa među grupama A i P. Relaps infekcije je opažen kod 16 od 55 pacijentica (29,1%) u grupi A, dok je u grupi P taj broj bio značajno veći, čak je 31 od 63 pacijentice (49,2%) doživjela relaps bolesti. U ovoj studiji je zaključeno da se sok brusnice može koristiti kao profilaksa infekcija mokraćnog sustava u određenoj dobnoj skupini žena (Takahashi i sur., 2012).

4.2.6. Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji

Prema ESCOP-ovoj monografiji dnevna doza tekućih preparata brusnice trebala bi biti između 300 i 750 ml, uz zahtjev da sadrži 25-100% soka brusnice. Navedena dnevna doza se treba podijeliti u 2-3 doze kroz dan. Ukoliko se koriste koncentrirani tekući preparati ili suhi ekstrakt primjenjuju se 2 puta dnevno u pojedinačnoj dozi od 200 do 500 mg. Za djecu u dobi 2-18 godina preporuča se dnevna doza od 15 ml soka brusnice po kilogramu tjelesne težine.

Nakon objave prvog kliničkog istraživanja u kojoj se koristio sok brusnice, uslijedio je niz istraživanja koja su ponekad davala kontradiktorne rezultate. Razlog tomu je što preparati

koji su korišteni nisu bili standardizirani na istu količinu proantocijanidina. Postoje više metoda određivanja karakterističnih spojeva, proantocijanidina tipa A i tipa B. Smatra se da je sok korišten u prvoj kliničkoj studiji sadržavao najmanje (ili točno) 36 mg proantocijanidina, očekivalo se da će i drugi korišteni preparati u ostalim kliničkim studijama sadržavati istu količinu. No to nije bilo tako jer kako je već ranije spomenuto, postoji više metoda određivanja oligomernih procijanidina čiji se rezultati višestruko razlikuju. Danas je ipak općeprihvaćena metoda BL-DMAC (Brunswick Laboratories 4-dimetil-amino-cinanamaldehyd). Ostale metode (Bate Smith metoda, Ph. Eur. metoda, HPLC metoda) pokazuju rezultate koji variraju 3-10 puta. (www.inpharma.hr)

Prema smjernicama Europske udruge za urologiju, minimalna dnevna doza preparata brusnice koji se koriste za profilaksu urinarnih infekcija mora biti standardizirana na 36 mg proantocijanidina A (www.uroweb.org/guidelines).

Nisu zabilježene nikakve ozbiljnije nuspojave, iako postoji mogućnost pojave dijareje ili blagih gastrointestinalnih smetnji ako se konzumiraju velike količine preparata brusnice (3-4 L dnevno). Neki autori tvrde da konzumacija prevelikih količina preparata brusnice može rezultirati formacijom kristala mokraćne kiseline ili kalcijeva oksalata. Treba uzeti u obzir i dijabetes, ako pacijent boluje od njega, te se u takvim slučajevima preporuča uzimati nezaslađeni sok brusnice. Također je navedeno da bi se brusnica trebala koristiti s oprezom kod pacijenata s benignom hiperplazijom prostate ili urinarnom opstrukcijom zato što postoji mogućnost da brusnica može povećati eliminaciju lijekova koji se izlučuju urinom. (Barnes i sur., 2002).

Zabilježeni su slučajevi interakcije brusnica s varfarinom, pri čemu je moguće pojačano djelovanje varfarina (ESCOP, 2009). Međutim, sustavnim pregledom dostupne literature nisu nađeni podaci koji bi potkrijepili takve tvrdnje niti potvrdili kliničku značajnost takve interakcije (Pham i sur., 2007). Provedeno je istraživanje u kojem se pokušalo utvrditi kakav je utjecaj brusnice na CYP 2C9, enzim odgovoran za metabolizam aktivnog S-enantiomera varfarina, no nikakav farmakokinetički učinak na taj enzim kod zdravih dobrovoljaca nije utvrđen (Greenblatt i sur., 2006).

4.3. *Solidaginis virgaureae herba* – zelen obične zlatnice

4.3.1. Definicija droge

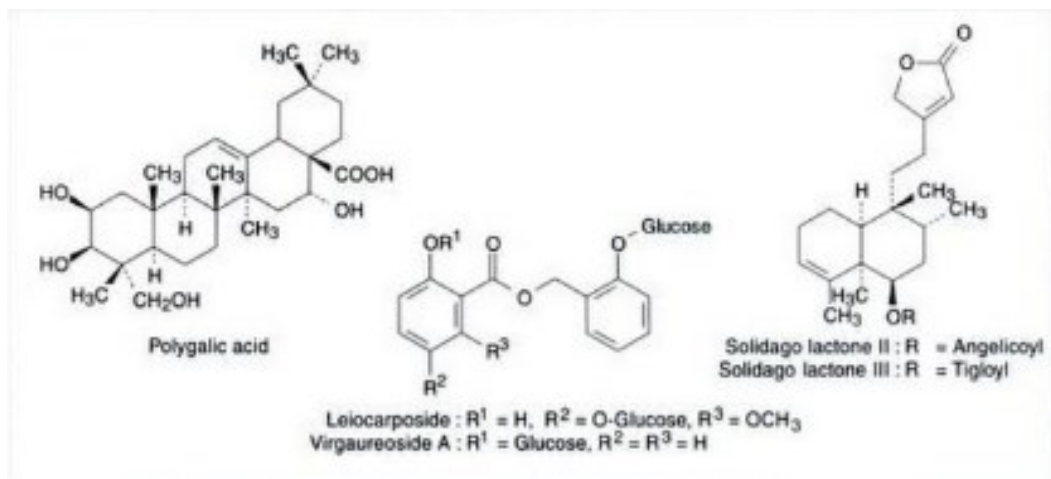
Solidaginis virgaureae herba se sastoji od cijelih ili sasječenih, osušenih i u doba cvatnje skupljenih nadzemnih dijelova vrste *Solidago virgaurea* L., Asteraceae. Osušena droga sadrži najmanje 0,5% i najviše 1,5% flavonoida, izraženih kao hiperozid ($C_{21}H_{20}O_{12}$; M_r 464.4) (EDQM, 2018).



Slika 6. Zelen obične zlatnice (Wichtl, 2004.)

4.3.2. Fitokemijski sastav

Zelen zlatnice sadrži flavonoide, uglavnom glikozide kvercetina i kemferola. Najzastupljeniji flavonoidi su rutin i nikotiflorin. Za razliku od vrsta *Solidago gigantea* i *Solidago canadensis* ne sadrži kvercitrin, što se koristi u identifikaciji droge. Također sadrži preko 30 virgaurea i solidago-saponina. U zeleni zlatnice nalazimo karakteristične 3,28 – bisdezmozide. Droga također sadrži fenolne glikozide (0,2-1%), od kojih su značajni leiokarpozid (diglukozid salicil-benzoata) i virgaureozid A (diglukozid salikoil-saligenina), te mono- i seskviterpene (γ -kadinen, α - i β -pinen, mircen, limonen) (Wichtl, 2004).



Slika 7. Fitokemijske sastavnice zeleni obične zlatnice (Wichtl, 2004)

4.3.3. Mehanizam djelovanja i uporaba

Iako je danas pomalo zaboravljena, zelen obične zlatnice prvenstveno se koristi zbog svog diuretskog učinka pored kojeg posjeduje i antiinflamatorni, analgetski, imunomodulatorni, antifungalni, antioksidativni te spazmolitički učinak. ESCOP navodi sljedeće indikacije: irigacija urinarnog trakta, poglavito u slučajevima upale i urolitijaze te kao adjuvans u terapiji bakterijskih infekcija urinarnog sustava (ESCOP, 2003). Pretpostavlja se da diuretski učinak potječe od leiokarpozida što je i dokazano animalnim studijama. Za razliku od leiokarpozida, leiokarpinska kiselina koja je sastavni dio leiokarpozidne molekule, nije pokazala diuretski učinak (Budzianowski, 1999). Zanimljivo je spomenuti da je prisutnost flavonoida i saponina smanjila diuretski učinak samog leiokarpozida (Schilcher i sur., 1989). Osim diuretskog djelovanja, obična zlatnica je dragocjena i zbog svog spazmolitičkog i protuupalnog učinka koji mogu doprinijeti u terapiji infekcija mokraćnog sustava. Spazmolitički učinak osigurava opuštanje glatkih mišića mokraćnih putova što za posljedicu ima olakšano i potpunije mokrenje. Protuupalnim djelovanjem ublažava upalne procese i smanjuje iritaciju sluznice mokraćnog sustava.

4.3.4. *In vitro* i *in vivo* istraživanja

Schilcher i Rau su proveli studiju na štakorima u kojoj je životinjama oralnim putem primijenjen vodeni infuz obične zlatnice koja je imala sadržaj flavonoida od 0,3%. Doze su bile 4,64 i 10 mL/kg tjelesne mase štakora. Uočeno je da je došlo do značajnog povećanja obima diureze i ekskrecije natrijevih, kalijevih i kloridnih iona. Međutim, povećanje izlučivanja spomenutih iona se pripisalo činjenici da su sami ekstrakti sadržavali određenu količinu istih tih elektrolita. Porast volumena urina bio je izraženiji kada je štakorima primijenjena niža doza (Schilcher i Rau, 1988).

Izolirani leiokarpozid je pokazao diuretski učinak nakon peroralne primjene štakorima u dozi od 25 mL/kg tjelesne mase. Taj diuretski učinak je bio za 20% manji od diuretskog učinka furosemida u dozi od 6 mg/kg. Nije uočeno da je imao utjecaj na ekskreciju minerala (Chodera i sur., 1986). Aktivnost leiokarpozida je bila za 30% veća kada je primijenjen intraperitonealno nego kad je primijenjen peroralno. Učinak je bio odgođen te je započeo 5 sati nakon primjene i potom trajao 24 sata (Chodera i sur., 1985).

Chodera i suradnici su nastavili svoja istraživanja leiokarpozida te su eksperimentalno inducirali nastanak bubrežnih kamenaca kod štakora i na tom modelu ispitali učinak leiokarpozida. Pokazalo se da leiokarpozid ima inhibitorni učinak na rast bubrežnih kamenaca nakon primjene u dozi od 25 mg/kg tjelesne mase štakora tijekom 6 tjedana (Chodera i sur., 1988).

Flavonoidna frakcija *Solidago virgaurea* L. također je pokazala diuretski učinak u istraživanju koje je provedeno na štakorima. Volumen izlučenog urina je povećan za 88% tijekom perioda od 24 sata. Uočeno je, također, i smanjeno izlučivanje kalija i natrija te pojačano izlučivanje kloridnih iona (Chodera i sur., 1991).

U jednoj studiji je uspoređivano diuretsko djelovanje raznih frakcija ekstrakta *Solidaginis virgaureae herba* (metanol/voda, 70:30) na Sprague Dawley štakorima kojih je po eksperimentalnoj grupi bilo od 14 do 16. Frakcija hidroksicimetne kiseline (100 mg/kg *per os*) značajno je povećala količinu izlučenog natrija i kalija u urinu, a učinak je bio jednak učinku furosemida u dozi od 10 mg/kg. Nije bilo učinka na količinu izlučenog kalcija ni u grupi koja je primala ekstrakt ni u onoj koja je primala furosemid. Flavonoidna frakcija (100 mg/kg) nije imala učinka ni na volumen urina ni na ekskreciju elektrolita, no značajan utjecaj na povećanje volumena urina i ekskreciju natrijevih i kalijevih iona pokazala je saponinska frakcija (25 mg/kg – 100 mg/kg). Taj učinak je bio usporediv s učinkom furosemida u dozi od 10 mg/kg. (Kaspers i sur., 1998.)

Ispitan je učinak vodenog ekstrakta lista obične zlatnice na kontrakciju mjehura. Ipitivanje je rađeno na tkivu mjehura čovjeka te na mjehuru štakora. Ustanovljeno je da vodeni ekstrakt lista obične zlatnice inhibira kontrakciju mjehura štakora i čovjeka posredovanu muskarinskim M2 i M3 receptorima (Borchert i sur., 2004).

4.3.5. Kliničke studije

U dvostruko slijepoj, križnoj studiji u kojoj je sudjelovalo 22 zdravih dobrovoljaca, primijenjena je jednokratna doza od 100 kapi tinkture *Solidaginis virgaureae herba* (65% etanola, 0,57 g zeleni po g tinkture) što je uzrokovalo povećanje volumena urina za 30% u usporedbi s placebo (Brühwiler i sur., 1992).

U otvorenoj, 'post-marketing' studiji sudjelovalo je 745 pacijentica (12-94 godine) s disurijom različitog podrijetla te su tretirane 3 puta dnevno s 380 mg suhog ekstrakta obične zlatnice. Nakon 2 tjedna terapije, kod većine pacijentica smanjila se učestalost mokrenja kao i drugi simptomi cistitisa (Schmitt, 1996).

1999. provedena je još jedna otvorena, 'post-marketing' studija u kojoj je sudjelovalo 1487 pacijenata koji su bili podijeljeni u podgrupe s obzirom na poteškoće koje su imali. Postojale su tri grupe: pacijenti s rekurirajućim urinarnim infekcijama (n=555), pacijenti s iritabilnim mjehurom (n=512) te pacijenti s bubrežnim ili mokraćnim kamencima (n=427). Ispitivana je efikasnost suhog ekstrakta obične zlatnice koji je pacijentima davan u dozi od 424,8 mg 3 puta dnevno tijekom 4 tjedna. Kod pacijenata koji su patili od urinarne infekcije, ekstrakt je bio jednako učinkovit sam kao i kad je kombiniran s inicijalnim antibiotskim tretmanom. Kod pacijenata s kroničnim ili rekurirajućim simptomima iritabilnog mjehura došlo je do smanjenja inkontinencije. U grupi pacijenata koji su imali bubrežne ili mokraćne kamence njih 81% je osjetilo olakšanje po pitanju pritiska u području mjehura dok je 98% uočilo poboljšanje po pitanju grčeva koje su osjećali. Opće stanje pod terapijom *Solidaginis virgaureae herba* je ocijenjeno od strane liječnika kao 'bolje ili puno bolje' u 79% slučajeva (Laszig i sur., 1999).

4.3.6. Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji

Uobičajena doza iznosi 3-4 g suhe droge koja se spravlja kao infuz u 150 ml vode te se svježe pripravljen uzima 2-3 puta dnevno. Kod djece su doze sljedeće:

- djeca 1-4 g.: 1-2 g suhe droge na dan
- djeca 4-10 g.: 2-5 g suhe droge na dan

- djeca 10-16 g.: 4-8 g suhe droge na dan (ESCOP, 2003).

Europska agencija za lijekove preporuča primjenu 0,5-2 mL tekućeg ekstrakta ili tinkture 3 puta dnevno, dok je doza suhog ekstrakta 350-450 mg tri puta dnevno. Prema ovim smjernicama zelen obične zlatnice se preporučuje djeci mlađoj od 12 godina (www.ema.com). Zelen obične zlatnice kontraindicirana je kod pacijenata s edemom uzrokovanim srčanim bolestima ili bolestima bubrega. Poseban oprez je potreban kod pacijenata koji su alergični na biljne vrste iz porodice Asteraceae.

Ne preporuča se primjena za vrijeme trudnoće i dojenja.

Postoje razlike u smjernicama za duljinu primjene zeleni zlatnice. Dok prema ESCOP-ovim monografijama ne postoji ograničenje, Europska agencija za lijekove savjetuje upotrebu u periodu od 2-4 tjedna (ESCOP, 2003, www.ema.com).

4.4. D-manoza

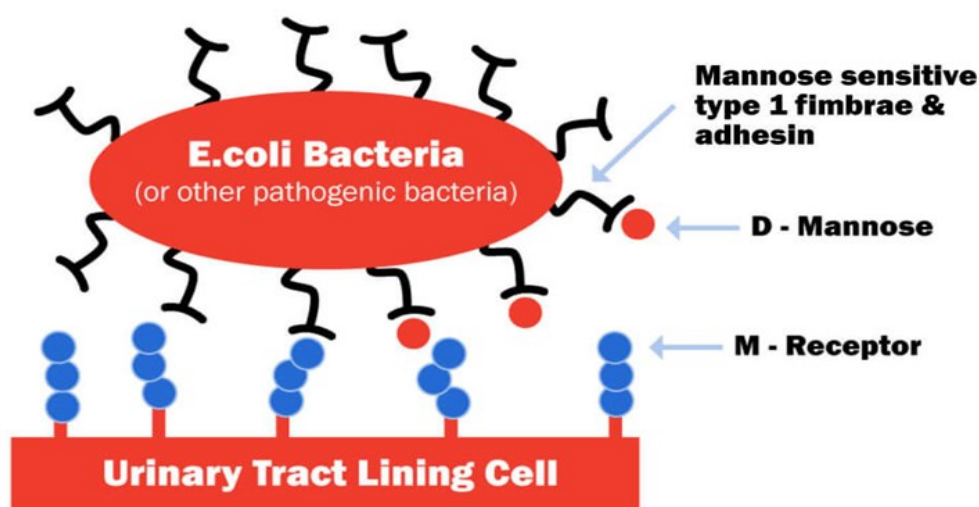
4.4.1. Kemijske i fizikalne osobine

D-manoza je ugljikohidrat, jednostavni heksozni šećer, monosaharid molekulske formule $C_6H_{12}O_6$, izomer glukoze. Izolirana je iz vrste *Fraxinus ornus*, odnosno iz mane (sok koji curi iz zarezane kore crnog jasena) te drugih srodnih vrsta. D-manoza se brzo apsorbira i u vremenskom periodu od 30 minuta dolazi do perifernih organa te se potom izlučuje putem urina (Domenici i sur., 2016; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Poznato je da je D-manoza inače prisutna i u našem organizmu te da ima bitnu ulogu u različitim procesima, a pogotovo u procesu glikozilacije nekih proteina (Altarac i Papeš, 2014). D-manoza je bijeli kristalinični prah topljiv u vodi, molekularne mase 180,16 g/mol. Temperatura tališta je 132 °C. U prirodi postoji α - i β - oblik D-manoze koji se razlikuju po okusu. α -D-manoza je po okusu slatki šećer, dok β -D-manoza ima gorak okus. Čista otopina α -D-manoze slatki okus gubi stajanjem jer se pretvara u β -anomer, rotacijom oko ugljikovog atoma 1 i 2 i time nastaje smjesa anomera (Stewart, 1971). D-manoza čini glavnu ugljikohidratnu komponentu polisaharida mananskog tipa koji biljkama služe kao izvor energije. Ti polisaharidi uključuju spojeve kao što su 1,4- β -D-manani, D-galakoto-D-manani, D-gluko-D-manani i D-galakto-D-gluko-D-manani. Slobodna D-manoza se može naći u nekim biljkama u manjim količinama. Nalazi se u voću kao što su brusnice, jabuke, kruške, borovnice, naranče, ananas; drveću kao što je bukva, breza, crni jasen, palma te povrću kao što su mahunarke, kukuruz i krumpir (Herold i Lewis, 1977).

4.4.2. Mehanizam djelovanja i uporaba

Kao što je već spomenuto ranije, proces bakterijske adhezije na površinu stanica domaćina je presudan korak za početak skoro svake infekcije. To se događa na način da se bakterije specifičnim lektinima vežu za šećere kao što su D-manoza ili L-fukoza koji su eksprimirani na stanicama domaćina (Domenici i sur., 2016). *In vitro* eksperimenti su pokazali da D-manoza može vezati i na taj način blokirati FimH adhezin koji se nalazi na vrhu fimbrija tipa 1 enteričkih bakterija. Za vrijeme bakterijske kolonizacije, FimH se veže za glikoproteinske receptore koji sadrže ugljikohidrate na epitelu urinarnog trakta. Budući da je strukturom slična veznom mjestu prije spomenutih glikoproteinskih receptora, D-manoza se zapravo ponaša kao kompetitivni inhibitor bakterijske adherencije. Ako je ima u dovoljnoj

koncentraciji u urinu, dolazi do saturacije FimH adhezina i sprječavanja vezanja bakterija na epitel urinarnog trakta (Altarac i Papeš, 2014). Budući da vežu D-manozu umjesto da se vežu na receptore epitela, bakterije su zarobljene u urinarnom toku i posljedično 'isprane' mokraćom (Domenici i sur., 2016). Vrlo je bitno napomenuti da antiadhezivni efekt D-manoze uvelike ovisi o njoj konfiguraciji. Samo D-izomer i α -anomer (α -D-manoza) mogu blokirati vezanje bakterija putem FimH adhezina dok će ostali imati slab ili nikakav učinak (Bouckaert i sur., 2005).



Slika 8. Mehanizam djelovanja D-manoze (www.intelligentlabs.org)

4.4.3. *In vitro* i *in vivo* istraživanja

U studiji provedenoj 1980. godine ispitivan je učinak nekih šećera na adherenciju *E. coli* na kulturu uroepitelnih stanica zdravih žena. D-manoza, D-manitol, α -metil-D-manozid i manani iz kvasaca u 2,5% koncentraciji su kompletno inhibirali prijanjanje spomenutih bakterija dok su ostali ispitivani šećeri (D-fruktoza, D-liksoza, D-arabinoza, D-glicerinaldehid) u istoj koncentraciji to učinili samo djelomično. Smanjivanjem koncentracije šećera koji su pokazali kompletni inhibitorni učinak došlo je do pojačane adherencije bakterija na uroepitel (Schaeffer i sur., 1980).

1983. je provedena studija na odraslim mužjacima Sprague-Dawley štakora kako bi se ispitao učinak D-manoze i D-glukoze na bakteriuriju uzrokovanu *E. coli* s manozosjetljivim adhezинима. Pripremljeni su inokulati bakterija (10^5 , 10^7 ili 10^8 bakterija u 0,1 mL fiziološke otopine ili 2,5% ili 10% D-manozi ili D-glukozi) te su injektirani u mjehur, a urin je analiziran

nakon 1, 3, 5, 7 ili 9 dana. Razine bakteriurije nakon prvog i petog dana kod štakora kojima su injektirani inokulati bakterija s D-manozom (10^5 bakterija u 10% D-manози) su bile znatno niže nego kod kontrolnih grupa, a postoci štakora s manje od 100 bakterija/mL urina su bili najviši prvi i treći dan. Nakon petog i sedmog dana, u štakora koji su inokulirani s 10^7 bakterija u 10% D-manози, razine bakteriurije bile su značajno niže nego kod kontrolnih skupina, a postotak ispitivanih životinja s manje od 100 bakterija/mL urina je bio najviši sedmi dan. D-glukoza je pokazala učinak samo kod inokulata s 10% D-glukozom i 10^5 bakterija. Ova studija dovela do zaključka da oba saharida mogu značajno smanjiti intenzitet bakteriurije za samo jedan dan, ali da im učinak ovisi kako o koncentraciji samih saharida, tako i o broju bakterija (Michaels i sur., 1983).

Iako nije provedeno na tkivu urinarnog trakta, bitno je spomenuti istraživanje u kojem se ispitalo utječu li određeni šećeri na adheziju *Streptococcus zooepidemicus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli* na konjski endometrijski epitel budući da je infekcija tim bakterijama jedan od glavnih uzroka sterilnosti kod kobila. U studiji su ispitivani D-manoza, N-acetil-D-glukozamin, D-glukoza, galaktoza i N-acetil-neuraminska kiselina. Došlo se do zaključka da samo D-manoza i N-acetil-D-glukozamin inhibiraju adheziju *E. coli* i *P. aeruginosa* dok se samo D-manoza pokazala učinkovitom u inhibiciji adhezije *S. zooepidemicus*. Ostali šećeri nisu pokazali nikakav učinak (King i sur., 2000).

4.4.4. Kliničke studije

U bolnici u Zaboku provedeno je 2013. godine randomizirano kliničko ispitivanje čiji je cilj bio utvrditi može li D-manoza zaista imati ulogu u profilaksi rekurirajućih urinarnih infekcija. Pacijentice oboljele od akutnog cistitisa primile su antibiotsku terapiju (500 mg ciprofloksacina 2 puta dnevno tijekom sedam dana) nakon čega su nasumično raspoređene u tri grupe. U studiji je sudjelovalo 308 žena s poviješću rekurirajućih urinarnih infekcija i bez ozbiljnijih komorbiditeta. Prvu grupu su činile 103 žene koje su kao profilaksu primale 2 g D-manoze u 200 ml vode tijekom šest mjeseci. U drugoj grupi 103 ispitanice su dnevno uzimale 50 mg nitrofurantoina tijekom istog razdoblja dok treća grupa (102 žene) nije uzimala nikakav preventivni preparat. Ukupno je 98 pacijentica odnosno 31,8% iskusilo rekurentnu infekciju i to: njih 15 (14,6%) u grupi s D-manozom, 21 (20,4%) u grupi koja je uzimala nitrofurantoin te najviše u trećoj grupi – 62 pacijentice (60,8%) što pokazuje da je stopa ponovljenih uroinfekcija najviša u grupi koja nije primala nikakvu profilaksu. U prve dvije grupe ukupno je 17,9% pacijentica prijavilo nuspojave, no one su bile blage i nisu predstavljale zapreku za

nastavak terapije. Pacijentice koje su uzimale D-manozu su iskusile značajno blaže nuspojave. Zaključak kliničkog ispitivanja je da je D-manozu značajno smanjila rizik od pojave rekurentnih urinarnih infekcija, ali nije pokazala zamjetno bolji učinak od nitrofurantoina. Znanstvenici su suglasni u mišljenju da je potrebno provesti još istraživanja kako bi se utvrdilo može li D-manozu pronaći svoje mjesto u kliničkoj profilaksi urinarnih infekcija (Kranjčec i sur., 2014).

Zbog potrebe za dodatnim kliničkim dokazima o učinkovitosti D-manoze u profilaksi urinarnih infekcija, 2014. je provedeno još jedno kliničko istraživanje. U ovoj randomiziranoj, križnoj studiji sudjelovalo je 60 pacijentica između 22 i 54 godine koje su imale simptomatsku urinarnu infekciju te su preboljele 3 ili više infekcija urinarnog trakta u prethodnih 12 mjeseci. Jedna skupina pacijentica bila je na terapiji koja je uključivala trimetoprim (160 mg) i sulfometoksazol (800 mg) dva puta dnevno kroz 5 dana a zatim 1 put dnevno prije spavanja u periodu kroz 23 tjedna. Druga skupina pacijentica je primala 1 g D-manoze 3 puta dnevno tijekom dva tjedna nakon čega se prešlo na režim od 1 g 2 puta dnevno kroz 22 tjedna. Primarna krajnja točka istraživanja bila je procjena proteklog vremena do pojave ponovne infekcije. Rezultati koji su dobiveni bili su sljedeći: prosječno vrijeme do pojave rekurentne infekcije u grupi koja je primala antibiotsku profilaksu bilo je 52,7 dana dok je u grupi koja je uzimala D-manozu do ponovne pojave uroinfekcije proteklo 200 dana. Došlo se do zaključka da je D-manozu siguran i učinkovit način prevencije rekurentnih urinarnih infekcija kod žena (Porru i sur., 2014).

Na Sveučilištu u Rimu je provedena klinička studija kojoj je, kao i prethodnim studijama, bio cilj ispitati učinkovitost i sigurnost D-manoze u terapiji akutnog nekomplikiranog cistitisa i profilaksi rekurentnih urinarnih infekcija. Pacijentice koje su sudjelovale u ispitivanju su imale preboljen akutni cistitis i povijest rekurentnih uroinfekcija. Sve pacijentice su tijekom istraživanja ispunjavale posebni upitnik pod nazivom UTISA (Urinary Tract Infection Symptoms Assessment) koji se sastojao od 14 stavki odnosno pitanja povezanih sa simptomima uroinfekcije. Pacijentice uključene u istraživanje su bile dobi između 18 i 65 godina. D-manozu (Mannocist®, preparat s 1,5 g D-manoze) je bila primjenjivana dva puta dnevno tijekom tri dana, a potom jednom dnevno tijekom deset dana. Nakon te početne terapije, pacijentice su nasumično podijeljene u dvije grupe od kojih je jedna grupa primala profilaksu, dok druga nije. Primjena D-manoze je pokazala značajno poboljšanje u simptomima akutnog cistitisa i poboljšanje kvalitete života za vrijeme trajanja infekcije. Što se tiče profilakse, postotak rekurentnih infekcija kod pacijentica tretiranih D-manozom je bio

4,5% dok je u grupi koja nije primala nikakvu profilaksu taj postotak bio 33,3%. Zaključak studije je da D-manoza može biti učinkovita u terapiji akutnog cistitisa i također vrlo uspješna profilaksa rekurirajućih uroinfekcija. No, daljnje studije će biti potrebne kako bi se donio konačan zaključak i kako bi se D-manoza eventualno uvela u kliničku praksu (Domenici i sur., 2016).

4.4.5. Doziranje, kontraindikacije, nuspojave i primjena u trudnoći i laktaciji

Doza od 2 g D-manoze na dan danas se smatra uobičajenom dozom kojom se postiže dobra profilaksa uroinfekcija.

Nuspojave se mogu javiti u obliku gastrointestinalnih smetnji, a češće su kod prekoračenja preporučenih dnevnih doza. Prilikom primjene doze više od 0,2 g/kg tjelesne težine javljaju se izraženije probavne smetnje (Kranjčec i sur., 2014).

Dokazana je teratogenost D-manoze na fetusu štakora pa je s oprezom treba primjenjivati kod trudnica i dojilja (Buchanan i sur. 1985).

5. Zaključak

U ovom radu dan je pregled bioaktivnih sastavnica, *in vitro*, *in vivo* i kliničkih istraživanja odabranih biljnih droga s primjenom u prevenciji i liječenju infekcija mokraćnog sustava. Obradene su sljedeće droge: *Uvae ursi folium*, *Vaccinii macrocarpi fructus*, *Solidaginis virgaureae herba* te D-manoza, koja nije biljna droga, ali se dobiva izolacijom iz biljnog materijala..

Uvae ursi folium je droga koja se desetljećima koristi u narodnoj medicini, a danas postoje brojni registrirani pripravci koji sadrže upravo medvjedkin list. Njena učinkovitost i sigurnost je poznata zbog dugotrajne primjene i upravo zbog toga o njoj danas nema mnogo kliničkih istraživanja. Iako kliničkih studija nedostaje, i dalje je većini pacijentica prvi izbor kod samoliječenja infekcija mokraćnog trakta.

Pripravci ploda brusnice su danas u širokoj primjeni kao profilaksa infekcija mokraćnog sustava. Upotreba ovih pripravaka sve se više preporučuje, s jedne strane zbog rastuće rezistencije uropatogena na najčešće primjenjivane antibiotike, a s druge strane zbog bolje proučenoga glavnog mehanizma djelovanja. Iako postoji problem u standardizaciji ovih pripravaka i još uvijek manjka farmakoloških podataka, postoje dokazi o djelotvornosti brusnice te se ona može preporučiti kao prevencija rekurirajućih infekcija mokraćnog sustava.

Zlatnica, iako pomalo zaboravljena biljka u našim krajevima, može naći svoje mjesto u terapiji uroinfekcija zbog svog diuretičkog i protuupalnog djelovanja. Još uvijek manjka kliničkih istraživanja koja bi dokazala ovakva djelovanja, ali obzirom na dugotrajnu primjenu, zelen zlatnice se može smatrati sigurnom i učinkovitom adjuvantnom terapijom u liječenju uroinfekcija.

D-manoza, jednostavni heksozni šećer izoliran iz nekih biljnih vrsta, jedna je od korištenijih OTC pripravaka u samoliječenju uroinfekcija. Postoji nekoliko kliničkih istraživanja koja potvrđuju njenu učinkovitost i sigurnost te se zato pacijentima uvijek može ponuditi kao dobra opcija za prevenciju infekcija mokraćnog sustava.

6.Literatura

Altarac S, Papeš D. Use of D-mannose in prophylaxis of recurrent urinary tract infections (UTIs) in women. *BJU Int.* 2014, 113, 9-10.

Andrašević S. Rekurirajuće infekcije mokraćnog sustava. *Medicus*, 2012, 21, 29-35.

Avorn J, Monane M, Gurwitz J, Glynn RJ, Choodnovskiy I, Lipsitz LA. Reduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry juice. *JAMA* 1994, 271, 751-754.

Barnes J, Anderson L, Phillipson D. Herbal Medicines: A guide for healthcare professionals. London, Pharmaceutical Press, 2002, str. 164-168, 465-467, 577-579.

Borchert VE, Czyborra P, Fetscher C, Goepel M, Michel MC. Extracts from *Rhois aromatica* and *Solidaginis virgaurea* inhibit rat and human bladder contraction. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2004, 369, 281-286.

Bouckaert J, Berglund J, Schembri M, De Genst E, Cools L, Wuhrer M, Hung CS, Pinkner J, Slättegård R, Zavialov A, Choudhury D, Langermann S, Hultgren SJ, Wyns L, Klemm P, Oscarson S, Knight SD, De Greve H. Receptor binding studies disclose a novel class of high-affinity inhibitors of the Escherichia coli FimH adhesin. *Mol Microbiol* 2005, 55, 441-455.

Brühwiler K, Frater-Schröder M, Kalbermatten R, Tobler M. Research project on Solidago virgaurea tincture. U: Abstracts of 4th and International Congress on Phytotherapy. München, 1992, str. 10-13.

Buchanan T, Freinkel N, Lewis NJ, Metzger BE, Akazava S. Fuel-mediated teratogenesis. Use of D-mannose to modify organogenesis in the rat embryo in vivo. *Clin Invest* 1985, 75, 1927-1934.

Budzianowski J. Die Urologische Wirkung des Leiocarposids. *Drogenreport* 1999, 12, 20-21.

Bukhari S, Chiragh S, Tariq S, Alam MA, Wazir MS, Suleman M. *In vitro* activity of *Vaccinium macrocarpon* (cranberry) on urinary tract pathogens in uncomplicated urinary tract infection. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2015, 27, 660-663

Chodera A, Dabrowska K, Bobkiewicz-Kozłowska T, Tkaczyk J, Skrzypczak L, Budzianowski J. Further studies on diuretic activity of leiocarposide. *Acta Polon Pharm*, 1988, 45, 181-186.

Chodera A, Dabrowska K, Senczuk M, Wasik-Olejniak A, Skrzypczak L, Budzianowski J, Ellnain-Wojtaszek M. Studies on the diuretic action of the glucoside ester from the *Solidago* L. genus. *Acta Polon Pharm*, 1985, 42, 199-204.

Chodera A, Dabrowska K, Skrzypczak L, Budzianowski J. Further studies on diuretic activity of leiocarposide. *Acta Polon Pharm*, 1986, 43, 499-503.

Chodera A, Dabrowska K, Sloderbach A, Skrzypczak L, Budzianowski J. Effect of leiocarposide on experimental urinary calculi in rats. *Acta Polon Pharm*, 1991, 48, 35-37.

D-mannose, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, pristupljeno 29. 04. 2018.

Domenici L, Monti M, Bracchi C, Giorgini M, Colagiovanni V, Muzii L, Benedetti Panici P. D-mannose: a promising support for acute urinary tract infections in women. A pilot study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016, 20, 2920-2925.

EAU Guidelines on Urological Infections 2013, <http://uroweb.org/guidelines/>, pristupljeno 01.06.2018.

EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). European Pharmacopoeia, 9. izd., Strasbourg: Council of Europe, 2018, str. 1264-1266, 1376-1378.

EMA/HMPC (European Medicines Agency/Committee on Herbal Medicinal Products). EMA/HMPC/ 750269/2016 - European Union herbal monograph on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., folium. <http://www.ema.europa.eu> , pristupljeno 18. 04. 2018.

EMA/HMPC (European Medicines Agency/Committee on Herbal Medicinal Products). EMA/HMPC/ 285758/2007- European Union herbal monograph on *Solidago virgaurea* L., herba folium. <http://www.ema.europa.eu> , pristupljeno 10. 05. 2018.

ESCOP Monographs 2, European Scientific Cooperative on Phytotherapy, *Solidaginis virgaureae herba* – European Golden Rod. Stuttgart, Thieme, 2003, str. 487-491.

ESCOP Monographs 2, European Scientific Cooperative on Phytotherapy. *Uvae ursi folium* – Bearberry leaf. Stuttgart, Thieme, 2003, str. 536-538.

ESCOP Monographs, European Scientific Cooperative on Phytotherapy. *Vaccinii macrocarpi fructus* – Cranberry. Stuttgart, Thieme, 2009, str. 255-267.

Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. 2015, 13(5), 269-284.

Foxman, B. Urinary tract infections. U: Women and Health. Goldman MB, Troisi R, Rexrode KM, urednici, London, Elsevier Inc., 2013, str. 553-564.

Frohne D. Untersuchungen zur Frage der harndesinfizierenden Wirkungen von BärentraubenblattExtrakten. *Planta Med*, 1970, 18, 1-25.

Garcia de Ariba S, Naser B, Nolte KU. Risk Assessment of Free Hydroquinone Derived from *Arctostaphylos Uva-ursi folium* Herbal Preparations. *Int J Toxicol*, 2013, 32, 442-453.

Greenblatt DJ, von Moltke LL, Perloff ES, Luo Y, Harmatz JS, Zinny MA. Interaction of flurbiprofen with cranberry juice, grape juice, tea, and fluconazole: in vitro and clinical studies. *Clin Pharmacol Ther*, 2006, 79, 125-133.

Gupta K, Chou MY, Howell A, Wobbe C, Grady R, Stapleton AE. Cranberry products inhibit adherence of p-fimbriated *Escherichia coli* to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *J Urol*, 2007, 177, 2357-2360.

Herold A, Lewis DH. Mannose and green plants: occurrence, physiology and metabolism, and use as a tool to study the role of orthophosphate. *New Phytol*, 1977, 79, 1-40.

Hisano M, Bruschini H, Nicodemo AC, Srougi M. Cranberries and lower urinary tract infection prevention. *Clinics*, 2012, 67, 661-667.

Holopainen M, Jahodář L, Seppänen-Laakso T, Laakso I, Kauppinen V. Antimicrobial Activity of Some Finnish Ericaceous Plants. *Acta Pharm Fenn*, 1988, 97, 197-202.

Hooton TM. Recurrent urinary tract infection in women. *Int J Antimicrob Agents*, 2001, 17, 259-268.

Howell AB, Vorsa N, Der Marderosian A, Foo LY. Inhibition of adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial-cell surfaces by proanthocyanidin extracts from cranberries. *N Engl J Med*, 1998, 339, 1085-1086.

Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2016. godinu, Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Zagreb, 2016.

Is there a simple way to prevent UTI's urinary tract infections?
<https://www.intelligentlabs.org>, pristupljeno 23. 04. 2018.

Jahodář L, Jílek P, Pátková M, Dvořáková V. Antimikrobiální působení arbutinu a extraktu z listů medvědice léčivé in vitro. *Českoslov Farm*, 1985, 34, 174-180.

Johnson JR, Stamm WE. Urinary tract infections in women: diagnosis and treatment. *Ann Intern Med*, 1989, 11, 906-917.

Kaspers U, Poetsch F, Nahrstedt A, Chatterjee SS. Diuretic effects of extracts and fractions obtained from different *Solidago* species. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1998, 2, 358.

Kedzia B, Wrociniski T, Mrugasiewicz K, Gorecki P, Grzewinska H. Antibacterial action of urine containing arbutin metabolic products. *Med Dosw Mikrobiol*, 1975, 27, 305-314.

King SS, Young DA, Nequin LG, Carnevale EM. Use of specific sugars to inhibit bacterial adherence to equine endometrium in vitro. *Am J Vet Res*, 2000, 61, 446-449.

Kranjčec B, Papeš D, Altarac S. D-mannose powder for prophylaxis of recurrent urinary tract infections in women: a randomized clinical trial. *World J Urol*, 2014, 32, 79-84.

Laszig R, Smiszek R, Stammwitz U, Henneicke-von Zepelin HH, Akçetin Z. Klinische Anwendungsbeobachtungen zur Wirksamkeit und Sicherheit bei Monographie-konformem Einsatz eines Goldrutenextrakt-Präparates. *Drogenreport*. 1999, 12, 38-40.

Ljekovite biljke i cistitis, www.inpharma.hr, pristupljeno 20. 06. 2018.

Michaels EK, Chmiel JS, Plotkin BJ, Schaeffer AJ. Effect of D-mannose and D-glucose on *Escherichia coli* bacteriuria in rats. *Urol Res*, 1983, 11, 97-102.

Moskalenko SA. Preliminary screening of far eastern ethnomedical plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol*, 1986, 15, 231-259.

Ofek I, Goldhar J, Zafriri D, Lis H, Adar R, Sharon N. Anti-*Escherichia coli* adhesin activity of cranberry and blueberry juices. U: Toward Anti-Adhesion Therapy for Microbial Diseases . Kahane I, Ofek I, urednici, Boston, Springer, 1996, str. 179-183.

Papas P, Brusch C, Ceresia GC. Cranberry juice in the treatment of urinary tract infection. *Southwest Med J*, 1966, 47, 17-20.

Pham DQ, Pham AQ. Interaction potential between cranberry juice and warfarin. *Am J Health Syst Pharm*, 2007, 64, 490-494.

Pharmacognosy 2, <https://www.tankonyvtar.hu>, pristupljeno 11. 05. 2018.

Pinzon-Arango PA, Liu Y, Camesano TA. Role of cranberry on bacterial adhesion forces and implications for *Escherichia coli*-uroepithelial cell attachment. *J Med Food*, 2009, 12, 259-270.

Porru D, Parmigiani A, Tinelli C, Barletta D, Choussos D, Di Franco C, Bobbi V, Bassi S, Miller O, Gardella B, Nappi RE, Spinillo A, Rovereto B. Oral D-mannose in recurrent urinary tract infections in women: a pilot study. *JCU*, 2014, 3, 208-213.

Ríos JL, Recio MC, Villar A. Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. *J Ethnopharmacol*, 1987, 21, 139-152.

Schaeffer AJ, Amundsen SK, Jones JM. Effect of carbohydrates on adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. *Infect Immun*, 1980, 30, 531-537.

Schilcher H, Boesel R, Effenberger S, Segebrecht S. Neuere Untersuchungsergebnisse mit aquareitisch, antibakteriell und prostatotrop wirksamen Arzneipflanzen. Pharmakologische und

phytochemische Untersuchungen von Goldrutenkraut, Birkenblättern, Wacholderbeeren, Gewürzsumachwurzelnrinde, Liebstöckelwurzel, Queckenwurzel und Medizinalkürbissamen. *Urologe B* 1989a, 29, 267-271.

Schilcher H, Rau H. Nachweis der aquaretischen Wirkung von Birkenblätter- und Goldenrutenkrautauszügen im Tierversuch. *Urologe B*, 1988, 28, 274-280.

Schindler G, Patzak U, Brinkhaus B, Nieciek A, Wittig J, Krahmer N. Urinary excretion and metabolism of arbutin after oral administration of *Arctostaphylos uva-ursi* extract as film-coated tablets and aqueous solution in healthy humans. *J Clin Pharmacol*, 2002, 42, 920-927.

Schlager T, Anderson S, Trudell J, Hendley J. Effect of cranberry juice on bacteriuria in children with neurogenic bladder receiving intermittent catheterization. *J Pediatr*, 1999, 135, 698-702.

Schmitt M. Echte Goldrute normalisiert die Reizblase. Effective und nebenwirkungsarme Behandlung abakterieller Cystiden. *TW Urologie Nephrologie*, 1996, 8, 133-135.

Siegers C, Bodinet C, Ali SS, Siegers CP. Bacterial deconjugation of arbutin by *Escherichia coli*. *Phytomedicine.*, 2003, 10, 58-60.

Sobota AE. Inhibition of bacterial adherence by cranberry juice: Potential use for the treatment of urinary tract infections; *J Urol*, 1984, 131, 1013-1016.

Song J, Abraham SN. Innate and adaptive immune responses in the urinary tract. *Eur J Clin Invest*, 2008, 38, 21-28.

Stewart RA. Physicochemical stereospecificity in taste perception of α -D-mannose and β -D-mannose. *Nature*, 1971, 234, 220-223.

Stothers L. A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectiveness of naturopathic cranberry products against urinary tract infection in women. *Can J Urol*, 2002, 9, 1558-1562.

Svanborg C, Godaly G. Bacterial virulence in urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am*, 1997, 11, 513-529.

Škerk V, Dujnić Špoljarević T. Infekcije mokraćnog sustava. *Medicus*, 2012, 21, 23-27.

Škerk V, Tambić Andrašević A, Andrašević S, Markotić A, Škerk V. Antimikrobno liječenje i profilaksa infekcija mokraćnog sustava odraslih osoba. *Medicus*, 2006, 15, 251-256.

Takahashi S, Hamasuna R, Yasuda M, Arakawa S, Tanaka K, Ishikawa K, Kiyota H, Hayami H, Yamamoto S, Kubo I, et al. A randomized clinical trial to evaluate the preventive effect of cranberry juice (UR65) for patients with recurrent urinary tract infection. *J Infect Chemother* 2013, 19, 112-117.

Ulrey RK, Barksdale SM, Zhou W, van Hoek ML. Cranberry proanthocyanidins have anti-biofilm properties against *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14, 499-511.

Wichtl M, urednik. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Stuttgart, Medpharm Scientific Publishers, 2004, str. 510-512.

Zafriri D, Ofek I, Adar R, Pocino M, Sharon N. Inhibitory activity of cranberry juice on adherence of type 1 and type P fimbriated *Escherichia coli* to eucaryotic cells; *Antimicrob Agents Chemother.*, 1989, 33, 92-98.

7.Sažetak/Summary

Uvae ursi folium, Vaccinii macrocarpi fructus, Solidaginis virgaureae herba i D-manoza su biljne droge koje se koriste za liječenje i prevenciju infekcija mokraćnog sustava. Mehanizam djelovanja još nije poznat za sve navedene droge, ali zbog dugotrajne primjene i povoljnog sigurnosnog profila, one ostaju u upotrebi. Dosada provedena klinička istraživanja većinom govore u prilog korištenju ovih droga u adjuvantnom liječenju i profilaksi uroinfekcija, no bit će potrebno još većih kontroliranih studija kako bi se njihov učinak u potpunosti potvrdio. Budući da su uroinfekcije postale veliki javnozdravstveni problem zbog kojeg se propisuje veliki broj antibiotika, a bakterijska rezistencija na antibiotike je u neprestanom porastu, primjena ovih droga mogla bi biti od velikog značaja.

Uvae ursi folium, Vaccinii macrocarpi fructus, Solidaginis virgaureae herba and D-mannose are herbal drugs used for the treatment and prevention of urinary tract infections. The mechanism of action is not yet known for all these drugs, however, due to the long-term use and the favorable security profile, they remain in use. Clinical trials conducted so far have been mostly suggestive of the use of these drugs in adjuvant treatment and prophylaxis of uroinfection, but further controlled studies are required to fully validate their effect. Since uroinfections have become a major public health problem and bacterial resistance to antibiotics has been steadily increasing, the use of these drugs in the future might be of great importance.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmakognozijsku
Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ODABRANE BILJNE DROGE ZA LIJEČENJE I PREVENCIJU INFEKCIJA MOKRAĆNOG SUSTAVA

Marina Menalo

SAŽETAK

Uvae ursi folium, Vaccinii macrocarpi fructus, Solidaginis virgaureae herba i D-manoza su biljne droge koje se koriste za liječenje i prevenciju infekcija mokraćnog sustava. Mehanizam djelovanja još nije poznat za sve navedene droge, ali zbog dugotrajne primjene i povoljnog sigurnosnog profila, one ostaju u upotrebi. Dosada provedena klinička istraživanja većinom govore u prilog korištenju ovih droga u adjuvantnom liječenju i profilaksi uroinfekcija, no bit će potrebno još većih kontroliranih studija kako bi se njihov učinak u potpunosti potvrdio. Budući da su uroinfekcije postale veliki javnozdravstveni problem zbog kojeg se propisuje veliki broj antibiotika, a bakterijska rezistencija na antibiotike je u neprestanom porastu, primjena ovih droga mogla bi biti od velikog značaja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 44 stranice, 8 slika i 71 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Uvae ursi folium, Vaccinii macrocarpi fructus, Solidaginis virgaureae herba, D-manoza, infekcije mokraćnog sustava

Mentor: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Marija Kindl, *viša asistentica-poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Višnja Drinovac Vlah, *viša asistentica-poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacognosy
Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

SELECTED HERBAL DRUGS FOR TREATMENT AND PREVENTION OF URINARY TRACT INFECTIONS

Marina Menalo

SUMMARY

Uvae ursi folium, Vaccinii macrocarpi fructus, Solidaginis virgaureae herba and D-mannose are herbal drugs used for the treatment and prevention of urinary tract infections. The mechanism of action is not yet known for all these drugs, however, due to the long-term use and the favorable security profile, they remain in use. Clinical trials conducted so far have been mostly suggestive of the use of these drugs in adjuvant treatment and prophylaxis of uroinfection, but further controlled studies are required to fully validate their effect. Since uroinfections have become a major public health problem and bacterial resistance to antibiotics has been steadily increasing, the use of these drugs in the future might be of great importance

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 44 pages, 8 pictures and 71 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Uvae ursi folium, Vaccinii macrocarpi fructus, Solidaginis virgaureae herba, D-manoza, urinary tract infections

Mentor: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Marija Kindl, Ph.D. Assistant-postdoctorand, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Višnja Drinovac Vlah, Ph.D. Assistant-postdoctorand, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2018.