

UDK 615 (497.11)

ISSN 0004-1963 (Štampano izd.)
ISSN 2217-8767 (Online)

ARHIV ZA FARMACIJU

Godina 69

Broj 4

Beograd, 2019.

ČASOPIS SAVEZA FARMACEUTSKIH UDRUŽENJA SRBIJE

TEMATSKI BROJ

BILJNI LEKOVITI PROIZVODI
U SAVREMENOJ FARMACEUTSKOJ PRAKSI

4/2019

SADRŽAJ – CONTENTS

Reč gostujućeg urednika

Pregledni radovi – Review articles

- **Silvana Petrović** 221
Biljni i tradicionalni biljni lekovi, monografije EU i lista EU
Herbal and Traditional Herbal Medicinal Products, EU Herbal Monographs and EU List

- **Tatjana Kundaković-Vasović, Jelena Radović** 270
Biljni lekoviti proizvodi u terapiji kašљa povezanog sa prehladom
Herbal medicinal products in the treatment of cough associated with colds

- **Zoran Maksimović** 286
Biljni lekoviti proizvodi za ublažavanje simptoma urinarnih tegoba
Herbal medicinal products for relieving symptoms of urinary disorders

- **Milica M. Drobac, Jelena S. Arsenijević, Mirjana D. Marčetić** 307
Bezbednosni aspekti primene biljnih proizvoda koji sadrže jedinjenja sa potencijalnim rizikom
Safety aspects of herbal products containing compounds with a potential risk

Biljni lekoviti proizvodi u savremenoj farmaceutskoj praksi

U ovom tematskom broju Arhiva za farmaciju sumirani su najznačajniji aktuelni podaci o biljnim lekovitim proizvodima (BLP): njihov status, klasifikacija, načini stavljanja u promet i mogućnosti primene u okviru fitoterapije/racionalne fitoterapije. BLP kao aktivne sastojke sadrže biljne droge (supstance biljnog porekla) i/ili preparate biljnih droga (biljne preparate). Prema zakonskim aktima Evropske unije (Direktiva 2001/83/EC koja je dopunjena Direktivom 2004/24/EC) i zakonskim aktima naše zemlje (Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima Republike Srbije i Pravilnik o bližim uslovima i načinu upisa leka u Registar tradicionalnih biljnih, odnosno homeopatskih lekova), koja su uskladjena sa evropskom legislativom, BLP predstavljaju vrste lekova i njihovo stavljanje u promet je u nadležnosti odgovarajućih Agencija za lekove. Klasifikuju se kao biljni lekovi (BL) i tradicionalni biljni lekovi (TBL). BL se stavljuju u promet na osnovu potvrđenog kvaliteta, kliničke efikasnosti i bezbednosti. Za nove BL (engl. new herbal medicinal products, new HMPs) moraju se dostaviti rezultati sopstvenih pretkliničkih i kliničkih ispitivanja za konkretni proizvod, dok se za BL sa dobro poznatom upotrebom aktivne supstance (engl. well-established use HMPs), kakvih je najveći broj, mogu dostaviti bibliografski pretklinički i klinički podaci. TBL (engl. traditional HMPs) se registruju na osnovu potvrđenog kvaliteta i dovoljno bibliografskih podataka o tradicionalnoj upotrebi, kojima se dokazuje da imaju prihvatljiv stepen bezbednosti i očekivanu efikasnost (kada je neophodno i na osnovu dodatnih podataka o bezbednosti).

Jedan od glavnih zadataka Komiteta za biljne lekovite proizvode (engl. Committee on Herbal Medicinal Products, HMPC), koji je osnovan pri Evropskoj agenciji za lekove (engl. European Medicines Agency, EMA) u skladu sa Direktivom 2004/24/EC, je izrada monografija EU za biljne droge i preparate biljnih droga (engl. European Union herbal monographs). Monografije EU se objavljaju sa ciljem da se olakša stavljanje u promet BL sa dobro poznatom upotrebom aktivne supstance i TBL. HMPC priprema i nacrte unosa u listu EU za TBL, koje usvaja i objavljuje Evropska komisija (engl. European Commission, EC), a cilj liste EU (engl. EU list), je da se još više olakša registracija TBL. Čitaoci će se upoznati sa biljnim drogama i preparatima za koje je HMPC objavio finalne monografije EU i sa biljnim drogama i preparatima za koje su objavljeni unosi u listu EU zakљučno sa julom 2019. godine, kao i sa terapijskim oblastima i indikacijama koje su odobrene u finalnim monografijama EU. Takođe, dat je pregled BL i TBL koji su odobreni za stavljanje u promet u Republici Srbiji.

BLP se primenjuju u širokom spektru indikacionih područja, pretežno kod blažih bolesti i zdravstvenih tegoba. Koriste se prvenstveno na osnovu preporuke farmaceuta ili lekara, a TBL i kroz samolečenje. S obzirom na sve veću upotrebu BLP, savetovanje pacijenata, tj. pružanje relevantnih informacija o karakteristikama, mogućnostima

primene i pravilnoj upotrebi BLP je od izuzetnog značaja. U ovom broju Arhiva za farmaciju čitaoci će se detaljnije upoznati sa BLP koji se koriste u terapiji kašla povezanog sa prehladom i za ublažavanje simptoma urinarnih tegoba.

S obzirom na sve veću upotrebu BLP, njihova bezbednost je postala važno pitanje javnog zdravlja. Čitaoci će imati priliku da se upoznaju sa uslovima za bezbednu primenu biljnih proizvoda koji sadrže sastojke sa potencijalnim rizikom (kao što su npr. pirolizidinski alkaloidi, kumarin, estragol, tujon i azaron).

Gostujući urednik

Prof. dr Silvana Petrović

Katedra za farmakognosiju

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Biljni i tradicionalni biljni lekovi, monografije EU i lista EU

Silvana Petrović

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakognoziju,
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

Autor za korespondenciju, e-mail: silvana.petrovic@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Prema zakonskim aktima EU i zakonskim aktima naše zemlje, biljni lekovi (BL) i tradicionalni biljni lekovi (TBL) predstavljaju vrste lekova. Kao aktivne sastojke sadrže biljne droge (supstance biljnog porekla) i/ili preparate biljnih droga (biljne preparate). BL se stavljuju u promet na osnovu potvrđenog kvaliteta, kliničke efikasnosti i bezbednosti. TBL se registruju na osnovu potvrđenog kvaliteta i dovoljno podataka o tradicionalnoj upotrebi kojima se dokazuje da imaju prihvatljiv stepen bezbednosti i očekivanu efikasnost. Komitet za biljne lekovite proizvode (HMPC) Evropske agencije za lekove (EMA) izdaje monografije EU za biljne droge, preparate biljnih droga i njihove kombinacije u kojima se nalaze pretklinički i klinički podaci za BL sa dobro poznatom upotrebom (WEU) i podaci o tradicionalnoj upotrebi (TU) za TBL. HMPC priprema i nacrte unosa u listu EU za TBL, koje usvaja i objavljuje Evropska komisija. Zaključno sa julom 2019. god., HMPC je izdao 160 finalnih monografija, koje su dostupne na web-sajtu EMA (157 monografija za 156 biljnih droga i preparata, dve monografije za dve kombinacije biljnih droga i jednu monografiju za čaj, tj. čajne mešavine); za 13 biljnih droga i preparata objavljeni su unosi u listu EU. U radu je dat prikaz terapijskih oblasti i indikacija koje su odobrene u navedenim finalnim monografijama EU. Takođe, dat je pregled BL i TBL koji imaju dozvole za stavljanje u promet/upisani su u Registar tradicionalnih biljnih lekova u Republici Srbiji.

Ključne reči: biljni lekovi, tradicionalni biljni lekovi, Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC), monografije EU, lista EU.

Uvod

U zvaničnoj medicini, pod fitoterapijom se podrazumeva sistem lečenja zasnovan na primeni biljnih lekovitih proizvoda (biljnih lekova i tradicionalnih biljnih lekova) (1, 2).

Prema zakonskim aktima Evropske unije (Direktiva 2001/83/EC sa amandmanom Direktive 2004/24/EC) i zakonskim aktima naše zemlje (Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima Republike Srbije i Pravilnik o bližim uslovima i načinu upisa leka u Registar tradicionalnih biljnih, odnosno homeopatskih lekova), koja su usaglašena sa evropskom legislativom, biljni i tradicionalni biljni lekovi predstavljaju vrste lekova (1, 3-6).

Biljni i tradicionalni biljni lekovi kao aktivne sastojke sadrže biljne droge i/ili preparate biljnih droga. Biljne droge su cele, fragmentisane ili sečene biljke ili delovi biljaka, alge, gljive, lišajevi, najčešće suvi, ali ponekad i sveži, kao i neki eksudati biljaka koji nisu podvrgnuti specifičnom postupku prerade. Biljne droge su precizno definisane delovima biljaka koji ih čine i imenima biljaka prema binominalnom sistemu (rod, vrsta, podvrsta, varijetet, autor). Sinonim za termin biljna droga (engl. *herbal drug*) koji se koristi u Evropskoj farmakopeji (Ph. Eur.) i farmakognoskoj literaturi je biljna supstanca (engl. *herbal substance*) prema zakonskim aktima EU, odnosno supstanca biljnog porekla prema Zakonu o lekovima i medicinskim sredstvima RS.

Preparati biljnih droga su proizvodi koji se dobijaju od biljnih droga primenom postupaka kao što su ekstrakcija, destilacija, cedenje, frakcionisanje, precišćavanje, koncentrisanje ili fermentacija. U preparate biljnih droga spadaju npr. usitnjene ili sprašene biljne droge, ekstrakti (suvi, meki, tečni ekstrakti, tinkture), etarska ulja, masna ulja, biljni sokovi i prerađeni eksudati. Sinonim za termin preparat biljne droge (engl. *herbal drug preparation*) koji se koristi u Ph. Eur. je biljni preparat (engl. *herbal preparation*) prema zakonskim aktima EU i Zakonu o lekovima i medicinskim sredstvima RS (1, 4, 5, 7-10).

Kao i u slučaju svih ostalih lekova, stavljanje u promet biljnih i tradicionalnih biljnih lekova je u nadležnosti odgovarajućih Agencija za lekove (3-6, 8).

Biljni lekovi i racionalna fitoterapija

Biljni lekovi se, kao i konvencionalni, stavljuju u promet na osnovu potvrđenog farmaceutskog kvaliteta, klinički dokazane terapijske efikasnosti i bezbednosti. Farmaceutski kvalitet biljnog leka dokazuje se u postupku dobijanja dozvole za stavljanje leka u promet farmaceutsko-hemijsko-biološkom dokumentacijom, tj. podacima o fizičko-hemijskim, biološkim, odnosno mikrobiološkim ispitivanjima. U postupku dobijanja dozvole za stavljanje biljnog leka u promet dostavlja se i farmakološko-toksikološka dokumentacija (podaci o pretkliničkim ispitivanjima kojima

se utvrđuju farmakodinamička, famakokinetička i toksikološka svojstva leka) i klinička dokumentacija (podaci o kliničkim ispitivanjima kojima se dokazuju klinička bezbednost i efikasnost biljnog leka) (1, 3-5).

Prema Direktivi 2001/83/EC, dopunjenoj Direktivom 2004/24/EC, postoje dva regulatorna puta, i samim tim i dva tipa aplikacije, za izdavanje dozvole za stavljanje u promet biljnih lekova. U EU izdavanje dozvole za stavljanje u promet biljnih lekova označava se kao „*marketing authorisation*” (MA).

Jedan regulatorni put odnosi se na nove biljne lekove (engl. *new herbal medicinal products, new HMPs*), i u EU se označava kao „*full MA*”. Podnositelj zahteva za dobijanje dozvole za stavljanje u promet novog biljnog leka treba da dostavi rezultate sopstvenih pretkliničkih i kliničkih ispitivanja za konkretni proizvod (engl. *full MA application*). Na ovaj način u EU je stavljen u promet veoma mali broj biljnih lekova (3, 4, 9-12).

Drugi regulatorni put odnosi se na biljne lekove sa dobro poznatom upotrebom aktivne supstance (engl. *well-established use HMPs, WEU HMPs*), i u EU se označava kao „*well-established use marketing authorisation; WEU-MA*”. Za biljne lekove sa dobro poznatom upotrebom aktivne supstance, kakvih je najveći broj, podnositelj zahteva za dobijanje dozvole nije dužan da dostavi rezultate sopstvenih pretkliničkih i kliničkih ispitivanja za konkretni proizvod, već može da dostavi bibliografske pretkliničke i kliničke podatke objavljene u relevantnim stručnim monografijama i drugoj stručnoj literaturi, kojima se dokazuje da sastojak/sastojci leka ima/imaju potvrđenu efikasnost i prihvatljiv stepen bezbednosti. Aplikacija za biljne lekove sa dobro poznatom upotrebom aktivne supstance (engl. *WEU-MA application*) generalno se bazira na bibliografskim podacima (3, 8-12).

Biljni lekovi namenjeni su za lečenje, ublažavanje i prevenciju bolesti i zdravstvenih tegoba, pod nadzorom lekara. Najčešće se izdaju bez lekarskog recepta, ali se mogu izdavati i na lekarski recept (npr. u Nemačkoj se biljni lekovi na bazi ekstrakata herbe kantariona, *Hyperici herba*, indikovani kod umereno teških depresivnih epizoda, izdaju na lekarski recept, a u Irskoj se svi biljni lekovi na bazi ekstrakata herbe kantariona mogu izdavati isključivo na lekarski recept) (1, 2, 13).

Racionalna fitoterapija predstavlja najsavremeniji oblik fitoterapije. To je fitoterapija zasnovana na dokazima. Podrazumeva lečenje, ublažavanje i prevenciju bolesti i zdravstvenih tegoba pomoću biljnih lekova (dakle pomoću biljnih lekovitih proizvoda čija je terapijska efikasnost klinički dokazana; engl. *evidence-based medicines*) (1, 2).

Tradicionalni biljni lekovi

Evropska Direktiva 2004/24/EC, koja dopunjuje Direktivu 2001/83/EC, omogućila je stavljanje u promet tradicionalnih biljnih lekova (engl. *traditional herbal*

medicinal products, THMPs). Direktiva 2004/24/EC je uvedena nakon što je zaključeno da veliki broj biljnih lekovitih proizvoda sa dugom tradicionalnom upotrebom u Evropi ne ispunjava zahteve navedene u Direktivi 2001/83/EC za dobro poznatu medicinsku upotrebu (*WEU*). Cilj Direktive 2004/24/EC je bio da se omogući stavljanje u promet i ovakvih biljnih lekovitih proizvoda koji nemaju klinički potvrđenu terapijsku efikasnost, ali koji imaju dovoljno dugu tradicionalnu upotrebu (engl. *traditional use, TU*) sa prihvatljivim stepenom bezbednosti i ispunjavaju zahteve za farmaceutski kvalitet (3, 4, 9-12).

Regulatorni put za stavljanje u promet tradicionalnih biljnih lekova označava se u EU kao pojednostavljena registracija (engl. *simplified registration*) ili često kao registracija tradicionalne upotrebe (engl. *traditional use registration, TUR*) (4, 8, 9, 10, 12). U Republici Srbiji stavljanje u promet tradicionalnih biljnih lekova podrazumeva upis u Registar tradicionalnih biljnih lekova (5, 6).

Registracija tradicionalnih biljnih lekova vrši se na osnovu potvrđenog farmaceutskog kvaliteta (dokazuje se na isti način kao i u slučaju biljnih lekova) i dovoljno bibliografskih podataka o tradicionalnoj upotrebi, kojima se dokazuje da nisu štetni kada se koriste pri propisanim uslovima primene (tj. da imaju prihvatljiv stepen bezbednosti) i da se njihovi farmakološki efekti ili efikasnost mogu očekivati na osnovu dugotrajne upotrebe i iskustva. Period tradicionalne upotrebe pre podnošenja zahteva za stavljanje u promet mora da iznosi najmanje 30 godina, od čega najmanje 15 godina na teritoriji Evropske unije. Međutim, čak i duga tradicionalna upotreba ne isključuje mogućnost postojanja zabrinutosti u pogledu bezbednosti proizvoda, i nadležne agencije imaju pravo da traže dodatne (toksikološke pretkliničke) podatke potrebne za procenu bezbednosti. Aplikacija za tradicionalne biljne lekove, kao i u slučaju biljnih lekova sa dobro poznatom upotrebom aktivne supstance, bazira se na bibliografskim podacima, uz dostavljanje dodatnih podataka o bezbednosti kada je to neophodno (4-6, 9-12).

Tradicionalni biljni lekovi namenjeni su za oralnu (*per os*), spoljnu upotrebu ili inhalaciju. Mogu da sadrže vitamine ili minerale čija je terapijska bezbednost dobro dokumentovana, ali samo ukoliko je dejstvo tih vitaminina ili minerala pomoćno u odnosu na dejstvo aktivnih biljnih sastojaka u pogledu deklarisane indikacije (ili indikacija) (1, 4-6, 10, 11).

Upotreba tradicionalnih biljnih lekova zasnovana je na dugogodišnjem iskustvu; spadaju u tzv. lekove zasnovane na iskustvu (engl. *experience-based medicines*) (1, 2). U uputstvu za pacijenta (*PIL*) i sažetku karakteristika leka (*SmPC*), obavezno se naznačava da se „tradicionalno koriste za navedene indikacije”, tj. da se „koriste na osnovu dugogodišnje upotrebe i iskustva” (1, 10). Tradicionalni biljni lekovi se uvek izdaju bez lekarskog recepta. Mogu da se koriste za samolečenje (na osnovu sopstvene odluke pacijenta). Međutim, kroz samolečenje mogu da se koriste tokom kraćeg vremenskog perioda (najčešće tokom 1-2 nedelje), i ukoliko tegobe traju tokom ili

nakon perioda primene pacijent treba da se obrati zdravstvenom stručnjaku (farmaceutu ili lekaru) (1, 10, 12).

Tradicionalni biljni lekovi su namenjeni za prevenciju bolesti i tretman manjih zdravstvenih tegoba. Imaju indikacije karakteristične za tradicionalne lekove, koje moraju biti definisane tako da su lako razumljive pacijentima. Predviđeni su za primenu bez lekarskog nadzora radi postavljanja dijagnoze ili izdavanja recepta ili radi praćenja toka lečenja (1, 4-6, 10, 11). U pojedinim slučajevima mogu da se koriste i kod simptoma koji su zajednički i za neke ozbiljnije bolesti, ali samo nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja (12); dakle, u slučaju ovakvih indikacija (one odobrene prema finalnim monografijama EU inkorporirane su u Tabelama XVI, XIX, XX i XXIV), konsultacija lekara pre upotrebe tradicionalnog biljnog leka je obavezna.

Monografije EU i lista EU

Evropska Direktiva 2004/24/EC, koja dopunjuje Direktivu 2001/83/EC, omogućila je harmonizaciju regulisanja biljnih lekovitih proizvoda u zemljama EU. Na osnovu Direktive 2004/24/EC proistekli su harmonizovani standardi EU koji predstavljaju osnovu za stavljanje u promet biljnih lekovitih proizvoda na nacionalnom nivou. Ovi standardi imaju za cilj da obezbede kvalitet, prihvatljiv stepen bezbednosti i efikasnost (klinički dokazanu ili očekivanu na osnovu duge tradicionalne upotrebe) biljnih lekovitih proizvoda. Standardi su kako specifični za određenu aktivnu supstancu (biljnu drogu/preparat/kombinaciju), tako i opšti (3, 4, 9, 11).

U skladu sa Direktivom 2004/24/EC, pri Evropskoj agenciji za lekove (engl. *European Medicines Agency, EMA*), 2004. god. osnovan je Komitet za biljne lekovite proizvode (engl. *Committee on Herbal Medicinal Products, HMPC*). *HMPC* prikuplja i procenjuje naučne podatke o biljnim drogama i preparatima biljnih droga i njihovim kombinacijama, sa fokusom na njihovu bezbednost i efikasnost. *HMPC* doprinosi harmonizaciji evropskog tržišta, jer su nadležne nacionalne agencije u mogućnosti da se pozivaju na jedinstveni skup informacija o biljnoj drogi ili preparatu biljne droge prilikom procenjivanja zahteva za stavljanje u promet biljnog lekovitog proizvoda. *HMPC* objavljuje monografije EU, nacrte predloge unosa u listu EU, kao i naučne i regulatorne smernice koje treba da pomognu farmaceutskim kompanijama u pripremi zahteva za stavljanje u promet biljnih i tradicionalnih biljnih lekova (do sada je objavljeno preko 40 smernica koje se odnose na kvalitet, bezbednost, efikasnost i farmakovigilancu) (4, 8, 9, 11). U ovom radu diskutovane su monografije EU i lista EU.

Monografije EU

Jedan od glavnih zadataka *HMPC* je izrada monografija EU za biljne droge i preparate biljnih droga (engl. *European Union herbal monographs*; ranije poznate kao

Community herbal monographs).¹ Monografije EU sadrže naučno mišljenje *HMPc* o bezbednosti i efikasnosti biljnih droga i njihovih preparata namenjenih za primenu u lekovite svrhe. Predstavljaju rezultat naučne procene svih dostupnih informacija, uključujući i rezultate pretkliničkih i kliničkih ispitivanja, kao i podatke o tradicionalnoj upotrebi i iskustvu u EU. Monografije EU se objavljuju sa ciljem da se olakša stavljanje u promet biljnih lekova sa dobro poznatom upotreboru aktivne supstance i tradicionalnih biljnih lekova, i da se doprinese harmonizaciji evropskog tržišta. Svaki preparat jedne biljne droge procenjuje se individualno, jer dostupne informacije za različite preparate iste biljne droge mogu međusobno da se razlikuju. Svaka monografija može da se koristi za stavljanje u promet većeg broja mogućih pojedinačnih biljnih lekovitih proizvoda. Monografije se objavljuju zajedno sa odgavarajućim pratećim dokumentima, uključujući i izveštaj o proceni (engl. *Assessment report*) i spisak referenci (engl. *List of references*). Izveštaj o proceni sadrži pregled svih dostupnih podataka relevantnih za medicinsku upotrebu biljne droge ili preparata biljne droge (4, 8-11).

Monografije EU se dakle odnose na dobro poznatu upotrebu (*WEU*) i/ili tradicionalnu upotrebu (*TU*). Sadrže bibliografske pretkliničke i kliničke podatke za biljne droge, preparate biljnih droga i njihove kombinacije od kojih se izrađuju biljni lekovi sa dobro poznatom upotreboru i podatke o tradicionalnoj upotrebi biljnih droga, preparata biljnih droga i njihovih kombinacija od kojih se izrađuju tradicionalni biljni lekovi (8, 9, 11). Podeljene su u 2 kolone. Leva kolona, označena kao „*Well-established use*”, sadrži podatke koji se odnose na dobijanje dozvole za biljni lek sa dobro poznatom upotreboru (engl. *well-established use marketing authorisation; WEU-MA*). Desna kolona, označena kao „*Traditional use*”, sadrži podatke koji se odnose na registraciju tradicionalnih biljnih lekova (engl. *simplified registration* ili *traditional use registration, TUR*²) (8). Ukoliko se od odgovarajuće biljne sirovine (biljne droge, preparata biljne droge ili njihove kombinacije) izrađuju samo biljni lekovi sa dobro poznatom upotreboru popunjena je samo leva kolona, ukoliko se izrađuju samo tradicionalni biljni lekovi popunjena je samo desna kolona, a ukoliko biljna sirovina ima

¹ Naslov svake monografije formira se tako što se iza „*European Union herbal monograph on*” (ranije „*Community herbal monograph on*”) dodaje latinski naziv biljke prema binominalnom sistemu, a iza njega, u slučaju monografije biljne droge latinski naziv dela biljke koji čini drogu (npr. *folium, flos, fructus, semen, herba, cortex, radix, rhizoma* itd.), odnosno, u slučaju monografije preparata biljne droge opšti latinski naziv preparata (npr. *aetheroleum, oleum* itd.). Pun latinski naziv biljne droge/preparata (npr. *Anisi fructus/Anisi aetheroleum*) naveden je u okviru ključnih reči (engl. *Keywords*). Svaka monografija sadrži i tabelarni prikaz nacionalnih naziva biljnih droga/preparata na jezicima zemalja država članica EU (8). Napomena: naslovi svih finalnih monografija izdatih zaključno sa julom 2019. god. navedeni su u okviru odgovarajućih referenci u odeljku *Literatura*.

² Kao što je već rečeno, u našoj državi stavljanje u promet tradicionalnih biljnih lekova podrazumeva upis u Registar tradicionalnih biljnih lekova (5, 6).

i dobro poznatu i tradicionalnu upotrebu popunjene su obe kolone (izuzetak je herba kantariona, *Hyperici herba*, za koju su izdate 2 posebne monografije: jedna za *WEU* i jedna za *TU*) (8, 14, 15). U slučaju da biljna droga ima i dobro poznatu i tradicionalnu upotrebu, u levoj i desnoj koloni nalaze se različiti preparati ove biljne droge (8, 9).

Monografije EU odnose se na medicinsku upotrebu proizvoda koji se izrađuju od odgovarajućih biljnih droga, preparata biljnih droga i njihovih kombinacija, tj. na njihovu bezbednost i efikasnost. Sadrže sve potrebne informacije za upotrebu lekovitog proizvoda koje su namenjene zdravstvenim radnicima i pacijentima. Informacije su date u standardnom formatu sažetka karakteristika leka (engl. *Summary of Product Characteristics, SmPC*). Monografije služe za pripremu informacija o pojedinačnim biljnim lekovitim proizvodima, kao što su *SmPC* i uputstvo za pacijenta (engl. *Patient Information Leaflet, PIL*). Sastoje se iz sledećih odeljaka:

- Kvalitativni i kvantitativni sastav.
- Farmaceutski oblik.
- Klinički podaci: Terapijske indikacije; Doziranje i način primene; Kontraindikacije; Posebna upozorenja i mere opreza; Interakcije; Primena u periodu trudnoće i laktacije, uticaj na fertilitet; Uticaj na sposobnost upravljanja vozilima i rukovanja mašinama; Neželjena dejstva; Predoziranje.
- Farmakološki podaci: Farmakodinamski podaci; Farmakokinetički podaci; Pretklinički podaci o bezbednosti.
- Farmaceutski podaci (8-10).

Monografije EU su odraz težnji za harmonizacijom evropskog tržišta, one nisu obavezujuće, ali ih treba interpretirati kao snažnu preporuku, ukoliko nema novijih naučnih podataka ili ukoliko za proizvod nema specifičnih odstupanja u odnosu na sadržaj monografije (10, 11).

HMPC je zaključno sa julom 2019. god. izdao 160 finalnih monografija EU koje su dostupne web-sajtu *EMA* (Tabela I), i to:

- 157 monografija za 156 biljnih droga i preparata biljnih droga (za herbu kantariona, *Hyperici herba*, izdate su dve posebne monografije); od ovih 156 biljnih droga i preparata, 13 ima odobrenu samo dobro poznatu upotrebu (*WEU*), 12 ima i dobro poznatu upotrebu (*WEU*) i tradicionalnu upotrebu (*TU*), a 131 samo tradicionalnu upotrebu (*TU*);
- dve monografije za dve kombinacije biljnih droga (imaju odobrene i dobro poznatu upotrebu, *WEU* i tradicionalnu upotrebu, *TU*):
- kombinacija herbe timijana i korena jagorčevine, *Thymi herba / Primulae radix*,
- kombinacija korena valerijane i cvasti hmelja, *Valerianae radix / Lupuli flos*;

- jednu monografiju za čaj, tj. odgovarajuće čajne mešavine (ima samo tradicionalnu upotrebu, *TU*): diuretički čaj, *Species diureticae* (8, 14-173).

Postupak izrade monografija EU je transparentan i javno dostupan. *EMA* na svom web-sajtu objavljuje pozive za dostavljanje naučnih podataka paralelno sa prikupljanjem podataka od strane izvestioca, potom objavljuje nacrte monografija (engl. *draft EU herbal monographs*) i svih pratećih dokumenata, koji su zatim podložni javnoj raspravi, a nakon toga objavljuje i njihove konačne (engl. *final EU herbal monographs*) verzije (8-10). Ako *HMP* nakon procene dostupnih podataka za biljnu drogu ili preparat zaključi da nije moguće izraditi monografiju, razlozi (npr. nedostatak podataka ili problemi vezani za bezbednost) se rezimiraju u tzv. izjavama za javnost (engl. *Public statements*) (8-11).

Prednost monografija EU u odnosu na druge monografije biljnih droga i preparata biljnih droga koje se takođe odnose na bezbednost i efikasnost (monografije Evropskog naučnog udruženja za fitoterapiju–engl. *ESCOP Monographs*, i monografije Svetske zdravstvene organizacije–engl. *WHO Monographs*), sastoji se upravo u tome što je proces njihove izrade značajno transparentniji i dostupniji javnosti (10). Broj trenutnih monografija EU sa brojem *ESCOP* i WHO monografija je sličan, mada se ne poklapa u potpunosti. To ukazuje da su monografije EU sada dostupne za glavne biljne droge i preparate koji se koriste u evropskoj fitoterapiji, a neke su još uvek u postupku procene (9). Treba napomenuti da su najstarije monografije Komisije E Nemačkog Ministarstva zdravlja (engl. *German Commission E Monographs*) krajem 20. veka bile u Nemačkoj i drugim državama zlatni standard, ali se danas smatraju zastarelim, jer nisu ažurirane u skladu sa trenutnim saznanjima (10).

Monografije EU treba razlikovati od monografija biljnih droga i preparata biljnih droga koje se nalaze u Evropskoj farmakopeji (*Ph. Eur.*). *Ph. Eur.* monografije se odnose isključivo na kvalitet (sadrže parametre i metode ispitivanja kvaliteta). U monografijama EU se obavezno navodi da kvalitet određene biljne droge ili preparata mora da odgovara zahtevima datim u *Ph. Eur.* (7, 9).

Lista EU

Lista EU (engl. *EU list*, ranije poznata kao *Community list*), kao i monografije EU, formira se u skladu sa Direktivom 2004/24/EC (4). Lista EU odnosi se isključivo na tradicionalne biljne lekove. Cilj formiranja liste EU je da se još više olakša registracija tradicionalnih biljnih lekova (engl. *simplified registration* ili *traditional use registration, TUR*) i da se postigne još bolja harmonizacija u EU (4, 9, 10).

Uslov da se za biljnu drogu, preparat biljne droge ili njihovu kombinaciju formira tzv. unos u listu EU (engl. *EU list entry*) jeste da postoji dovoljno dostupnih podataka o bezbednosti i tradicionalnoj upotrebi. Podaci o bezbednosti odnose se na odsustvo genotoksičnosti, karcinogenosti i reproduktivne toksičnosti. Minimalni uslov jeste da postoje dokazi o odsustvu genotoksičnosti (9, 11).

Registracija na osnovu liste EU predstavlja najlakši način da se tradicionalni biljni lek stavi u promet. Za razliku od monografija EU, sadržaj unosa u listu EU je obavezujući za sve države članice EU. Ako podnositelj zahteva za registraciju tradicionalnog biljnog leka može da dokaže da su predloženi proizvod i odgovarajuće tvrdnje u zahtevu u skladu sa informacijama sadržanim u listi EU, u tom slučaju ne mora da podnese dodatne dokaze o bezbednoj i tradicionalnoj upotrebi proizvoda. Nadležne agencije ne mogu od podnosioca zahteva da traže dodatne podatke za procenu bezbednosti i tradicionalne upotrebe proizvoda. Ukoliko je pak registracija tradicionalnog biljnog leka zasnovana samo na monografiji EU, nadležne agencije mogu od podnosioca zahteva da traže dodatne podatke za procenu bezbednosti proizvoda. Unos u listu EU ima sličnu strukturu kao i monografija EU, i podaci iz tzv. unosa u listu EU takođe predstavljaju osnovu za pripremu sažetka karakteristika leka (*SmPC*) i uputstva za pacijenta (*PIL*) (4, 8-10).

*HMP*C priprema i objavljuje samo nacrte unosa (engl. *draft EU list entry*) u listu EU (procedura izrade je ista kao i u slučaju monografija EU), dok konačne unose (engl. *final EU list entry*) u listu EU usvaja Evropska komisija (engl. *European Commission, EC*) i sukcesivno ih objavljuje u *Official Journal of the European Union (OJ)*.

*HMP*C vrši procenu dostupnih podataka o određenoj biljnoj drogi, preparatu biljne droge ili njihovoj kombinaciji, a rezultat ove procene može biti monografija EU ili monografija EU i unos u listu EU (8-11, 174). *HMP*C je prilikom dosadašnje procene dostupnih podataka za biljne droge i preparate zaključio da u najvećem broju slučajeva nedostaju odgovarajući podaci o bezbednosti (minimalni uslov su podaci o odsustvu genotoksičnosti). To je razlog zbog čega su do sada za samo mali broj biljnih droga i preparata sa tradicionalnom upotrebom (*TU*), pored odgovarajućih monografija EU, objavljeni i unosi u listu EU (9-11). Zaključno sa julom 2019. god., unosi u listu EU publikovani su za svega 13 biljnih droga i preparata i to za: *Anisi fructus*, *Calendulae flos*, *Echinaceae purpureae herba*, *Eleutherococci radix*, *Foeniculi amari fructus*, *Foeniculi dulcis fructus*, *Hamamelidis folium et cortex aut ramunculus destillatum*, *Melaleucae aetheroleum*, *Menthae piperitae aetheroleum*, *Sideritis herba*, *Thymi aetheroleum*, *Valeriana radix* i *Vitis viniferae folium* (Tabela I) (174).

Bezbednost tradicionalne upotrebe svakog preparata jedne biljne droge procenjuje se individualno, jer dostupne informacije za različite preparate iste biljne droge mogu međusobno da se razlikuju. To je razlog zbog čega se u nekim slučajevima u listi EU nalaze samo neki od preparata koji su navedeni u odgovarajućoj monografiji EU (u slučaju *Calendulae flos*, *Eleutherococci radix* i *Vitis viniferae folium*) (39, 54, 159, 174). Takođe, u nekim slučajevima se u listi EU nalaze samo neki od načina primene, odnosno neke od indikacija za tradicionalnu upotrebu u odnosu na one koje su navedene u monografiji EU (u slučaju *Menthae piperitae aetheroleum*, *Thymi aetheroleum* i *Vitis viniferae folium*) (21, 39, 71, 174).

Tabela I Biljne droge i njihove kombinacije, preparati biljnih droga i čaj za koje su do sada objavljene finalne monografije EU (dostupne na web-sajtu EMA), kao i biljne droge i preparati biljnih droga za koje su do sada u OJ objavljeni unosi u listu EU (8, 14-173, 174)

Table I Herbal drugs and their combinations, herbal drug preparations and herbal tea for which the final EU monographs (available on the EMA website) have been published so far, as well as herbal drugs and herbal drug preparations for which the EU list entries have been published in OJ so far (8, 14-173, 174)

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
1	<i>Absinthii herba</i> herba belog pelena		+
2	<i>Agni casti fructus</i> plod konopljike	+	+
3	<i>Agrimoniae herba</i> herba petrovca		+
4	<i>Agropyri repentis rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Graminis rhizoma</i>) rizom pirevine		+
5	<i>Aloes folii succus siccatus</i> osušen sok listova aloje (aloja)	+	
6	<i>Althaeae radix</i> koren belog sleza		+
7	<i>Anisi aetheroleum</i> etarsko ulje anisa		+
8	<i>Anisi fructus</i> plod anisa		+ / LE
9	<i>Arctii radix</i> koren čička		+
10	<i>Arnicae flos</i> cvast arnike		+
11	<i>Avenae fructus</i> plod ovsa		+
12	<i>Avenae herba</i> herba ovsa		+
13	<i>Betulae folium</i> list breze		+
14	<i>Boldi folium</i> list bolda		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
15	<i>Bursae pastoris herba</i> herba rusomače (hoću-neću)		+
16	<i>Calendulae flos</i> cvet nevena		+ / LE
17	<i>Camelliae sinensis non fermentatum folium</i> zeleni čaj		+
18	<i>Capsici fructus</i> plod paprike	+	
19	<i>Carvi aetheroleum</i> etarsko ulje kima		+
20	<i>Carvi fructus</i> plod kima		+
21	<i>Caryophyllii floris aetheroleum</i> etarsko ulje cveta karanfilića		+
22	<i>Centaurii herba</i> herba kičice		+
23	<i>Chamomillae romanae flos</i> cvast rimske kamilice		+
24	<i>Cichorii intybi radix</i> koren vodopije		+
25	<i>Cimicifugae rhizoma</i> rizom cimicifuge	+	
26	<i>Cinnamomi cortex</i> kora cimeta		+
27	<i>Cinnamomi corticis aetheroleum (Ph. Eur.: Cinnamomi zeylanici corticis aetheroleum)</i> etarsko ulje kore cimeta		+
28	<i>Colae semen</i> seme kole		+
29	<i>Crataegi folium cum flore</i> list sa cvetom gloga		+
30	<i>Cucurbitae semen</i> seme bundeve		+
31	<i>Curcumae longae rhizoma</i> rizom kurkume		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
32	<i>Curcumae xanthorrhizae rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Curcumae zanthorrhizae</i> <i>rhizoma</i>) rizom javanske kurkume		+
33	<i>Cynarae folium</i> list artičoke		+
34	<i>Echinaceae angustifoliae radix</i> koren uskolisne ehinacee		+
35	<i>Echinaceae pallidae radix</i> koren blede ehinacee		+
36	<i>Echinaceae purpureae herba</i> herba purpurne ehinacee	+	+ / LE
37	<i>Echinaceae purpureae radix</i> koren purpurne ehinacee		+
38	<i>Eleutherococci radix</i> koren sibirskog žen-šena (eleuterokoka)		+ / LE
39	<i>Epilobii herba</i> herba vrbovice		+
40	<i>Equiseti herba</i> herba rastavića		+
41	<i>Eschscholziae herba</i> herba kalifornijskog maka		+
42	<i>Eucalypti aetheroleum</i> etarsko ulje eukaliptusa		+
43	<i>Eucalypti folium</i> list eukaliptusa		+
44	<i>Filipendulae ulmariae flos</i> cvast suručice		+
45	<i>Filipendulae ulmariae herba</i> herba suručice		+
46	<i>Foeniculi amari fructus aetheroleum</i> etarsko ulje ploda gorkog morača		+
47	<i>Foeniculi amari fructus</i> plod gorkog morača		+ / LE
48	<i>Foeniculi dulcis fructus</i> plod slatkog morača		+ / LE

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
49	<i>Fragariae folium</i> list divlje jagode		+
50	<i>Frangulae cortex</i> kora krušine	+	
51	<i>Fraxini folium</i> list jasena		+
52	<i>Fucus vesiculosus, thallus</i> talus bračića		+
53	<i>Fumariae herba</i> herba dimnjače		+
54	<i>Gentianae radix</i> koren lincure		+
55	<i>Ginkgo folium (Ph. Eur.: Ginkgonis folium)</i> list ginka	+	+
56	<i>Ginseng radix</i> koren žen-šena		+
57	<i>Grindeliae herba</i> herba grindelije		+
58	<i>Hamamelidis cortex</i> kora hamamelisa		+
59	<i>Hamamelidis folium</i> list hamamelisa		+
60	<i>Hamamelidis folium et cortex aut ramunculus destillatum</i> destilat lista i kore ili grančica hamamelisa		+ / LE
61	<i>Harpagophytii radix</i> koren đavolje kandže		+
62	<i>Hederae helicis folium (Ph. Eur.: Hederae folium)</i> list bršljana	+	
63	<i>Helichrysi flos</i> cvast smilja		+
64	<i>Hippocastani cortex</i> kora divljeg kestena		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
65	<i>Hippocastani semen</i> seme divljeg kestena	+	+
66	<i>Hyperici herba</i> herba kantariona	+	+
67	<i>Juglandis folium</i> list oraha		+
68	<i>Juniperi aetheroleum</i> etarsko ulje kleke		+
69	<i>Juniperi pseudo-fructus</i> (Ph. Eur.: <i>Juniperi galbulus</i>) bobičasta šišarica kleke		+
70	<i>Lavandulae aetheroleum</i> etarsko ulje lavande		+
71	<i>Lavandulae flos</i> cvet lavande		+
72	<i>Lecithinum ex soya</i> lecitin iz soje		+
73	<i>Leonuri cardiacae herba</i> herba srdačice		+
74	<i>Levistici radix</i> koren selena		+
75	<i>Lichen islandicus</i> talus islandskog lišaja		+
76	<i>Lini semen</i> seme lana	+	+
77	<i>Liquiritiae radix</i> koren sladića		+
78	<i>Lupuli flos</i> cvast hmelja		+
79	<i>Malvae folium</i> list crnog sleza		+
80	<i>Malvae sylvestris flos</i> cvet crnog sleza		+
81	<i>Marrubii herba</i> herba belog tetrljana (očajnice)		+
82	<i>Mate folium</i> mate (paragvajski čaj)		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
83	<i>Matricariae aetheroleum</i> etarsko ulje kamilice		+
84	<i>Matricariae flos</i> cvast kamilice		+
85	<i>Melaleucae aetheroleum</i> etarsko ulje čajnog drveta (čajevca)		+ / LE
86	<i>Meliloti herba</i> herba ždraljevine (kokoca)		+
87	<i>Melissae folium</i> list matičnjaka		+
88	<i>Menthae piperitae aetheroleum</i> etarsko ulje pitome nane	+	+ / LE
89	<i>Menthae piperitae folium</i> list pitome nane		+
90	<i>Millefolii flos</i> cvast hajdučke trave		+
91	<i>Millefolii herba</i> herba hajdučke trave		+
92	<i>Myrrha</i> mira		+
93	<i>Myrtilli fructus recens</i> svež plod borovnice		+
94	<i>Myrtilli fructus siccus</i> osušen plod borovnice		+
95	<i>Oenotherae biennis oleum</i> ulje noćurka		+
96	<i>Oleae folium</i> list masline		+
97	<i>Ononidis radix</i> koren zečjeg trna		+
98	<i>Origani dictamni herba</i> herba kritskog origana		+
99	<i>Origani majoranae herba</i> herba majorana		+
100	<i>Orthosiphonis folium</i> list ortosifona (javanski čaj)		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
101	<i>Passiflorae herba</i> herba pasiflore (Hristovog cveća)		+
102	<i>Paulliniae semen</i> seme gvarane		+
103	<i>Pelargonii radix</i> koren južnoafričke muškatle		+
104	<i>Phaseoli fructus sine semine</i> mahuna pasulja bez semena		+
105	<i>Pilosellae herba cum radice</i> herba sa korenom zeče lobode		+
106	<i>Plantaginis lanceolatae folium</i> list muške bokvice		+
107	<i>Plantaginis ovatae semen</i> seme ispagule	+	
108	<i>Plantaginis ovatae seminis tegumentum</i> semenjača ispagule	+	
109	<i>Polygoni avicularis herba</i> herba troskota		+
110	<i>Polypodii rhizoma</i> rizom slatke paprati		+
111	<i>Primulae flos</i> cvet jagorčevine		+
112	<i>Primulae radix</i> koren jagorčevine		+
113	<i>Pruni africanae cortex</i> kora afričke šljive		+
114	<i>Psyllii semen</i> seme buačka (psilijuma)	+	
115	<i>Quercus cortex</i> kora hrasta		+
116	<i>Rhamni purshianaee cortex</i> kora kaskare (američke krušine)	+	
117	<i>Rhei radix</i> koren reuma (rabarbare)	+	
118	<i>Rhodiola roseae rhizoma et radix</i> rizom i koren rodiole		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
119	<i>Ribis nigri folium</i> list crne ribizle		+
120	<i>Ricini oleum</i> ricinusovo ulje	+	
121	<i>Rosae flos</i> cvet ruže		+
122	<i>Rosmarini aetheroleum</i> etarsko ulje ruzmarina		+
123	<i>Rosmarini folium</i> list ruzmarina		+
124	<i>Rubi idaei folium</i> list maline		+
125	<i>Rusci aculeati rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Rusci rhizoma</i>) rizom kostrike (veprine)		+
126	<i>Sabalis serrulatae fructus</i> plod sabal (testeraste sabal) palme	+	+
127	<i>Salicis cortex</i> kora vrbe	+	+
128	<i>Salviae officinalis folium</i> list žalfije		+
129	<i>Sambuci flos</i> cvet zove		+
130	<i>Sennae folium</i> list sene	+	
131	<i>Sennae fructus</i> plod sene	+	
132	<i>Sideritis herba</i> herba sideritisa		+ / LE
133	<i>Silybi mariani fructus</i> plod badelja (sikavice)		+
134	<i>Sisymbrii officinalis herba</i> herba strižuše (strižice)		+
135	<i>Soiae oleum raffinatum</i> sojino ulje, prečišćeno		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
136	<i>Solani dulcamarae stipites</i> stabljike razvodnika		+
137	<i>Solidaginis virgaureae herba</i> herba zlatnice		+
138	<i>Species diureticae</i> diuretički čaj		+
139	<i>Symphyti radix</i> koren gaveza		+
140	<i>Tanaceti parthenii herba</i> herba povratiča		+
141	<i>Taraxaci folium</i> list maslačka		+
142	<i>Taraxaci radix cum herba</i> (Ph. Eur.: <i>Taraxaci officinalis herba cum radice</i>) koren sa herbom maslačka		+
143	<i>Thymi aetheroleum</i> etarsko ulje timijana		+ / LE
144	<i>Thymi herba</i> herba timijana		+
145	<i>Thymi herba / Primulae radix</i> kombinacija herbe timijana i korena jagorčevine	+	+
146	<i>Tiliae flos</i> cvast lipe		+
147	<i>Tormentillae rhizoma</i> rizom srčenjaka		+
148	<i>Trigonellae foenugraeci semen</i> seme piskavice (grčko seme)		+
149	<i>Urticae folium</i> list koprive		+
150	<i>Urticae herba</i> herba koprive		+
151	<i>Urticae radix</i> koren koprive		+
152	<i>Uvae ursi folium</i> list planike (medveđeg grožđa)		+

	Biljna droga/preparat biljne droge/ kombinacija biljnih droga/čaj	Dobro poznata upotreba (WEU)	Tradicionalna upotreba (TU) / Unos u EU listu (LE)
153	<i>Valerianae aetheroleum</i> etarsko ulje valerijane		+
154	<i>Valerianae radix</i> koren valerijane	+	+ / LE
155	<i>Valerianae radix / Lupuli flos</i> kombinacija korena valerijane i cvasti hmelja	+	+
156	<i>Verbasci flos</i> cvet divizme		+
157	<i>Violae herba cum flore</i> herba sa cvetom ljubičice dan i noć		+
158	<i>Vitis viniferae folium</i> list vinove loze	+	+ / LE
159	<i>Zingiberis rhizoma</i> rizom đumbira	+	+

Terapijske oblasti i indikacije za dobro poznatu upotrebu (WEU) odobrene u finalnim monografijama EU

U radu je dat prikaz terapijskih oblasti i indikacija za biljne lekove sa dobro poznatom upotrebotom (WEU) (Tabele II-IX), koji se izrađuju od biljnih droga, preparata biljnih droga i njihovih kombinacija za koje je *HMPG* do sada izdao finalne monografije (dostupne su na web-sajtu *EMA* zaključno sa julom 2019. god.) (8). U tabelama su navedene samo biljne droge, a ne i njihovi preparati od kojih se izrađuju biljni lekovi.

Prema navedenim finalnim monografijama EU, najčešće odobrena terapijska oblast za dobro poznatu upotrebu (WEU) je opstipacija ($n^3=12$). Sledi kašalj i prehlada ($n=3$), poremećaji urinarnog trakta i ginekološki poremećaji ($n=3$), poremećaji cirkulacije ($n=3$), bol i inflamacija ($n=3$), gastrointestinalni poremećaji ($n=2$), mentalni stres i poremećaji raspoloženja ($n=2$) i poremećaji spavanja i kratkotrajna nesanica ($n=2$) (8, 14, 16-41).

³ n – broj biljnih droga, preparata biljnih droga i njihovih kombinacija

Tabela II Terapijska oblast: Mentalni stres i poremećaji raspoloženja (14, 16)**Table II** Therapeutic area: Mental stress and mood disorders (14, 16)

Indikacije	Biljna droga
Za tretman blagih do umerenih depresivnih epizoda (prema ICD-10).	<i>Hyperici herba</i>
Za kratkotrajni tretman simptoma blagih depresivnih poremećaja.	
Za ublažavanje blage nervne napetosti	<i>Valerianae radix</i>

Tabela III Terapijska oblast: Poremećaji spavanja i kratkotrajna nesanica (16, 17)**Table III** Therapeutic area: Sleep disorders and temporary insomnia (16, 17)

Indikacija	Biljna droga / kombinacija biljnih droga
Za ublažavanje poremećaja spavanja	<i>Valerianae radix,</i> <i>Valerianae radix / Lupuli flos</i>

Tabela IV Terapijska oblast: Kašalj i prehlada (18-20)**Table IV** Therapeutic area: Cough and cold (18-20)

Indikacija	Biljna droga / kombinacija biljnih droga
Koristi se kao ekspektorans kod produktivnog kašlja	<i>Hederae helicis folium</i> (Ph. Eur.: <i>Hederae folium</i>), <i>Thymi herba / Primulae radix</i>
Za kratkotrajnu prevenciju i tretman obične prehlade	<i>Echinaceae purpureae herba</i>

Tabela V Terapijska oblast: Gastrointestinalni poremećaji (21, 22)**Table V** Therapeutic area: Gastrointestinal disorders (21, 22)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za simptomatsko ublažavanje manjih grčeva u gastrointestinalnom traktu, flatulencije i abdominalnog bola, naročito kod pacijenata sa sindromom iritabilnog kolona	<i>Menthae piperitae aetheroleum</i>
Za prevenciju mučnine i povraćanja tokom vožnje (kod kinetoza)	<i>Zingiberis rhizoma</i>

Tabela VI Terapijska oblast: Opstipacija (23-33)**Table VI** Therapeutic area: Constipation (23-33)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za kratkotrajnu upotrebu kod povremenih opstipacija	<i>Aloes folii succus siccatus (Aloe), Frangulae cortex, Rhamni purshianaee cortex, Rhei radix, Sennae folium, Sennae fructus, Ricini oleum</i>
Za tretman uobičajene opstipacije ili u stanjima u kojima je poželjna laka defekacija meke stolice (npr. u slučajevima bolne defekacije posle hirurških intervencija u predelu rektuma ili analnog otvora, analnih fisura ili hemoroida)	<i>Lini semen, Plantaginis ovatae semen, Plantaginis ovatae seminis tegumentum, Psyllii semen</i>
Kod pacijenata kojima je savetovan povećan dnevni unos vlakana (npr. kao adjuvans kod sindroma iritabilnog kolona gde je dominantni simptom opstipacija ili kao dopuna ishrani kod hiperholesterolemije)	<i>Plantaginis ovatae seminis tegumentum</i>

Tabela VII Terapijska oblast: Poremećaji urinarnog trakta i ginekološki poremećaji (34-36)**Table VII** Therapeutic area: Urinary tract and genital disorders (34-36)

Indikacija	Biljna droga
Za ublažavanje tegoba u menopauzi, kao što su talasi vrućine (valunzi) i preznojanje	<i>Cimicifugae rhizoma</i>
Za tretman premenstrualnog sindroma	<i>Agni casti fructus</i>
Za simptomatski tretman benigne hiperplazije prostate	<i>Sabalis serrulatae fructus</i>

Tabela VIII Terapijska oblast: Poremećaji cirkulacije (37-39)**Table VIII** Therapeutic area: Circulatory disorders (37-39)

Indikacija	Biljna droga
Za ublažavanje (sa starošću povezanog) kognitivnog oštećenja i za poboljšanje kvaliteta života kod blage demencije	<i>Ginkgo folium</i> (Ph. Eur.: <i>Ginkgonis folium</i>)
Za tretman hronične venske insuficijencije koju karakterišu otečene noge, varikozne vene, osećaj težine, bol, zamor, svrab, napetost i grčevi u listovima	<i>Hippocastani semen,</i> <i>Vitis viniferae folium</i>

Tabela IX Terapijska oblast: Bol i inflamacija (21, 40, 41)**Table IX** Therapeutic area: Pain and inflammation (21, 40, 41)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za ublažavanje bolova u mišićima kao što je bol u donjem delu leđa	<i>Capsici fructus</i>
Za kratkorajni tretman bola u donjem delu leđa	<i>Salicis cortex</i>
Za simptomatsko ublažavanje blage tenzione glavobolje	<i>Menthae piperitae aetheroleum</i>

Terapijske oblasti i indikacije za tradicionalnu upotrebu (TU) odobrene u finalnim monografijama EU

U radu je dat prikaz terapijskih oblasti i indikacija za tradicionalne biljne lekove (Tabele X-XXIV), koji se izrađuju od biljnih droga, preparata biljnih droga i njihovih kombinacija za koje je *HMPG* do sada izdao finalne monografije (dostupne su na web-sajtu *EMA* zaključno sa julom 2019. god.) (8). U tabelama su navedene samo biljne droge, a ne i njihovi preparati od kojih se izrađuju tradicionalni biljni lekovi.

Prema navedenim finalnim monografijama EU, najčešće odobrena terapijska oblast za tradicionalnu upotrebu (TU) su gastrointestinalni poremećaji ($n=52$). Slede zatim kašalj i prehlada ($n=38$), poremećaji urinarnog trakta i ginekološki poremećaji ($n=36$), kožni poremećaji i manje rane ($n=36$), poremećaji usne duplje i ždrela ($n=23$), poremećaji cirkulacije ($n=20$), bol i inflamacija ($n=17$), mentalni stres i poremećaji raspoloženja ($n=15$), gubitak apetita ($n=12$), poremećaji spavanja i kratkotrajna nesanica ($n=11$), umor i slabost ($n=8$), opstipacija ($n=1$) i nelagodnost u oku ($n=1$) (8, 15-17, 19-22, 30, 35-39, 41-173).

Tabela X Terapijske oblasti: Mentalni stres i poremećaji raspoloženja.
Poremećaji spavanja i kratkotrajna nesanica. (16, 17, 42-50)

Table X Therapeutic area: Mental stress and mood disorders.
Sleep disorders and temporary insomnia. (16, 17, 42-50)

Indikacije	Biljna droga / kombinacija biljnih droga / preparat biljne droge
Za ublažavanje blagih simptoma mentalnog stresa.	<i>Avenae herba, Crataegi folium cum flore, Eschscholzia herba, Lavandulae aetheroleum, Lavandulae flos, Lupuli flos, Melissae folium, Passiflorae herba, Valeriana aetheroleum, Valeriana radix, Valeriana radix / Lupuli flos</i>
Za olakšavanje uspavljivanja.	

Tabela XI Terapijska oblast: Mentalni stres i poremećaji raspoloženja (15, 51, 52)

Table XI Therapeutic area: Mental stress and mood disorders (15, 51, 52)

Indikacije	Biljna droga
Za ublažavanje blagih simptoma mentalnog stresa	<i>Tiliae flos</i>
Za ublažavanje simptoma nervne napetosti	<i>Leonuri cardiacae herba</i>
Za ublažavanje kratkotrajne mentalne iscrpljenosti	<i>Hyperici herba</i>

Tabela XII Terapijske oblasti: Mentalni stres i poremećaji raspoloženja.
Umor i slabost. (53)

Table XII Therapeutic area: Mental stress and mood disorders.
Fatigue and weakness. (53)

Indikacija	Biljna droga
Za privremeno ublažavanje simptoma stresa, kao što su umor i osećaj slabosti	<i>Rhodiolae roseae rhizoma et radix</i>

Tabela XIII Terapijska oblast: Umor i slabost (54-60)

Table XIII Therapeutic area: Fatigue and weakness (54-60)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za ublažavanje simptoma astenije, kao što su umor i slabost	<i>Eleutherococci radix, Ginseng radix</i>
Za ublažavanje umora i osećaja slabosti	<i>Camelliae sinensis non fermentatum folium, Colae semen, Mate folium, Paulliniae semen, Lecithinum ex soya</i>

Tabela XIV Terapijska oblast: Kašalj i prehlada (19, 21, 41, 51, 61-86)**Table XIV** Therapeutic area: Cough and cold (19, 21, 41, 51, 61-86)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Koristi se kao ekspektorans kod kašla povezanog sa prehladom	<i>Anisi aetheroleum, Anisi fructus, Foeniculi amari fructus aetheroleum, Foeniculi amari fructus, Foeniculi dulcis fructus, Liquiritiae radix, Marrubii herba, Polypodii rhizoma, Primulae flos, Primulae radix, Thymi aetheroleum, Thymi herba, Thymi herba / Primulae radix</i>
Za ublažavanje kašla povezanog sa prehladom	<i>Eucalypti aetheroleum, Eucalypti folium, Grindeliae herba, Origani dictamni herba, Sideritis herba</i>
Za ublažavanje simptoma kod kašla i prehlade	<i>Menthae piperitae aetheroleum, Thymi aetheroleum</i>
Za ublažavanje groznice povezane sa običnom prehladom	<i>Salicis cortex</i>
Za pomoći tretman (ublažavanje simptoma) obične prehlade	<i>Echinaceae angustifoliae radix, Echinaceae pallidae radix, Echinaceae purpureae radix, Filipendulae ulmariae flos, Filipendulae ulmariae herba, Matricariae flos, Pelargonii radix, Polygoni avicularis herba, Sambuci flos, Tiliae flos</i>

Tabela XV Terapijske oblasti: Kašalj i prehlada. Poremećaji usne duplje i ždrela. (87-93)**Table XV** Therapeutic area: Cough and cold. Mouth and throat disorders. (87-93)

Indikacija	Biljna droga
Koristi se kao demulcentno sredstvo za simptomatski tretman iritacije usne duplje i ždrela i udružen suvi kašalj	<i>Althaea radix, Lichen islandicus, Malvae folium, Malvae sylvestris flos, Plantaginis lanceolatae folium</i>
Koristi se za ublažavanje simptoma upale grla povezane sa suvim kašljem i prehladom	<i>Verbasci flos</i>
Za ublažavanje simptoma iritacije grla kao što su promuklost i suvi kašalj	<i>Sisymbrii officinalis herba</i>

Tabela XVI Terapijska oblast: Gastrointestinalni poremećaji (15, 22, 30, 48, 61, 62, 64-67, 76, 77, 83, 87, 89, 90, 94-127)

Table XVI Therapeutic area: Gastrointestinal disorders (15, 22, 30, 48, 61, 62, 64-67, 76, 77, 83, 87, 89, 90, 94-127)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za tretman blagih dispeptičnih tegoba, kao što su nadimanje i flatulencija	<i>Absinthii herba, Carvi aetheroleum, Carvi fructus, Centaurii herba, Gentianae radix, Harpagophytii radix, Juniperi aetheroleum, Juniperi pseudo-fructus</i> (Ph. Eur.: <i>Juniperi galbulus</i>), <i>Marrubii herba, Melissae folium, Menthae piperitae folium</i>
Za tretman blagih dispeptičnih tegoba, kao što su nadimanje i flatulencija i manji grčevi	<i>Anisi aetheroleum, Anisi fructus, Boldi folium, Chamomillae romanae flos, Cinnamomi cortex aetheroleum</i> (Ph. Eur.: <i>Cinnamomi zeylanici corticis aetheroleum</i>), <i>Cinnamomi cortex, Foeniculi amari fructus, Foeniculi dulcis fructus, Matricariae flos, Millefolii flos, Millefolii herba, Origani majoranae herba, Rosmarini aetheroleum, Rosmarini folium, Zingiberis rhizoma</i>
Za simptomatski tretman blagih dispeptičnih tegoba, kao što su gorušica i nadimanje	<i>Salviae officinalis folium</i>
Za ublažavanje digestivnih simptoma, uključujući osećaj pečenja i dispepsiju	<i>Liquiritiae radix</i>
Za simptomatsko ublažavanje blagog gastrointestinalnog diskomfora	<i>Hyperici herba, Origani dictamni herba, Sideritis herba</i>
Demulcentno sredstvo za simptomatsko ublažavanje blagog gastrointestinalnog diskomfora	<i>Althaeae radix, Lini semen, Malvae folium, Malvae sylvestris flos</i>
Za simptomatski tretman digestivnih poremećaja, kao što su dispepsija sa osećajem punoće u stomaku, sporo varenje, nadimanje i flatulencija	<i>Cichorii intybi radix, Curcumae longae rhizoma, Curcumae xanthorrhizae rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Curcumae zanthorrhizae rhizoma</i>), <i>Cynarae folium, Fumariae herba, Helichrysi flos, Taraxaci radix cum herba</i>
Za simptomatsko ublažavanje digestivnih poremećaja, kao što su osećaj punoće u stomaku i sporo varenje i za poboljšanje funkcije jetre, nakon što je lekar isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Silybi mariani fructus</i>
Za simptomatski tretman blage dijareje	<i>Agrimoniae herba, Cinnamomi cortex, Fragariae folium, Myrtilli fructus siccus, Quercus cortex, Rubi idaei folium, Tormentillae rhizoma</i>
Koristi se kao adjuvans niskokaloričnoj hrani za smanjenje težine kod odraslih gojaznih osoba	<i>Fucus vesiculosus, thallus</i>
Za simptomatsko ublažavanje mučnine tokom vožnje	<i>Zingiberis rhizoma</i>

Tabela XVII Terapijska oblast: Gubitak apetita (67, 88, 94, 97, 98, 99, 107, 108, 113, 119, 128, 129)

Table XVII Therapeutic area: Loss of appetite (67, 88, 94, 97, 98, 99, 107, 108, 113, 119, 128, 129)

Indikacija	Biljna droga
Za upotrebu kod privremenog gubitka apetita	<i>Absinthii herba, Arctii radix, Centaurii herba, Cichorii intybi radix, Gentianae radix, Harpagophytii radix, Lichen islandicus, Marrubii herba, Millefolii flos, Millefolii herba, Taraxaci radix cum herba, Trigonellae foenumgraeci semen</i>

Tabela XVIII Terapijska oblast: Opstipacija (68)

Table XVIII Therapeutic area: Constipation (68)

Indikacija	Biljna droga
Za kratkotrajnu upotrebu kod povremenih opstipacija	<i>Polypodii rhizoma</i>

Tabela XIX Terapijska oblast: Poremećaji urinarnog trakta i ginekološki poremećaji (35, 36, 58, 64, 65, 85, 100, 101, 107, 108, 119, 122, 125, 128, 130-151)

Table XIX Therapeutic area: Urinary tract and genital disorders (35, 36, 58, 64, 65, 85, 100, 101, 107, 108, 119, 122, 125, 128, 130-151)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge / čaj
Za povećanje renalne eliminacije vode, u blagim slučajevima retencije vode, nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Oleae folium</i>
Za povećanje količine urina u cilju ispiranja urinarnog trakta kao adjuvans kod blagih urinarnih tegoba	<i>Agropyri repentis rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Graminis rhizoma</i>), <i>Arctii radix</i> , <i>Betulae folium</i> , <i>Equiseti herba</i> , <i>Fragariae folium</i> , <i>Fraxini folium</i> , <i>Juniperi aetheroleum</i> , <i>Juniperi pseudo-fructus</i> (Ph. Eur.: <i>Juniperi galbulus</i>), <i>Levistici radix</i> , <i>Mate folium</i> , <i>Ononis radix</i> , <i>Orthosiphonis folium</i> , <i>Phaseoli fructus sine semine</i> , <i>Pilosellae herba cum radice</i> , <i>Polygoni avicularis herba</i> , <i>Ribis nigri folium</i> , <i>Solidaginis virgaureae herba</i> , <i>Species diureticae</i> , <i>Taraxaci folium</i> , <i>Taraxaci radix cum herba</i> , <i>Urticae folium</i> , <i>Urticae herba</i>
Za ublažavanje simptoma blagih rekurentnih infekcija donjeg urinarnog trakta, kao što su osećaj pečenja tokom uriniranja i/ili često uriniranje kod žena, nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Uvae ursi folium</i>
Za ublažavanje blagih simptoma u danima pre menstruacije (premenstrualni sindrom)	<i>Agni casti fructus</i>
Za simptomatski tretman manjih grčeva vezanih za menstrualni ciklus	<i>Foeniculi amari fructus</i> , <i>Foeniculi dulcis fructus</i> , <i>Millefolii flos</i> , <i>Millefolii herba</i> , <i>Rubi idaei folium</i>
Za smanjenje obilnog menstrualnog krvarenja kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusima, nakon što je lekar isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Bursae pastoris herba</i>
Za ublažavanje simptoma donjeg urinarnog trakta vezanih za benignu hiperplaziju prostate, nakon što je lekar isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Cucurbitae semen</i> , <i>Epilobii herba</i> , <i>Pruni africanae cortex</i> , <i>Sabalis serrulatae fructus</i> , <i>Urticae radix</i>

Tabela XX Terapijska oblast: Poremećaji cirkulacije (37-39, 43, 52, 110, 111, 124, 152-157)**Table XX** Therapeutic area: Circulatory disorders (37-39, 43, 52, 110, 111, 124, 152-157)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za ublažavanje osećaja težine u nogama i hladnoće šaka i stopala vezanih za manje poremećaje cirkulacije, nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Ginkgo folium</i> (Ph. Eur.: <i>Ginkgonis folium</i>)
Za ublažavanje manjih poremećaja periferne cirkulacije	<i>Rosmarini aetheroleum,</i> <i>Rosmarini folium</i>
Za ublažavanje diskomfora i osećaja težine u nogama, vezanih za manje poremećaje venske cirkulacije	<i>Hippocastani cortex,</i> <i>Hippocastani semen,</i> <i>Meliloti herba,</i> <i>Myrtilli fructus recens,</i> <i>Rusci aculeati rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Rusci rhizoma</i>), <i>Vitis viniferae folium</i>
Za ublažavanje simptoma kratkotrajne „nervoze srca” (kao što je npr. palpitacija, odnosno osećaj ubrzanog rada srca, povezan sa blagom anksioznošću), nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Crataegi folium cum flore,</i> <i>Leonuri cardiaca herba</i>
Za ublažavanje simptoma krtosti kapilara kože	<i>Myrtilli fructus recens,</i> <i>Vitis viniferae folium</i>
Za ublažavanje svraba i peckanja kod hemoroida, nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Hamamelidis cortex,</i> <i>Hamamelidis folium,</i> <i>Hippocastani cortex,</i> <i>Quercus cortex,</i> <i>Rusci aculeati rhizoma</i> (Ph. Eur.: <i>Rusci rhizoma</i>), <i>Vitis viniferae folium</i>
Za primenu kod modrica, za smanjivanje lokalnog edema i hematoma	<i>Hippocastani semen</i>

Tabela XXI Terapijska oblast: Poremećaji usne duplje i ždrela (83, 85, 112, 121, 123-126, 156-162)

Table XXI Therapeutic area: Mouth and throat disorders (83, 85, 112, 121, 123-126, 156-162)

Indikacija	Biljna droga
Za simptomatski tretman manjih inflamacija sluzokože usne duplje / i ždrela	<i>Hamamelidis cortex, Hamamelidis folium, Melaleucae aetheroleum, Myrtilli fructus siccus, Quercus cortex, Tormentillae rhizoma / Agrimoniae herba, Calendulae flos, Caryophylii floris aetheroleum, Polygoni aviculalis herba, Rosae flos, Rubi idaei folium, Salviae officinalis folium</i>
Za tretman manjih ulceracija i inflamacija sluzokože usne duplje i ždrela	<i>Matricariae flos</i>
Za tretman manjih ulceracija i inflamacija u usnoj duplji (stomatitis i gingivitis)	<i>Myrrha</i>
Za privremeno ublažavanje zubobolje	<i>Caryophylii floris aetheroleum</i>

Tabela XXII Terapijska oblast: Kožni poremećaji i manje rane (15, 20, 21, 76, 80, 83, 107-109, 112, 121, 124, 128, 129, 133, 145, 153, 156-159, 161-170)

Table XXII Therapeutic area: Skin disorders and minor wounds (15, 20, 21, 76, 80, 83, 107-109, 112, 121, 124, 128, 129, 133, 145, 153, 156-159, 161-170)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za tretman seboroične kože	<i>Arctii radix, Urticae herba, Violae herba cum flore</i>
Za tretman malih površinskih rana	<i>Echinaceae purpureae herba, Equiseti herba, Millefolii flos, Millefolii herba</i>
Za tretman malih površinskih rana i ujeda insekata	<i>Melaleucae aetheroleum</i>
Za tretman manjih rana i malih čireva (furunkula)	<i>Myrrha</i>
Za tretman manjih inflamacija kože	<i>Trigonellae foenugraeci semen, Juglandis folium, Meliloti herba, Quercus cortex, Rosae flos, Salviae officinalis folium</i>

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za tretman manjih inflamacija kože (kao što su opeketine od sunca) i manjih rana	<i>Agrimoniae herba, Avenae fructus, Calendulae flos, Hyperici herba</i>
Za tretman manjih inflamacija kože (kao što su opeketine od sunca), površinskih rana i malih čireva (furunkula)	<i>Matricariae flos</i>
Za tretman manjih inflamacija kože i modrica	<i>Origani dictamni herba</i>
Za ublažavanje manjih inflamacija kože i suvoće kože	<i>Hamamelidis cortex, Hamamelidis folium, Hamamelidis folium et cortex aut ramunculus destillatum</i>
Za tretman malih čireva (furunkula i manjih akni)	<i>Melaleucae aetheroleum</i>
Za tretman manjih akni	<i>Echinaceae purpureae radix</i>
Za ublažavanje simptoma kod blagih rekurentnih ekcema	<i>Solani dulcamarae stipites</i>
Za simptomatsko ublažavanje stanja suve kože povezanog sa blagim rekurentnim ekcemom	<i>Soiae oleum raffinatum</i>
Za simptomatsko ublažavanje svraba kod akutnih i hroničnih stanja suve kože	<i>Oenotherae biennis oleum</i>
Za ublažavanje lokalizovanog svraba neozleđene kože	<i>Menthae piperitae aetheroleum</i>
Za ublažavanje iritacije kože i sluzokože analne i genitalne regije	<i>Matricariae flos, Matricariae aetheroleum</i>
Za ublažavanje iritacije kože oko nozdrva	<i>Origani majoranae herba</i>
Za ublažavanje svraba i iritacije kod blažeg atletskog stopala	<i>Melaleucae aetheroleum</i>
Za upotrebu kod prekomernog znojenja šaka i stopala	<i>Juglandis folium</i>
Za ublažavanje prekomernog znojenja	<i>Salviae officinalis folium</i>

Tabela XXIII Terapijska oblast: Nelagodnost u oku (166)

Tabela XXIII Therapeutic area: Eye discomfort (166)

Indikacija	Preparat biljne droge
Za privremeno ublažavanje nelagodnosti u oku usled suvoće oka ili usled izloženost vetrui ili suncu	<i>Hamamelidis folium et cortex aut ramunculus destillatum</i>

Tabela XXIV Terapijska oblast: Bol i inflamacija (21, 41, 73, 81, 82, 99, 100, 110, 111, 134, 140, 144, 145, 171-173)

Table XXIV Therapeutic area: Pain and inflammation (21, 41, 73, 81, 82, 99, 100, 110, 111, 134, 140, 144, 145, 171-173)

Indikacija	Biljna droga / preparat biljne droge
Za ublažavanje modrica i uganuća	<i>Symphyti radix</i>
Za ublažavanje modrica, uganuća i lokalizovanog bola u mišićima	<i>Arnicae flos</i>
Za ublažavanje lokalizovanog bola u mišićima	<i>Eucalypti aetheroleum,</i> <i>Menthae piperitae aetheroleum</i>
Za ublažavanje manjih bolova u zglobovima	<i>Filipendulae ulmariae flos,</i> <i>Filipendulae ulmariae herba,</i> <i>Fraxini folium,</i> <i>Harpagophyti radix,</i> <i>Ribis nigri folium, Salicis cortex,</i> <i>Urticae folium, Urticae herba</i>
Za ublažavanje manjih bolova u mišićima i zglobovima	<i>Rosmarini aetheroleum,</i> <i>Rosmarini folium,</i> <i>Juniperi aetheroleum</i>
Za upotrebu kod glavobolje	<i>Salicis cortex</i>
Za prevenciju migrenozne glavobolje, nakon što je lekar prethodno isključio postojanje ozbiljnih zdravstvenih poremećaja	<i>Tanaceti parthenii herba</i>

Biljni i tradicionalni biljni lekovi odobreni za stavljanje u promet u Republici Srbiji

U Republici Srbiji stavljanje u promet biljnih i tradicionalnih biljnih lekova vrši se pri Agenciji za lekove i medicinska sredstva Srbije (ALIMS), počev od 2007. god. Izdavanje dozvola za stavljanje u promet biljnih lekova i upis u Registar tradicionalnih biljnih lekova vrše se u skladu sa Zakonom o lekovima i medicinskim sredstvima Republike Srbije (5) i Pravilnikom o bližim uslovima i načinu upisa leka u Registar tradicionalnih biljnih, odnosno homeopatskih lekova (6), koji su usaglašeni sa evropskom legislativom.

U Tabelama XXV i XXVI dat je pregled biljnih i tradicionalnih biljnih lekova (nazivi, farmaceutski oblici i aktivni sastojci) koji su odobreni za stavljanje u promet u našoj državi (informacije su preuzete sa sajta ALIMS zaključno sa julom 2019. god.) (175). Najveći broj biljnih i tradicionalnih biljnih lekova registrovanih u našoj državi namenjen je za primenu kod različitih respiratornih poremećaja. Od najčešće zastupljenih terapijskih oblasti slede zatim gastrointestinalni poremećaji, opstipacija, poremećaji cirkulacije, poremećaj spavanja i kratkotrajna nesanica i mentalni stres.

Tabela XXV Biljni lekovi koji imaju dozvole za stavljanje u promet u Republici Srbiji (175)

Table XXV Herbal medicinal products authorised in the Republic of Serbia (175)

Naziv leka, farmaceutski oblik; aktivni sastojak/ci	Indikacija
Persen® NIGHT, obložena tableta; suvi ekstrakt korena valerijane, <i>Valeriana officinalis</i>	Za ublažavanje poremećaja spavanja i blagih simptoma nervne napetosti.
GeloMyrtol® forte, gastrorezistentna kapsula, meka; destilat smeše etarskih ulja eukaliptusa, <i>Eucalypti aetheroleum</i> , slatke narandže, <i>Aurantii dulcis aetheroleum</i> , mirte, <i>Myrti aetheroleum</i> i limuna, <i>Limonis aetheroleum</i>	Koristi se kao pomoć u iskašljavanju kod akutnog i hroničnog bronhitisa i sinuzitisa
Sinupret® sirup, sirup;* Sinupret® forte, obložena tableta;** *tečni ekstrakt mešavine: **prašak: korena lincure, <i>Gentiana lutea</i> , cveta jagorčevine, <i>Primula veris</i> i/ili <i>P. elatior</i> , herbe kiselog zelja, <i>Rumex acetosa</i> , cveta zove, <i>Sambucus nigra</i> i herbe verbene, <i>Verbena officinalis</i>	Za ublažavanje simptoma zapaljenja paranasalnih sinusa

Naziv leka, farmaceutski oblik; aktivni sastojak/ci	Indikacija
HEDELIX® , sirup; meki ekstrakt lista bršljana, <i>Hedera helix</i> Bronhoklirsyrups® bršljan, sirup; Prospan® , pastila; Prospan® , sirup; Prospan® , šumeća tableta; Prospan® Liquid , oralni rastvor; Prospan® kapi, oralne kapi; Sirup bršljana Bocko® , sirup; Tuspan® , sirup; Herbion® sirup od bršljana, sirup; Mucoplant sirup za kašalj sa ekstraktom bršljana, oralni rastvor; suvi ekstrakt lista bršljana, <i>Hedera helix</i>	Koristi se kao ekspektorans kod produktivnog kašlja
Bronchipret® , oralni rastvor; tečni ekstrakti herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i ili <i>Thymus zygis</i> i lista bršljana, <i>Hedera helix</i>	Ublažavanje simptoma akutnog bronhitisa sa produktivnim kašljem
Bekunis® , biljni čaj; list sene, <i>Cassia senna/C. angustifolia</i> Bekunis® , instant biljni čaj; suvi vodeni ekstrakt ploda sene, <i>Cassia senna/C. angustifolia</i> Bekunis® , gastrorezistentna tableta; suvi ekstrakt ploda tinevelijske sena, <i>Cassia angustifolia</i> EUCARBON® herbal, tableta; list sene, <i>Cassia angustifolia</i> , suvi ekstrakt korena rabarbare, <i>Rheum palmatum</i> i ili <i>R. officinale</i> , drveni ugalj, <i>Carbo ligni</i>	Za kratkotrajnu upotrebu kod povremenih opstipacija
Mucofalk® Pomorandža, granule za oralnu suspenziju; semenača semena <i>Plantago ovata</i>	Kod opstipacije ili u stanjima u kojima je poželjna laka defekacija meke stolice ili kod pacijenata kojima je savetovan povećan dnevni unos vlakana
Essentiale® forte N, kapsula, tvrda; fosfolipidi semena soje, <i>Glycine max</i>	Za ublažavanje bolesti jetre, kao pomoćna terapija

Naziv leka, farmaceutski oblik; aktivni sastojak/ci	Indikacija
Iberogast®, oralne kapi, rastvor; tečni ekstrakti cele sveže biljke divlji renac, <i>Iberis amara</i> , korena andželike, <i>Angelica arhangelica</i> , lista matičnjaka, <i>Melissa officinalis</i> , ploda kima, <i>Carum carvi</i> , herbe ruse, <i>Chelidonium majus</i> , korena sladića, <i>Glycyrrhiza glabra</i> , cvasti kamilice, <i>Matricaria recutita</i> , lista nane, <i>Mentha piperita</i> , ploda badelja (gujine trave), <i>Silybum marianum</i>	U terapiji stomačnih i crevnih tegoba kod funkcionalne dispepsije i sindroma iritabilnog creva
Prostamol® uno, kapsula, meka; meki ekstrakt ploda sabal (male testeraste) palme, <i>Serenoa repens</i>	Koristi se kod teškoća prilikom uriniranja kod benigne hiperplazije prostate stadijuma I i II
Remifemin®, tableta; suvi ekstrakt rizoma cimicifuge, <i>Cimicifuga racemosa</i>	Koristi se za olakšavanje tegoba u menopauzi kao što su valunzi i pojačano znojenje
Veregen®, mast; suvi ekstrakt lista zelenog čaja, <i>Camellia sinensis</i>	Za lokalnu terapiju spoljašnjih genitalnih i perianalnih bradavica (<i>Condylomata acuminata</i>)
Bilobil® kapsula, tvrda; Bilobil® forte, kapsula, tvrda; Bilobil® intense, kapsula, tvrda; suvi ekstrakt lista ginka, <i>Ginkgo biloba</i>	Za poboljšanje kognitivnih poremećaja (povezanih sa godinama života) i kvaliteta života kod blagih oblika demencije
Tanakan®, obložena tableta; Tebokan®, film tableta; Tebokan®Forte, film tableta; suvi ekstrakt lista ginka, <i>Ginkgo biloba</i>	Sindrom demencije. Periferna arterijska okluzivna bolest (intermitentna klaudikacija). ⁴ Vrtoglavica. ⁴ Zujanje u ušima (tinitus). ⁴

⁴ Indikacije za biljne lekove na bazi suvog ekstrakta lista ginka: periferna arterijska okluzivna bolest, vrtoglavica i tinitus, navedene npr. u ESCOP monografiji za list ginka (176), ne navode se u monografiji EU za list ginka objavljenoj 2015. god., jer je najnovija analiza do sada sprovedenih kliničkih studija pokazala da ipak nema dovoljno kliničkih dokaza o efikasnosti primene ekstrakta u ovim indikacionim područjima (37, 177).

Tabela XXVI Tradicionalni biljni lekovi koji su registrovani u Republici Srbiji (175)**Table XXVI** Traditional herbal medicinal products registered in the Republic of Serbia (175)

Naziv leka, farmaceutski oblik; aktivni sastojak/ci	Indikacija
Person®, obložena tableta; Person® forte, kapsula, tvrdá; suvi ekstrakti korena valerijane, <i>Valeriana officinalis</i> , lista matičnjaka, <i>Melissa officinalis</i> i lista nane, <i>Mentha piperita</i> Person® forte N, kapsula, tvrdá; suvi ekstrakti korena valerijane, <i>Valeriana officinalis</i> i herbe pasiflore, <i>Passiflora incarnata</i>	Za ublažavanje simptoma blagog psihičkog stresa i kao pomoć kod nesanice
Sedacur®, obložena tableta; suvi ekstrakti korena valerijane, <i>Valeriana officinalis</i> , cvasti hmelja, <i>Humulus lupulus</i> i lista matičnjaka, <i>Melissa officinalis</i>	Koristi se kod uznemirenosti i nervoze koja dovodi do poteškoća pri uspavljanju
Vitango®, film tableta; suvi ekstrakt korena i rizoma rodiole (zlatnog korena), <i>Rhodiola rosea</i>	Za privremeno ublažavanje simptoma stresa, kao što su umor i osećaj iscrpljenosti
Bronchicum® pastile, komprimovana lozenga; Bronchicum® sirup S, sirup; tečni ekstrakt herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> Bronchostop® pastile, pastila; suvi ekstrakt herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> Bronchicum® eliksir S, oralni rastvor; tečni ekstrakti herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> i korena jagorčevine, <i>Primula veris</i> i/ili <i>P. elatior</i> Herbion® sirup od jagorčevine, sirup; tečni ekstrakti korena jagorčevine, <i>Primula veris</i> i/ili <i>P. elatior</i> i herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> Tussavit, sirup; tečni ekstrakti herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> i lista muške bokvice, <i>Plantago lanceolata</i>	Koristi se kao ekspektorans kod kašla povezanog sa prehladom
Bronchostop® sine sirup, sirup; suvi ekstrakt herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> i tečni ekstrakt korena belog sleza, <i>Althaea officinalis</i> Bronchostop® sirup, sirup; tečni ekstrakti herbe timijana, <i>Thymus vulgaris</i> i/ili <i>T. zygis</i> i korena belog sleza, <i>Althaea officinalis</i>	Koristi se kao demulcent za ublažavanje iritacije grla i kao ekspektorans kod kašla povezanog sa prehladom

Naziv leka, farmaceutski oblik; aktivni sastojak/ci	Indikacija
Herbion® sirup od islandskog lišaja, sirup; meki ekstrakt talusa islandskog lišaja, <i>Cetraria islandica</i> Herbion® sirup od bokvice, sirup; tečni ekstrakt lista muške bokvice, <i>Plantago lanceolata</i> , cveta crnog sleza, <i>Malva sylvestris</i> i askorbinska kiselina Mucoplant, sirup; tečni ekstrakt lista muške bokvice, <i>Plantago lanceolata</i>	Za simptomatsku terapiju iritacije sluzokože usne duplje i ždrela povezane sa suvim kašljem
Resistol®, oralne kapi, rastvor; Umckalor®, film tableta; Umckalor®, oralne kapi, rastvor; tečni ekstrakt korena južnoafričke muškatle, <i>Pelargonium sidoides</i>	Koristi se za simptomatsku terapiju prehlade
Gastritol® Liquid, oralna tečnost; tečni ekstrakti herbe belog pelena, <i>Artemisia absinthium</i> , korena anđelike, <i>Angelica archangelica</i> , cvasti kamilice, <i>Matricaria recutita</i> , herbe steže, <i>Potentilla anserina</i> , korena sladića, <i>Glycyrrhiza glabra</i> i herbe blaženog čkalja, <i>Cnicus benedictus</i>	Za olakšavanje blagih tegoba sa varenjem, kao što su osećaj nadutosti i nadimanje i blaži grčevi
Cynarix®, obložena tableta; suvi ekstrakt lista artičoke, <i>Cynara scolymus</i>	Za terapiju digestivnih poremećaja kao što je dispepsija praćena osećajem nadutosti, nadimanjem i gasovima
Favora® Silymarin, kapsula, tvrda; Carsil®, kapsula, tvrda; Carsil®, obložena tableta; suvi ekstrakt ploda sikavice, <i>Silybum marianum</i>	Za adjuvantnu terapiju zapaljenskih hroničnih bolesti jetre, ciroze jetre i toksičnih oštećenja jetre
Tribestan®, film tableta; suvi ekstrakt herbe tribulusa, <i>Tribulus terrestris</i>	Primenjuje se kod muškaraca u terapiji smanjenog libida i impotencije
Arnikamed Dolo, gel; tinktura cvasti arnikе, <i>Arnica montana</i>	Za ublažavanje modrica, uganuća i lokализovanog bola u mišićima
Rowirex®, krem; etarsko ulje ruzmarina, <i>Rosmarinus officinalis</i>	Za olakšavanje blagog bola u mišićima i zglobovima i lakših poremećaja periferne cirkulacije

Zaključak

Harmonizovani standardi EU proistekli iz Direktive 2004/24/EC koja dopunjuje Direktivu 2001/83/EC predstavljaju osnovu za stavljanje u promet biljnih lekovitih proizvoda i omogućavaju harmonizaciju regulisanja biljnih lekovitih proizvoda u EU. Ovi standardi imaju za cilj da obezbede kvalitet, prihvatljiv stepen bezbednosti i efikasnost biljnih lekovitih proizvoda (efikasnost je u slučaju biljnih lekova klinički dokazana, dok je u slučaju tradicionalnih biljnih lekova očekivana na osnovu dovoljno podataka o tradicionalnoj upotrebi). Zakonska akta naše zemlje (Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima Republike Srbije i dr.) usklađena su sa evropskom legislativom.

Monografije EU biljnih droga, preparata biljnih droga i njihovih kombinacija, koje objavljuje Komitet za biljne lekovite proizvode (*HMP*) Evropske agencije za lekove, imaju za cilj da olakšaju stavljanje u promet biljnih lekova sa dobro poznatom upotrebom i tradicionalnih biljnih lekova. *HMP* je zaključno sa julom 2019. god. objavio 160 finalnih monografija, koje su dostupne na web-sajtu *EMA*: 157 monografija za 156 biljnih droga i preparata (za 131 biljnu drogu i preparat odobrena je samo tradicionalna upotreba, *TU*; za 13 samo dobro poznata upotreba, *WEU*; a za 12 i *WEU* i *TU*), dve monografije za dve kombinacije biljnih droga (obe imaju odobrene i *WEU* i *TU*) i jednu monografiju za čaj (ima odobrenu samo *TU*). Takođe, do sada su za 13 biljnih droga i preparata sa *TU* objavljeni i unosi u listu EU (registracija na osnovu liste EU predstavlja najlakši način da se tradicionalni biljni lekovi stave u promet).

Prema navedenim finalnim monografijama EU, najčešće odobrene terapijske oblasti za upotrebu biljnih lekovitih proizvoda (biljnih i tradicionalnih biljnih lekova) su gastrointestinalni poremećaji ($n=54$), respiratorni poremećaji (kašalj i prehlada) ($n=41$), poremećaji urinarnog trakta i ginekološki poremećaji ($n=39$) i kožni poremećaji i manje rane ($n=36$). Slede zatim poremećaji usne duplje i ždrela ($n=23$), poremećaji cirkulacije ($n=23$), bol i inflamacija ($n=20$), mentalni stres i poremećaji raspoloženja ($n=17$), poremećaji spavanja i kratkotrajna nesanica ($n=13$), opstipacija ($n=13$), gubitak apetita ($n=12$), umor i slabost ($n=8$) i nelagodnost u oku ($n=1$).

Od navedenih 13 terapijskih oblasti, 8 je odobreno i za dobro poznatu upotrebu (*WEU*) i za tradicionalnu upotrebu (*TU*) (gastrointestinalni poremećaji, kašalj i prehlada, poremećaji urinarnog trakta i ginekološki poremećaji, poremećaji cirkulacije, bol i inflamacija, mentalni stres i poremećaji raspoloženja, poremećaji spavanja i kratkotrajna nesanica, opstipacija), a preostalih pet samo za *TU* (kožni poremećaji i manje rane, poremećaji usne duplje i ždrela, gubitak apetita, umor i slabost i nelagodnost u oku).

Najveći broj biljnih i tradicionalnih biljnih lekova koji su registrovani u Republici Srbiji namenjen je za primenu kod različitih respiratornih poremećaja. Od najčešće

zastupljenih terapijskih oblasti slede zatim gastrointestinalni poremećaji, opstipacija, poremećaji cirkulacije, poremećaj spavanja i kratkotrajna nesanica i mentalni stres.

Generalno posmatrano, biljni i tradicionalni biljni lekovi primenjuju se u širokom spektru terapijskih oblasti, pretežno kod blažih bolesti i zdravstvenih tegoba. Uglavnom se ne preporučuju za primenu u trudnoći, tokom laktacije, kod odojčadi i male dece zbog nedovoljno podataka. Koriste se prvenstveno na osnovu preporuke lekara ili farmaceuta, a tradicionalni biljni lekovi i kroz samolečenje. Farmaceuti imaju izuzetno značajnu ulogu u savetovanju pacijenata: u pružanju relevantnih informacija o njihovim karakteristikama, mogućnostima primene i pravilnoj upotrebi.

Može se zaključiti da biljni proizvodi koji imaju status leka (biljni i tradicionalni biljni lekovi) imaju potvrđen farmaceutski kvalitet i prihvatljiv stepen bezbednosti, primenjuju se u terapijskim dozama u odgovarajućim indikacionim područjima definisanim na osnovu rezultata kliničkih studija (biljni lekovi) ili na osnovu dugogodišnje upotrebe i iskustva (tradicionalni biljni lekovi); uvedeni su u internacionalni sistem farmakovigilance. Ispunjavanjem zakonski propisanih uslova za njihovo stavljanje u promet i praćenje, garantuju se njihov kvalitet, prihvatljiv stepen bezbednosti i efikasnost (klinički dokazana ili očekivana). Upravo kvalitet, bezbednost i efikasnost su razlozi za stavljanje što većeg broja ovakvih biljnih proizvoda u promet, sa ciljem da se doprinese javnom zdravlju, što je od ogromnog društvenog značaja.

Literatura

1. Petrović S, Kukić-Marković J, Pavlović-Drobac M. Biljni lekoviti proizvodi: uslovi za bezbednu primenu. Arh Farm. 2012;62(2):119-35.
2. Schilcher H, Kammerer S, Wegener T. Leitfaden Phytotherapie. 3. Auflage. München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, 2007.
3. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. Official Journal of the European Union. Nov 28, 2001;L 311:67-128.
4. Directive 2004/24/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending, as regards traditional herbal medicinal products, Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use. Official Journal of the European Union. Apr 30, 2004;L 136:85-90.
5. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS 30/2010, 107/2012, 113/2017 - dr. zakon i 105/2017 - dr. zakon.

6. Pravilnik o bližim uslovima i načinu upisa leka u Registar tradicionalnih biljnih, odnosno homeopatskih lekova. Službeni glasnik RS 100/2011.
7. European Pharmacopoeia 9th Edition. Strasbourg: Council of Europe, published 2016, valid from 1 January 2017.
8. European Medicines Agency [Internet] [cited 2019 July 27]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en>
9. Peschel W, Alvarez BM. Harmonised European standards as a basis for the safe use of herbal medicinal products and their marketing authorisation in European Union member states. Pharm Med. 2018;32(4):275-93.
10. Knöss W. Current regulatory environment of herbal medicinal products in the European Union. In: Cechinel Filho V, editor. Natural products as source of molecules with therapeutic potential. Basel: Springer Nature Switzerland AG; 2018. p. 365-89.
11. Chinou I. Monographs, list entries, public statements. J Ethnopharmacol. 2014;158(Pt B):458-62.
12. Claeson P. Requirements on efficacy of herbal medicinal products. J Ethnopharmacol. 2014;158(Pt B):463-6.
13. Petrović S. Primena biljnih lekovitih proizvoda u terapiji depresije. Arh Farm. 2017;67(5):302-14.
14. European Medicines Agency. EMA/HMPC/101304/2008. Community herbal monograph on *Hypericum perforatum* L., herba (well-established medicinal use). London: 12 November 2009.
15. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/745582/2009. Community herbal monograph on *Hypericum perforatum* L., herba (traditional use). London: 12 November 2009.
16. European Medicines Agency. EMA/HMPC/150848/2015 Corr. European Union herbal monograph on *Valeriana officinalis* L., radix. London: 2 February 2016.
17. European Medicines Agency. EMA/HMPC/585558/2007 Corr. Community herbal monograph on *Valeriana officinalis* L., radix and *Humulus lupulus* L., flos. London: 6 June 2011.
18. European Medicines Agency. EMA/HMPC/325716/2017. European Union herbal monograph on *Hedera helix* L., folium. London: 21 November 2017.
19. European Medicines Agency. EMA/HMPC/84990/2015 Corr. European Union herbal monograph on *Thymus vulgaris* L. or *Thymus zygis* L., herba and *Primula veris* L. or *Primula elatior* (L.) Hill, radix. London: 5 April 2016.
20. European Medicines Agency. EMA/HMPC/48704/2014 Corr. European Union herbal monograph on *Echinacea purpurea* (L.) Moench, herba recens. London: 24 November 2015.
21. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/349466/2006. Community herbal monograph on *Mentha × piperita* L., aetheroleum. London: 31 October 2007.
22. European Medicines Agency. EMA/HMPC/749154/2010. Community herbal monograph on *Zingiber officinale* Roscoe, rhizoma. London: 27 March 2012.
23. European Medicines Agency. EMA/HMPC/625788/2015. European Union herbal monograph on *Aloe barbadensis* Mill. and on *Aloe* (various species, mainly *Aloe ferox* Mill. and its hybrids), folii succus siccatus. London: 22 November 2016.
24. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/76307/2006 Corr. Community herbal monograph on *Rhamnus frangula* L., cortex. London: 26 October 2006.

25. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/513579/2006 *Corr.* Community herbal monograph on *Rhamnus purshianus* D.C., cortex. London: 7 September 2007.
26. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/189624/2007 *Corr.* Community herbal monograph on *Rheum palmatum* L. and *Rheum officinale* Baillon, radix. London: 31 October 2007.
27. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/51869/2006 *Corr.* Community herbal monograph on *Cassia senna* L. and *Cassia angustifolia* Vahl, folium. London: 26 October 2006.
28. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/51871/2006 *Corr.* Community herbal monograph on *Cassia senna* L., fructus and *Cassia angustifolia* Vahl, fructus. London: 26 October 2006.
29. European Medicines Agency. EMA/HMPC/572974/2014. European Union herbal monograph on *Ricinus communis* L., oleum. London: 2 February 2016.
30. European Medicines Agency. EMA/HMPC/377675/2014. European Union herbal monograph on *Linum usitatissimum* L., semen. London: 10 March 2015.
31. European Medicines Agency. EMA/HMPC/304390/2012. Community herbal monograph on *Plantago ovata* Forssk., semen. London: 14 May 2013.
32. European Medicines Agency. EMA/HMPC/199774/2012. Community herbal monograph on *Plantago ovata* Forssk., seminis tegumentum. London: 14 May 2013.
33. European Medicines Agency. EMA/HMPC/599747/2012. Community herbal monograph on *Plantago afra* L. et *Plantago indica* L., semen. London: 14 May 2013.
34. European Medicines Agency. EMA/HMPC/48745/2017. European Union herbal monograph on *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt., rhizoma. London: 27 March 2018.
35. European Medicines Agency. EMA/HMPC/606742/2017. European Union herbal monograph on *Vitex agnus-castus* L., fructus. London: 27 March 2018.
36. European Medicines Agency. EMA/HMPC/280079/2013. European Union herbal monograph on *Serenoa repens* (W. Bartram) Small, fructus. London: 24 November 2015.
37. European Medicines Agency. EMA/HMPC/321097/2012. European Union herbal monograph on *Ginkgo biloba* L., folium. London: 28 January 2015.
38. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/225319/2008. Community herbal monograph on *Aesculus hippocastanum* L., semen. London: 16 July 2009.
39. European Medicines Agency. EMA/HMPC/464684/2016. European Union herbal monograph on *Vitis vinifera* L., folium. London: 30 May 2017.
40. European Medicines Agency. EMA/HMPC/674139/2013. European Union herbal monograph on *Capsicum annuum* L. var. *minimum* (Miller) Heiser and small fruited varieties of *Capsicum frutescens* L., fructus. London: 5 May 2015.
41. European Medicines Agency. EMA/HMPC/80630/2016 - Cor. European Union herbal monograph on *Salix* [various species including *S. purpurea* L., *S. daphnoides* Vill., *S. fragilis* L.], cortex. London: 31 January 2017.
42. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/202966/2007. Community herbal monograph on *Avena sativa* L., herba. London: 4 September 2008.
43. European Medicines Agency. EMA/HMPC/159075/2014. European Union herbal monograph on *Crataegus* spp., folium cum flore. London: 5 April 2016.

44. European Medicines Agency. EMA/HMPC/680372/2013. European Union herbal monograph on *Eschscholzia californica* Cham., herba. London: 28 January 2015.
45. European Medicines Agency. EMA/HMPC/143181/2010. Community herbal monograph on *Lavandula angustifolia* Miller, aetheroleum. London: 27 March 2012.
46. European Medicines Agency. EMA/HMPC/734125/2010. Community herbal monograph on *Lavandula angustifolia* Miller, flos. London: 27 March 2012.
47. European Medicines Agency. EMA/HMPC/682384/2013. Community herbal monograph on *Humulus lupulus* L., flos. London: 6 May 2014.
48. European Medicines Agency. EMA/HMPC/196745/2012. Community herbal monograph on *Melissa officinalis* L., folium. London: 14 May 2013.
49. European Medicines Agency. EMA/HMPC/669740/2013. Community herbal monograph on *Passiflora incarnata* L., herba. London: 25 March 2014.
50. European Medicines Agency. EMA/HMPC/278053/2015. European Union herbal monograph on *Valeriana officinalis* L., aetheroleum. London: 17 June 2016.
51. European Medicines Agency. EMA/HMPC/337066/2011. Community herbal monograph on *Tilia cordata* Miller, *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia × vulgaris* Heyne or their mixtures, flos. London: 22 May 2012.
52. European Medicines Agency. EMA/HMPC/127428/2010. Community herbal monograph on *Leonurus cardiaca* L., herba. London: 16 September 2010.
53. European Medicines Agency. EMA/HMPC/232091/2011. Community herbal monograph on *Rhodiola rosea* L., rhizoma et radix. London: 27 March 2012.
54. European Medicines Agency. EMA/HMPC/680618/2013. Community herbal monograph on *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., radix. London: 25 March 2014.
55. European Medicines Agency. EMA/HMPC/321233/2012 Corr. Community herbal monograph on *Panax ginseng* C.A.Meyer, radix. London: 25 March 2014.
56. European Medicines Agency. EMA/HMPC/283630/2012. Community herbal monograph on *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, non fermentatum folium. London: 12 November 2013.
57. European Medicines Agency. EMA/HMPC/722367/2010. Community herbal monograph on *Cola nitida* (Vent.) Schott et Endl. and its varieties and *Cola acuminata* (P. Beauv.) Schott et Endl., semen. London: 22 November 2011.
58. European Medicines Agency. EMA/HMPC/580539/2008. Community herbal monograph on *Ilex paraguariensis* St. Hilaire, folium. London: 6 May 2010.
59. European Medicines Agency. EMA/HMPC/897344/2011. Community herbal monograph on *Paullinia cupana* Kunth ex H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, semen. London: 15 January 2013.
60. European Medicines Agency. EMA/HMPC/220599/2016. European Union herbal monograph on *Glycine max* (L.) Merr., lecithinum. London: 31 January 2017.
61. European Medicines Agency. EMA/HMPC/321185/2012. Community herbal monograph on *Pimpinella anisum* L., aetheroleum. London: 12 November 2013.
62. European Medicines Agency. EMA/HMPC/321184/2012. Community herbal monograph on *Pimpinella anisum* L., fructus. London: 12 November 2013.

63. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/263292/2006. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *vulgare*, aetheroleum. London: 5 July 2007.
64. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/137428/2006 Corr. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *vulgare*, fructus. London: 6 August 2007.
65. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/263293/2006 Corr. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *dulce* (Miller) Thellung, fructus. London: 6 August 2007.
66. European Medicines Agency. EMA/HMPC/571119/2010. Community herbal monograph on *Glycyrrhiza glabra* L. and/or *Glycyrrhiza inflata* Bat. and/or *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., radix. London: 22 May 2012.
67. European Medicines Agency. EMA/HMPC/604271/2012. Community herbal monograph on *Marrubium vulgare* L., herba. London: 9 July 2013.
68. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/600668/2007. Community herbal monograph on *Polypodium vulgare* L., rhizoma. London: 6 November 2008.
69. European Medicines Agency. EMA/HMPC/136582/2012. Community herbal monograph on *Primula veris* L. and/or *Primula elatior* (L.) Hill, flos. London: 19 September 2012.
70. European Medicines Agency. EMA/HMPC/104095/2012. Community herbal monograph on *Primula veris* L. and/or *Primula elatior* (L.) Hill, radix. London: 19 September 2012.
71. European Medicines Agency. EMA/HMPC/131901/2009. Community herbal monograph on *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loefl. ex L., aetheroleum. London: 16 September 2010.
72. European Medicines Agency. EMA/HMPC/342332/2013. Community herbal monograph on *Thymus vulgaris* L. and *Thymus zygis* L., herba. London: 12 November 2013.
73. European Medicines Agency. EMA/HMPC/307781/2012. Community herbal monograph on *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus polybractea* R.T. Baker and/or *Eucalyptus smithii* R.T. Baker, aetheroleum. London: 25 March 2014.
74. European Medicines Agency. EMA/HMPC/892618/2011. Community herbal monograph on *Eucalyptus globulus* Labill., folium. London: 15 April 2013.
75. European Medicines Agency. EMA/HMPC/748220/2011. Community herbal monograph on *Grindelia robusta* Nutt., *Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal, *Grindelia humilis* Hook. et Arn., *Grindelia camporum* Greene, herba. London: 20 November 2012.
76. European Medicines Agency. EMA/HMPC/200429/2012 Corr. Community herbal monograph on *Origanum dictamnus* L., herba. London: 28 January 2014.
77. European Medicines Agency. EMA/HMPC/39453/2015. European Union herbal monograph on *Sideritis scardica* Griseb.; *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub.) Hayek; *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr.; *Sideritis syriaca* L., herba. London: 2 February 2016.
78. European Medicines Agency. EMA/HMPC/688216/2008. Community herbal monograph on *Echinacea angustifolia* DC., radix. London: 27 March 2012.
79. European Medicines Agency. EMA/HMPC/737380/2018. European Union herbal monograph on *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., radix. London: 5 June 2018.

80. European Medicines Agency. EMA/HMPC/424583/2016. European Union herbal monograph on *Echinacea purpurea* (L.) Moench, radix. London: 30 May 2017.
81. European Medicines Agency. EMA/HMPC/434894/2010. Community herbal monograph on *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., flos. London: 12 July 2011.
82. European Medicines Agency. EMA/HMPC/434881/2010. Community herbal monograph on *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., herba. London: 12 July 2011.
83. European Medicines Agency. EMA/HMPC/55843/2011. European Union herbal monograph on *Matricaria recutita* L., flos. London: 7 July 2015.
84. European Medicines Agency. EMA/HMPC/444244/2015. European Union herbal monograph on *Pelargonium sidoides* DC and/or *Pelargonium reniforme* Curt., radix. London: 5 June 2018.
85. European Medicines Agency. EMA/HMPC/143658/2015. European Union herbal monograph on *Polygonum aviculare* L., herba. London: 5 April 2016.
86. European Medicines Agency. EMA/HMPC/611512/2016. European Union herbal monograph on *Sambucus nigra* L., flos. London: 27 March 2018.
87. European Medicines Agency. EMA/HMPC/436679/2015. European Union herbal monograph on *Althaea officinalis* L., radix. London: 12 July 2016.
88. European Medicines Agency. EMA/HMPC/678891/2013. European Union herbal monograph on *Cetraria islandica* (L.) Acharius s.l., thallus. London: 24 November 2014.
89. European Medicines Agency. EMA/HMPC/749510/2016. European Union herbal monograph on *Malva sylvestris* L. and/or *Malva neglecta* Wallr., folium. London: 20 November 2018.
90. European Medicines Agency. EMA/HMPC/749511/2016. European Union herbal monograph on *Malva sylvestris* L., flos. London: 20 November 2018.
91. European Medicines Agency. EMA/HMPC/437858/2010 Corr. Community herbal monograph on *Plantago lanceolata* L., folium. London: 28 January 2014.
92. European Medicines Agency. EMA/HMPC/611537/2016. European Union herbal monograph on *Verbascum thapsus* L., *V. densiflorum* Bertol. (*V. thapsiforme* Schrad) and *V. phlomoides* L., flos. London: 27 March 2018.
93. European Medicines Agency. EMA/HMPC/280193/2013. European Union herbal monograph on *Sisymbrium officinale* (L.) Scop., herba. London: 30 September 2014.
94. European Medicines Agency. EMA/HMPC/751490/2016. European Union herbal monograph on *Artemisia absinthium* L., herba. London: 30 May 2017.
95. European Medicines Agency. EMA/HMPC/715094/2013. European Union herbal monograph on *Carum carvi* L., aetheroleum. London: 7 July 2015.
96. European Medicines Agency. EMA/HMPC/715092/2013. European Union herbal monograph on *Carum carvi* L., fructus. London: 7 July 2015.
97. European Medicines Agency. EMA/HMPC/277493/2015. European Union herbal monograph on *Centaurium erythraea* Rafn. s.l., herba. London: 24 November 2015.
98. European Medicines Agency. EMA/HMPC/607861/2017. European Union herbal monograph on *Gentiana lutea* L., radix. London: 20 November 2018.

99. European Medicines Agency. EMA/HMPC/627057/2015. European Union herbal monograph on *Harpagophytum procumbens* DC. and/or *Harpagophytum zeyheri* Decne., radix. London: 12 July 2016.
100. European Medicines Agency. EMA/HMPC/12402/2010. Community herbal monograph on *Juniperus communis* L., aetheroleum. London: 25 November 2010.
101. European Medicines Agency. EMA/HMPC/441929/2008. Community herbal monograph on *Juniperus communis* L., pseudo-fructus. London: 12 November 2009.
102. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/193909/2007. Community herbal monograph on *Mentha × piperita* L., folium. London: 4 September 2008.
103. European Medicines Agency. EMA/HMPC/453725/2016. European Union herbal monograph on *Peumus boldus* Molina, folium. London: 22 November 2016.
104. European Medicines Agency. EMA/HMPC/560734/2010. Community herbal monograph on *Chamaemelum nobile* (L.) All., flos. London: 22 November 2011.
105. European Medicines Agency. EMA/HMPC/706229/2009. Community herbal monograph on *Cinnamomum verum* J.S. Presl, corticis aetheroleum. London: 10 May 2011.
106. European Medicines Agency. EMA/HMPC/246774/2009. Community herbal monograph on *Cinnamomum verum* J.S. Presl, cortex. London: 10 May 2011.
107. European Medicines Agency. EMA/HMPC/143949/2010. Community herbal monograph on *Achillea millefolium* L., flos. London: 12 July 2011.
108. European Medicines Agency. EMA/HMPC/290284/2009. Community herbal monograph on *Achillea millefolium* L., herba. London: 12 July 2011.
109. European Medicines Agency. EMA/HMPC/166517/2015. European Union herbal monograph on *Origanum majorana* L., herba. London: 20 September 2016.
110. European Medicines Agency. EMA/HMPC/235453/2009. Community herbal monograph on *Rosmarinus officinalis* L., aetheroleum. London: 15 July 2010.
111. European Medicines Agency. EMA/HMPC/13633/2009. Community herbal monograph on *Rosmarinus officinalis* L., folium. London: 15 July 2010.
112. European Medicines Agency. EMA/HMPC/277152/2015. European Union herbal monograph on *Salvia officinalis* L., folium. London: 20 September 2016.
113. European Medicines Agency. EMA/HMPC/121816/2010. Community herbal monograph on *Cichorium intybus* L., radix. London: 15 January 2013.
114. European Medicines Agency. EMA/HMPC/329755/2017. European Union herbal monograph on *Curcuma longa* L., rhizoma. London: 25 September 2018.
115. European Medicines Agency. EMA/HMPC/604600/2012. Community herbal monograph on *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (*C. xanthorrhiza* D. Dietrich), rhizoma. London: 28 January 2014.
116. European Medicines Agency. EMA/HMPC/194014/2017. European Union herbal monograph on *Cynara cardunculus* L. (syn. *Cynara scolymus* L.), folium. London: 27 March 2018.
117. European Medicines Agency. EMA/HMPC/574766/2010. Community herbal monograph on *Fumaria officinalis* L., herba. London: 13 September 2011.

118. European Medicines Agency. EMA/HMPC/41108/2015. European Union herbal monograph on *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, flos. London: 5 April 2016.
119. European Medicines Agency. EMA/HMPC/212895/2008. Community herbal monograph on *Taraxacum officinale* Weber ex Wigg., radix cum herba. London: 12 November 2009.
120. European Medicines Agency. EMA/HMPC/294187/2013. European Union herbal monograph on *Silybum marianum* (L.) Gaertn., fructus. London: 5 June 2018.
121. European Medicines Agency. EMA/HMPC/680597/2013. European Union herbal monograph on *Agrimonia eupatoria* L., herba. London: 28 January 2015.
122. European Medicines Agency. EMA/HMPC/432278/2015. European Union herbal monograph on *Fragaria vesca* L., *Fragaria moschata* Weston, *Fragaria viridis* Weston and *Fragaria × ananassa* (Weston) Duchesne ex Rozier, folium. London: 20 November 2018.
123. European Medicines Agency. EMA/HMPC/678995/2013. European Union herbal monograph on *Vaccinium myrtillus* L., fructus siccus. London: 29 September 2015.
124. European Medicines Agency. EMA/HMPC/3203/2009. Community herbal monograph on *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., cortex. London: 25 November 2010.
125. European Medicines Agency. EMA/HMPC/44211/2012. Community herbal monograph on *Rubus idaeus* L., folium. London: 28 January 2014.
126. European Medicines Agency. EMA/HMPC/5511/2010. Community herbal monograph on *Potentilla erecta* (L.) Raeusch., rhizoma. London: 25 November 2010.
127. European Medicines Agency. EMA/HMPC/313674/2012. Community herbal monograph on *Fucus vesiculosus* L., thallus. London: 6 May 2014.
128. European Medicines Agency. EMA/HMPC/246763/2009 *Corr. I.* Community herbal monograph on *Arctium lappa* L., radix. London: 16 September 2010.
129. European Medicines Agency. EMA/HMPC/146221/2010. Community herbal monograph on *Trigonella foenum-graecum* L., semen. London: 27 January 2011.
130. European Medicines Agency. EMA/HMPC/359238/2016. European Union herbal monograph on *Olea europaea* L., folium. London: 31 January 2017.
131. European Medicines Agency. EMA/HMPC/563408/2010. Community herbal monograph on *Agropyron repens* (L.) P. Beauv., rhizoma. London: 22 November 2011.
132. European Medicines Agency. EMA/HMPC/573241/2014. European Union herbal monograph on *Betula pendula* Roth and/or *Betula pubescens* Ehrh. as well as hybrids of both species, folium. London: 24 November 2014.
133. European Medicines Agency. EMA/HMPC/278091/2015. European Union herbal monograph on *Equisetum arvense* L., herba. London: 2 February 2016.
134. European Medicines Agency. EMA/HMPC/239271/2011. Community herbal monograph on *Fraxinus excelsior* L. or *Fraxinus angustifolia* Vahl, folium. London: 27 March 2012.
135. European Medicines Agency. EMA/HMPC/524621/2011. Community herbal monograph on *Levisticum officinale* Koch, radix. London: 20 November 2012.

136. European Medicines Agency. EMA/HMPC/138317/2013. Community herbal monograph on *Ononis spinosa* L., radix. London: 25 March 2014.
137. European Medicines Agency. EMA/HMPC/281496/2009. Community herbal monograph on *Orthosiphon stamineus* Benth., folium. London: 11 March 2010.
138. European Medicines Agency. EMA/HMPC/317319/2012. Community herbal monograph on *Phaseolus vulgaris* L., fructus sine semine. London: 12 November 2013.
139. European Medicines Agency. EMA/HMPC/680374/2013. European Union herbal monograph on *Hieracium pilosella* L., herba cum radice. London: 5 May 2015.
140. European Medicines Agency. EMA/HMPC/745353/2016. European Union herbal monograph on *Ribes nigrum* L., folium. London: 19 September 2017.
141. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/285758/2007. Community herbal monograph on *Solidago virgaurea* L., herba. London: 4 September 2008.
142. European Medicines Agency. EMA/HMPC/224755/2016. European Union herbal monograph on *Species diureticae*. London: 28 March 2017.
143. European Medicines Agency. EMA/HMPC/579636/2008. Community herbal monograph on *Taraxacum officinale* Weber ex Wigg., folium. London: 12 November 2009.
144. European Medicines Agency. EMA/HMPC/508015/2007. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L.; *Urtica urens* L., folium. London: 14 January 2010.
145. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/170261/2006. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L. and *Urtica urens* L., herba. London: 4 September 2008.
146. European Medicines Agency. EMA/HMPC/750269/2016. European Union herbal monograph on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., folium. London: 30 January 2018.
147. European Medicines Agency. EMA/HMPC/262766/2010. Community herbal monograph on *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medikus, herba. London: 12 July 2011.
148. European Medicines Agency. EMA/HMPC/136024/2010. Community herbal monograph on *Cucurbita pepo* L., semen. London: 20 November 2012.
149. European Medicines Agency. EMA/HMPC/712511/2014. European Union herbal monograph on *Epilobium angustifolium* L. and/or *Epilobium parviflorum* Schreb., herba. London: 24 November 2015.
150. European Medicines Agency. EMA/HMPC/680626/2013. European Union herbal monograph on *Prunus africana* (Hook f.) Kalkm., cortex. London: 12 July 2016.
151. European Medicines Agency. EMA/HMPC/461160/2008. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L., their hybrids or their mixtures, radix. London: 24 September 2012.
152. European Medicines Agency. EMA/HMPC/354156/2011. Community herbal monograph on *Aesculus hippocastanum* L., cortex. London: 22 May 2012.
153. European Medicines Agency. EMA/HMPC/44166/2016. European Union herbal monograph on *Melilotus officinalis* (L.) Lam., herba. London: 21 November 2017.
154. European Medicines Agency. EMA/HMPC/375808/2014. European Union herbal monograph on *Vaccinium myrtillus* L., fructus recens. London: 29 September 2015.

155. European Medicines Agency. EMA/HMPC/188804/2017. European Union herbal monograph on *Ruscus aculeatus* L., rhizoma. London: 20 November 2018.
156. European Medicines Agency. EMA/HMPC/114583/2008 Corr. Community herbal monograph on *Hamamelis virginiana* L., cortex. London: 6 June 2011.
157. European Medicines Agency. EMA/HMPC/114586/2008. Community herbal monograph on *Hamamelis virginiana* L., folium. London: 12 November 2009.
158. European Medicines Agency. EMA/HMPC/320930/2012. European Union herbal monograph on *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller and/or other species of *Melaleuca*, aetheroleum. London: 24 November 2015.
159. European Medicines Agency. EMA/HMPC/437450/2017. European Union herbal monograph on *Calendula officinalis* L., flos. London: 27 March 2018.
160. European Medicines Agency. EMA/HMPC/534924/2010. Community herbal monograph on *Syzygium aromaticum* (L.) Merill et L. M. Perry, floris aetheroleum. London: 13 September 2011.
161. European Medicines Agency. EMA/HMPC/137299/2013. Community herbal monograph on *Rosa gallica* L., *Rosa centifolia* L., *Rosa damascena* Mill., flos. London: 1 July 2014.
162. European Medicines Agency. EMA/HMPC/96911/2010. Community herbal monograph on *Commiphora molmol* Engler, gummi-resina. London: 12 July 2011.
163. European Medicines Agency. EMA/HMPC/131734/2009. Community herbal monograph on *Viola tricolor* L. and/or subspecies *Viola arvensis* Murray (Gaud) and *Viola vulgaris* Koch (Oborny), herba cum flore. London: 25 November 2010.
164. European Medicines Agency. EMA/HMPC/346737/2011. Community herbal monograph on *Juglans regia* L., folium. London: 9 July 2013.
165. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/368600/2007. Community herbal monograph on *Avena sativa* L., fructus. London: 4 September 2008.
166. European Medicines Agency. EMA/HMPC/114584/2008. Community herbal monograph on *Hamamelis virginiana* L., folium et cortex aut ramunculus destillatum. London: 12 November 2009.
167. European Medicines Agency. EMA/HMPC/734361/2011. Community herbal monograph on *Solanum dulcamara* L., stipites. London: 15 January 2013.
168. European Medicines Agency. EMA/HMPC/338914/2016. European Union herbal monograph on *Glycine max* (L.) Merr., oleum raffinatum. London: 31 January 2017.
169. European Medicines Agency. EMA/HMPC/753041/2017. European Union herbal monograph on *Oenothera biennis* L. or *Oenothera lamarckiana* L., oleum. London: 5 June 2018.
170. European Medicines Agency. EMA/HMPC/278814/2010. European Union herbal monograph on *Matricaria recutita* L., aetheroleum. London: 7 July 2015.
171. European Medicines Agency. EMA/HMPC/572846/2009. European Union herbal monograph on *Symphytum officinale* L., radix. London: 5 May 2015.
172. European Medicines Agency. EMA/HMPC/198793/2012. Community herbal monograph on *Arnica montana* L., flos. London: 6 May 2014.

173. European Medicines Agency. EMA/HMPC/587578/2009. Community herbal monograph on *Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip., herba. London: 25 November 2010.
174. Commission decision 2008/911/EC of 21 November 2008 establishing of a list of herbal substances, preparations and combinations thereof for use in traditional herbal medicinal products, amended by 2010/28/EC, 2010/30/EU, 2010/180/EU, 2011/785/EU, 2012/67/EU, 2012/68/EU, (EU) 2016/1658, (EU) 2016/1659, (EU) 2018/133, (EU) 2018/134. Official Journal of the European Union. Dec 6, 2008;L 328:42.
175. Agencija za lekove i medicinska sredstva [Internet]. Pretraživanje humanih lekova [cited 2019 July 27]. Available from: <https://www.alims.gov.rs/latin/lekovi/pretrazivanje-humanih-lekova/>
176. ESCOP Monographs. 2nd ed. Exeter: The European Scientific Cooperative on Phytotherapy; Stuttgart: Georg Thieme Verlag; New York: Thieme New York; 2003.
177. European Medicines Agency. EMA/HMPC/321095/2012. Assessment report on *Ginkgo biloba* L., folium. London: 28 January 2014.

Herbal and Traditional Herbal Medicinal Products, EU Herbal Monographs and EU List

Silvana Petrović

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade

* Corresponding author, e-mail: silvana.petrovic@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

According to legislation of EU, as well as of our country, herbal medicinal products (HMPs) and traditional herbal medicinal products (THMPs) are categories of medicinal products. As active ingredients, they contain herbal drugs (herbal substances) and/or herbal drug preparations (herbal preparations). HMPs are authorized based on proved quality, clinical efficacy and safety. THMPs are registered based on proved quality and sufficient data on traditional use (acceptable safety level and plausible efficacy). The Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) of the European Medicines Agency (EMA) publishes EU herbal monographs, which comprise preclinical and clinical data on HMPs with well-established use (WEU), as well as data on traditional use (TU) for THMPs. HMPC also develops drafts of EU list entries for THMPs, which are adopted and their final versions are published by the European Commission. By the end of July 2019, HMPC issued 160 final monographs, which are available on the EMA website (157 monographs for 156 herbal drugs and herbal drug preparations, two monographs for two herbal drug combinations, and monograph for herbal tea combinations); EU list entries on 13 herbal drugs and preparations were finalized. This paper provides an overview of the therapeutic areas and indications approved in these final EU monographs. In addition, overview of HMPs and THMPs, which are authorized/registered in the Republic of Serbia is given.

Keywords: herbal medicinal products, traditional herbal medicinal products, Committee on Herbal Medicinal Products of European Medicines Agency (HMPC/EMA), EU monographs, EU list.

Biljni lekoviti proizvodi u terapiji kašlja povezanog sa prehladom

Tatjana Kundaković-Vasović*, Jelena Radović

Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakognoziju,
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

*Autor za korespondenciju Tatjana Kundaković-Vasović,
e-mail: ktajtana@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Biljni lekoviti proizvodi su veoma značajni za terapiju kašlja i često se koriste, kako u samomedikaciji, tako i po preporuci lekara. Biljne droge koje se koriste u terapiji kašlja se mogu podeliti na droge ekspektorantnog delovanja i demulcentna sredstva, odnosno droge koje sadrže heteropolisaharide, najčešće sluzi. Kliničke studije su potvratile efikasnost primene ekstrakata herbe bršljana i fiksnih kombinacija herbe timijana i korena jagorčevine kao ekspektoranasa kod produktivnog kašlja, dok je za veći broj drugih biljnih droga i njihovih preparata koji se koriste u terapiji kašlja, dokumentovana samo tradicionalna primena. Svaka biljna droga koja se koristi u terapiji kašlja ima svoja specifična ograničenja za primenu (kontraindikacije, specijalna upozorenja, mere opreza, interakcije i neželjena dejstva).

Ključne reči: ekspektoransi; demulcenti; terapija kašlja; EMA/HMPC.

Uvod

Kašalj predstavlja zaštitni mehanizam koji pomaže da se iz disajnih puteva izbace sekret, strane čestice i razni iritansi koji se udišu ili nastaju na mestu inflamacije sluzokože. Prema dužini trajanja, kašalj je podeljen na akutni (traje kraće od 2 nedelje), subakutni (traje 2-8 nedelja) i hronični kašalj (traje duže od 8 nedelja). Često se koristi i klasifikacija na produktivni i suvi (nadražajni) kašalj (1,2).

Najčešći uzroci akutnog kašlja su bolesti gornjih disajnih puteva kao što su virusne infekcije (prehlada), alergijski rinokonjuktivitis, astma, aspiracija (npr. aspiracija stranog predmeta kod dece uzrasta 1-3 godine), inhalaciona intoksikacija (požari, trovanje hemikalijama i sl.), bolesti pluća i plućne maramice (plućna embolija, pneumotoraks), ali i drugi uzroci kao što su srčane bolesti sa kongestijom pluća (1).

U kategoriju subakutnog kašlja, prema novoj klasifikaciji, spadaju infekcije izazvane adenovirusima ili bakterijima *Bordatella pertussis* i *Mycoplasma pneumoniae*. Takođe, produženi kašalj nakon infekcije sa prolaznom bronhijalnom hiperaktivnošću spada u subakutni kašalj. Među češćim uzrocima hroničnog kašlja su bolesti gornjih disajnih puteva (npr. rinitis, faringitis, laringitis), hronični neopstruktivni bronhitis, hronična opstruktivna plućna bolest, astma, neastmatični eozinofilni bronhitis, kancer pluća i drugi. Ostali uzroci hroničnog kašlja, koji nisu vezani za pluća i disajne organe, su gastroezofagusni refluks ili primena nekih lekova (ACE inhibitori) (1).

U ovom radu je napravljen pregled biljnih droga i preparata biljnih droga koji se koriste u terapiji kašlja, a razmatrane su u Komitetu za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (HMPC/EMA). Na osnovu stručnih i regulatornih razmatranja izdate su finalne monografije i podaci iz njih korišćeni su u ovom radu (videti: Literatura).

Terapija kašlja

Biljne droge koje se koriste za ublažavanje kašlja možemo podeliti u dve grupe: droge ekspektorantnog delovanja i demulcentna sredstva (droge sa sluzima).

Biljne droge ekspektorantnog delovanja

Biljni ekspektoransi se mogu podeliti u dve grupe. U prvoj grupi su biljne droge sa saponozidima, koje sadrže triterpensko jedinjenje u osnovi: list bršljana, *Hederae helicis folium* (*Hedera helix*, Araliaceae) (3); koren/cvet jagorčevine, *Primulae radix/flos* (*Primula veris*, *P. elatior*, Primulaceae) (4,5); koren seneg - *Polygalae radix* (*Polygala senega*, Polygalaceae) (6); slatki koren - *Glycyrrhizae radix* (*Glycyrrhiza glabra*/*G. inflata*/*G. uralensis*, Fabaceae) (7); rizom slatke paprati - *Polypodii rhizoma* (*Polypodium vulgare*, Polypodiaceae) (8) i herba grindelije - *Grindeliae herba* (*Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *G. humilis*, *G. camporum*, Asteraceae) (9).

U drugoj grupi su aromatične droge i etarska ulja: herba i etarsko ulje timijana - *Thymi herba/aetheroleum* (*Thymus vulgaris*, *T. zygis* ili njihova mešavina, Lamiaceae) (10,11); plod i etarsko ulje anisa - *Anisi fructus/aetheroleum* (*Pimpinella anisum*, Apiaceae) (12,13); plod gorkog/slatkog morača i etarsko ulje gorkog morača - *Foeniculi amari/dulcis fructus* i *F. amari fructus aetheroleum* (*Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare* var. *vulgare*, *F. vulgare* ssp. *vulgare* var. *dulce*, Apiaceae) (14,15,16); list eukaliptusa - *Eucalypti folium* (*Eucalyptus globulus*, Myrtaceae) (17); etarsko ulje eukaliptusa - *Eucalypti aetheroleum* (*Eucalyptus globulus*, *E. polybractea* i/ili *E. smithii*, Myrthaceae) (18); herba kritskog origana - *Origani dictamni herba* (*Origanum dictamnus*, Lamiaceae) (19); herba sideritisa, čistaca, šarplaninski čaj, div-čaj - *Sideritis herba* (*Sideritis scardica*, *S. clandestina*, *S. raeseri*, *S. syriaca*, Lamiaceae) (20); herba očajnice - *Marrubii herba* (*Marrubium vulgare*, Lamiaceae) (21).

Mehanizam ekspektorantnog delovanja droga sa saponozidima još uvek nije u potpunosti razjašnjen. Spazmolitička, bronhodilatatorna i ekspektorantna aktivnost ekstrakta bršljana i/ili izolovanih jedinjenja kao što je α -hederin dokumentovana je u nekoliko *in vitro* i *in vivo* ispitivanja. Smatra se da droge sa saponozidima efekat prvenstveno ostvaruju gastropulmonarnim refleksnim mehanizmom, što ima za posledicu produkciju ređeg, vodenastijeg sekreta u bronhijalnim žlezdama. Drugi mehanizam koji može biti uključen kada se radi o drogama sa saponozidima je sekretolitički efekat. Ovaj efekat je pokazan *in vitro* za α -hederin koji povećava količinu sufraktanta u epitelnim ćelijama alveola što ima za posledicu razređivanje mukusa i olakšavanje iskašljavanja. α -Hederin se smatra glavnim aktivnim sastojkom lista bršljana i nastaje iz hederakozida C u organizmu, a sekretolitički efekat ostvaruje preko β_2 -adrenergičkih receptora (22,23). Aromatične droge i etarska ulja ekspektorantnog delovanja sadrže isparljive komponente koje iritiraju epitel disajnih puteva, stimulišu aktivnost seroznih bronhijalnih žlezda, suprimirajući aktivnost mukoznih ćelija, istovremeno stimulišući kretanje cilija. Pored toga, imaju i antibakterijsko i antiinflamatorno delovanje (24, 25).

Prema trenutnim podacima Evropske agencije za lekove (EMA) jedino je za ekstrakte lista bršljana dokumentovana dobro poznata primena na osnovu odgovarajućih kliničkih studija (indikacija: „kao ekspektorans kod produktivnog kašla“) (22), dok je za sve ostale biljne droge i njihove preparate dokumentovana samo tradicionalna primena, jer još uvek nema zadovoljavajućih kliničkih studija na osnovu kojih bi bila ustanovljena dobro poznata primena. Za droge sa tradicionalnom primenom predložene su sledeće indikacije: „kao ekspektorans kod kašla povezanog sa prehladom“ (4-8, 11-16, 21), „kod produktivnog kašla povezanog sa prehladom“ (10), „za ublažavanje kašla i prehlade“ (11) i „za ublažavanje kašla povezanog sa prehladom“ (9,17-20).

Jedna od najvažnijih i najčešće korišćenih droga ekspektorantnog delovanja je list bršljana, *Hederae helicis folium*, čije se delovanje pripisuje prisutnim saponinima,

ali i flavonoidima i fenolkarboksilnim kiselinama. List bršljana se ne koristi u obliku biljnog čaja, već se koriste preparati lista bršljana (suvi, tečni i polučvrsti ekstrakti) u tečnim i čvrstim doziranim oblicima za oralnu primenu. Dužina primene je nedelju dana. Biljni lekovi na bazi ekstrakata lista bršljana su kontraindikovani u slučaju preosetljivosti na sastojke droge ili biljke iz familije Araliaceae, kao i kod dece mlađe od 2 godine zbog rizika od pogoršanja respiratornih simptoma kao posledice sekretolitičkog efekta leka. Ne preporučuje se primena bez konsultacije sa lekarom kod dece između 2 do 4 godine starosti sa upornim kašljem ili kašljem koji se često javlja, kao i tokom trudnoće i dojenja. (3).

Obazrivost je potrebna kod pacijenata sa gastritisom ili gastričnim ulkusom jer je prepostavljeni mehanizam delovanja saponina preko gastrične mukoze. Ukoliko se javi dispnea, groznica ili purulentni sputum (ako dođe do pogoršanja simptoma), treba konsultovati lekara ili farmaceuta. Istovremena primena sa antitusicima kao što su kodein i dekstrometorfan se ne preporučuje bez saveta lekara. Od neželjenih efekata se mogu javiti gastrointestinalni simptomi (mučnina, povraćanje, dijareja) i alergijske reakcije zbog prisutnog poliacetilena falkarinola (urtikarija, raš, dispnea, anafilaktička reakcija) (3).

Pored monografija za pojedinačne droge, herbu timijana (*Thymi herba*) i koren jagorčevine (*Primulae radix*), EMA je izdala i monografiju za njihove fiksne kombinacije (26). U okviru ove monografije su date 3 fiksne kombinacije za koje je ustanovljena dobro poznata primena „kao ekspektorans kod produktivnog kašla” na osnovu 3 kliničke studije u koje nisu bile uključene osobe mlađe od 18 godina. Takođe, dokumentovana je tradicionalna primena za veći broj kombinacija suvih, mekih i tečnih ekstrakata ovih droga za indikaciju „ekspektorans kod kašla povezanog sa prehladom” (26, 27).

Tabela I Biljne droge sa saponozidima sa odobrenom tradicionalnom primenom „ekspektorans kod kašla povezanog sa prehladom”: važne bezbednosne informacije.

Table I Saponin herbal drugs with approved traditional use „an expectorant for cough associated with cold”: important safety information.

*	Kontraindikacije	Specijalna upozorenja i mere opreza	Neželjena dejstva
<i>Primulae radix – koren jagorčevine</i> (4)	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<i>Ne preporučuje se kod dece mlađe od 4 godine, bez saveta lekara, tokom trudnoće i laktacije.</i> <i>Oprez kod pacijenata sa gastritisom ili sa čirom na želucu.</i>	-
<i>Primulae flos– cvet jagorčevine</i> (5)	<i>Preosetljivost na sastojke droge ili druge vrste roda Primula.</i>	<i>Ne preporučuje se kod dece mlađe od 12 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i> <i>Oprez kod pacijenata sa gastritisom ili sa čirom na želucu.</i>	<i>Alergijske reakcije.</i>

*	<i>Kontraindikacije</i>	<i>Specijalna upozorenja i mere opreza</i>	<i>Neželjena dejstva</i>
<i>Polygalae radix – koren senege (6)</i>	<i>Gastritis i peptički ulkus.</i>	<i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i>	<i>Gastrointestinalne tegobe.</i>
<i>Liquiritiae radix – slatki koren (7)</i>	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<i>Ne preporučuje se kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i> <i>Ne preporučuje se istovremena primena sa drugim proizvodima na bazi korena sladića, jer može doći do zadržavanje vode, hipokalemije, hipertenzije, poremećaja srčanog ritma.</i> <i>Ne preporučuje se upotreba kod pacijenata obolelih od hipertenzije, bolesti bubrega, jetre, kardiovaskularnih poremećaja ili hipokalemije, jer su ovi pacijenti osjetljiviji na neželjene efekte korena sladića.</i>	<i>Retencija vode, hipokalemija, hipertenzija, srčana aritmija.</i>
<i>Polypodii rhizoma – rizom slatke paprati (8)</i>	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i> <i>Peptički ulkus.</i>	<i>Ne preporučuje se istovremena primena sa diureticima, kardiotoničnim glikozidima, kortikosteroidima, stimulativnim laksansima ili drugim lekovima koji mogu dovesti do disbalansa elektrolita.</i>	<i>Blagi laksantni efekat.</i>
<i>Grindeliae herba – herba grindelije (9)</i>	<i>Preosetljivost na sastojke droge ili druge biljke familije Asteraceae.</i>	<i>Ne preporučuje se kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i>	-

*Biljne droge sa odobrenom tradicionalnom primenom za koje je Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) izdao finalne monografije EU

Tabela II Aromatične biljne droge i etarska ulja za koje je odobrena tradicionalna primena „ekspекторанс kod kašla povezanog sa prehladom”: važne bezbednosne informacije.

Table II Aromatic herbal drugs and essential oils for which traditional use „an expectorant for cough associated with cold” has been approved: important safety information.

* Kontraindikacije	Specijalna upozorenja i mere opreza	Neželjena dejstva
<i>Thymi herba/aetheroleum – herba/etarsko ulje timijana (10, 11)</i>	<p><i>Preosetljivost na sastojke droge i druge biljke familije Lamiaceae.</i></p> <p><i>Ukoliko se koristi kao dodatak vodi za kupanje: u slučajevima otvorenih rana, velikih povreda kože, akutnih kožnih oboljenja, visoke temperature, teških infekcija, teških poremećaja cirkulacije i srčane insuficijencije.</i></p>	<p><i>Upotreba usitnjene droge, tinkture, tečnog i suvog ekstrakta se ne preporučuje kod dece mlađe od 12 godina. Upotreba tečnog ekstrakta koji sadrži amonijak, glicerol i etanol se ne preporučuje deci mlađoj od 4 godine.</i></p> <p><i>Eatarsko ulje timijana ne bi trebalo da se nanosi na lice, posebno u predelu nosa odojčadi i dece mlađe od dve godine zbog rizika od laringospazma.</i></p> <p><i>Upotreba etarskog ulja kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina se ne preporučuje.</i></p> <p><i>Upotreba etarskog ulja kao dodatka vodi za kupanje kod dece mlađe od 3 godine se ne preporučuje. U slučajevima hipertenzije, kupku koja sadrži etarsko ulje treba koristiti oprezno.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i></p>
<i>Anisi fructus/aetheroleum – plod/etarsko ulje anisa (12,13)</i>	<p><i>Preosetljivost na sastojke droge, druge biljke familije Apiaceae ili anetol.</i></p> <p><i>Deca i adolescenti mlađi od 18 godina (etarsko ulje anisa).</i></p>	<p><i>Primena ploda anisa se ne preporučuje kod dece mlađe od 12 godina, u toku trudnoće i laktacije.</i></p>
<i>Foeniculi amari fructus/F. dulcis fructus/ F. amari fructus aetheroleum - plod/etarsko ulje morača (14, 15, 16)</i>	<p><i>Preosetljivost na sastojke droge, druge biljke familije Apiaceae ili anetol.</i></p> <p><i>Deca i adolescenti mlađi od 18 godina (etarsko ulje morača).</i></p>	<p><i>Ne preporučuje se primena ploda slatkog i gorkog morača kod dece mlađe od 4 godine. Zbog svoje estrogene aktivnosti, veće doze etarskog ulja morača mogu uticati na hormonsku terapiju, oralnu kontraceptivnu terapiju i hormonsku supstitutivnu terapiju.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i></p>

*	Kontraindikacije	Specijalna upozorenja i mere opreza	Neželjena dejstva
<i>Eucalypti folium/ aetheroleum – list/ etarsko ulje eukaliptusa (17, 18)</i>	<p><i>Preosetljivost na sastojke droge (etarsko ulje eukaliptusa ili 1,8-cineol).</i></p> <p><i>Deca mlađa od 30 meseci, zbog rizika da preparati koji sadrže 1,8-cineol, mogu da izazovu laringospazam.</i></p> <p><i>Deca sa anamnezom napada (febrilnih ili nefebilnih).</i></p> <p><i>Ukoliko se koristi kao dodatak vodi za kupanje: u slučajevima otvorenih rana, velikih povreda kože, akutnih kožnih oboljenja, visoke temperature, teških infekcija, teških poremećaja cirkulacije i srčane insuficijencije.</i></p>	<p><i>Ne preporučuje se primena usitnjene biljne droge kod dece mlađe od 12 godina.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena tinktura kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena etarskog ulja eukaliptisa kod dece između 2,5 i 4 godine.</i></p> <p><i>U slučaju dermalne primene, izbegavati kontakt sa očima zbog iritacije. Etarsko ulje se ne sme nanositi na oštećenu ili nadraženu kožu.</i></p> <p><i>U slučaju oralne primene, etarsko ulje eukaliptusa treba koristiti oprezno u slučajevima upalnih i ulceroznih stanja u gastrointestinalnom traktu.</i></p> <p><i>Oralna upotreba kod dece mlađe od 12 godina se ne preporučuje zbog nedostatka adekvatnih podataka.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i></p>	-
<i>Origani dictamni herba – herba kritskog origana (19)</i>	<i>Preosetljivost na sastojke droge i druge biljke familije Lamiaceae.</i>	<i>Ne preporučuje se kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i>	-
<i>Sideritis herba – herba sideritisa (20)</i>	<i>Preosetljivost na sastojke droge i druge biljke familije Lamiaceae.</i>	<i>Ne preporučuje se kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i>	-
<i>Marrubii herba – herba očajnice (21)</i>	<p><i>Preosetljivost na sastojke droge ili druge biljke familije Lamiaceae.</i></p> <p><i>Opstrukcija žučnih puteva, holangitis, bolesti jetre, ileus.</i></p>	<p><i>Ne preporučuje se kod dece mlađe od 12 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena kod pacijenata sa aktivnim peptičkim ulkusom, kamenom u žući i drugim biljarnim poremećajima bez konsultacije sa lekarom.</i></p>	-

* Biljne droge i preparati biljnih droga sa tradicionalnom primenom za koje je Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) izdao finalne monografije EU.

Demulcentna sredstva

Druga grupa biljnih droga koje mogu da se koriste za ublažavanje suvog, nadražajnog kašlja su droge koje sadrže sluzi. Sluzi iz biljnih droga sprečavaju aktivaciju receptora i nadražaj na kašalj tako što oblažu sluzokožu ždrela, formirajući zaštitni omotač koji ih štiti od iritacije. Efekat je vezan za ždrelo jer se sluzi ne mogu resorbovati nakon oralne primene. Ovaj zaključak podržava studija Schmidgall et al. (2000) koja je pokazala da se polisaharidi iz belog sleza umereno vezuju za sluzokožu bukalne membrane životinja u eksperimentu *ex vivo*, odnosno da imaju umeren bioadhezivni efekat (28). Droege sa sluzima nemaju neželjene efekte, sem preosetljivosti. Jedino, može doći do sporije resorpције lekova ukoliko se preparati droga sa sluzima

koriste istovremeno sa drugim lekovima; na ovu mogućnost treba upozoriti pacijente (talus islandskog lišaja). Najvažnije droge sa sluzima koje se koriste kod nadražajnog, suvog kašlja su: koren/list belog sleza - *Althaeae radix/folium* (*Althaea officinalis*, Malvaceae) (29); cvet/list crnog sleza, *Malvae sylvestris flos/Malvae folium* (*Malva sylvestris* /*M. sylvestris*, *M. neglecta*, Malvaceae) (30,31); list muške bokvice - *Plantaginis lanceolatae folium* (*Plantago lanceolata*, Plantaginaceae) (32) i talus islandskog lišaja - *Lichen islandicus* (*Cetraria islandica*, Parmeliaceae) (33). Sve ove droge i njihovi preparati imaju zajedničku tradicionalnu primenu: „demulcentna sredstva za simptomatsku terapiju oralne ili faringealne iritacije praćene suvim kašljem”.

Pored biljnih lekova i tradicionalnih biljnih lekova namenjenih ublažavanju kašlja, treba spomenuti da se i druge biljne droge i njihovi preparati koriste za olakšavanje i ublažavanje simptoma koji prate prehladu. To se odnosi na iritaciju i bol u ždrelu, zapušen nos, curenje iz nosa i slično, a mogu se koristiti cvet divizme - *Verbasci flos*, herba strižuše - *Sisymbrii herba* ili koren južnoafričke muškatle - *Pelargonii radix* (34-36). Takođe, noviji podaci ukazuju na mogućnost korišćenja ekstrakta korena južnoafričke muškatle (*Pelargonii sidoides extract EPs 7630*) kod akutnih respiratornih infekcija; ovaj ekstrakt se smatra efikasnim i bezbednim za primenu i kod dece (37,38).

Tabela III Biljne droge sa sluzima za koje je odobrena tradicionalna primena „demulcentna sredstva kod oralne ili faringealne iritacije praćene suvim kašljem”: važne bezbednosne informacije.

Table III Mucilaginous herbal drugs for which traditional use „demulcent preparation for symptomatic treatment of oral or pharyngeal irritation and associated dry cough”: important safety information.

*	Kontraindikacije	Specijalna upozorenja i mere opreza
<i>Althaeae radix - koren belog sleza</i> (29)	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<i>Ne preporučuje se upotreba kod dece mlađe od 3 godine, tokom trudnoće i laktacije.</i> <i>Upotreba čvrstih doziranih oblika kod dece mlađe od 6 godina se ne preporučuje zbog farmaceutskog oblika.</i> <i>Tečni farmaceutski oblici koji sadrže etanol se ne preporučuju mладима od 18 godina.</i>
<i>Malvae sylvestris flos - cvet crnog sleza</i> (30)	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<i>Ukoliko se tokom primene leka pojave dispneja, groznica ili gnojni sputum, treba konsultovati lekara.</i> <i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i>
<i>Malvae folium- list crnog sleza</i> (31)	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<i>Ne preporučuje se kod mlađe od 12 godina, tokom trudnoće i laktacije.</i>
<i>Plantaginis lanceolatae folium – list muške bokvice</i> (32)	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<i>Oralna primena se ne preporučuje kod dece mlađe od 3 godine, bez saveta lekara.</i> <i>Oromukozalna primena se ne preporučuje kod dece i adolescenata mlađih od 18 godina.</i> <i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i>

*	<i>Kontraindikacije</i>	<i>Specijalna upozorenja i mere opreza</i>
<i>Lichen islandicus – talus islandskog lišaja (33)</i>	<i>Preosetljivost na sastojke droge.</i>	<p><i>Oralna primena u obliku infuza se ne preporučuje kod dece mlađe od 12 godina.</i></p> <p><i>Oralna primena tinkture koja sadrži etanol se ne preporučuje kod osoba mlađih od 18 godina.</i></p> <p><i>Oromukozalna primena u obliku macerata se ne preporučuje kod dece mlađe od 6 godina.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se istovremena primena sa drugim lekovima jer može doći do usporavanja njihove resorpcije. Proizvod treba uzimati pola sata do 1 sat pre ili posle uzimanja drugih lekova.</i></p> <p><i>Ne preporučuje se primena u toku trudnoće i laktacije.</i></p>

* Biljne droge i preparati biljnih droga sa tradicionalnom primenom za koje je Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) izdao finalne monografije EU.

U našoj zemlji registrovano je više biljnih i tradicionalnih biljnih lekova namenjenih terapiji kašla. Prema važećem Zakonu o lekovima i medicinskim sredstvima, biljni lek je svaki lek čiji su aktivni sastojci isključivo jedna ili više supstanci biljnog porekla ili jedan ili više biljnih preparata ili jedna ili više supstanci biljnog porekla u kombinaciji s jednim ili više biljnih preparata. Tradicionalni biljni lek je lek koji je zasnovan na naučnim principima i rezultat je tradicije ili drugih tradicionalnih terapijskih pristupa (39). Spisak biljnih lekova i tradicionalnih biljnih lekova sa izdatom dozvolom za lek u Republici Srbiji namenjenih terapiji kašla dat je u Tabelama IV i V.

Pregledom registrovanih biljnih lekova u Republici Srbiji, ustanovljeno je da je većina na bazi ekstrakata lista bršljana ili timijana (suvih ili tečnih) u vidu tečnih, doziranih oblika za oralnu primenu (sirupa, oralnog rastvora ili kapi). Ovi lekovi se koriste kao ekspektoransi kod produktivnog kašla kod odraslih, adolescenata i dece starije od 2 godine (osim u biljnom leku Bronchipret®, oralni rastvor koji nije namenjen za primenu kod dece mlađe od 6 godina zbog sadržaja alkohola). Po svom sastavu najviše se razlikuju GeloMyrtol® forte, gastrorezistentne kapsule koje sadrže smešu etarskih ulja eukaliptusa, slatke narandže, mirte i limuna i koriste se kao pomoć u iskašljavanju (sekretolitička terapija) kod akutnog i hroničnog bronhitisa i sinuzitisa kod odraslih i dece starije od 12 godina (40).

Većina registrovanih tradicionalnih biljnih lekova su sirupi na bazi preparata droga sa sluzima (talus islandskog lišaja, list muške bokvice, cvet crnog sleza i korena belog sleza), herbe timijana i korena jagorčevine. Tradicionalni biljni lekovi na bazi tečnih ekstrakata herbe timijana i korena jagorčevine se koriste kao ekspektoransi kod produktivnog kašla povezanog sa prehladom kod odraslih i dece starije od 12, odnosno 4 godine. Ukoliko lekovi iz ove kategorije sadrže preparate droga sa sluzima koriste se kao demulcentna sredstva, odnosno za terapiju suvog, nadražajnog kašla kod odraslih, adolescenata i dece mlađe od 3(4) godine. Izuzetak je tradicionalni biljni lek sa

ekstraktom talusa islandskog lišaja koji se u obliku sirupa može koristiti kod dece već od prve godine života (40).

Tabela IV Biljni lekovi registrovani u Republici Srbiji za terapiju kašlja (40).

Table IV Herbal medicines with marketing authorization in Republic of Serbia for the therapy of cough (40).

Naziv biljnog leka i proizvođač	Sastav	Oblik	Indikacija
HEDELIX® KREWEL-MEUSELBACH GMBH Nemačka	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), meki ekstrakt lista	Sirup; 8 mg/ml; boca staklena, 1x100 ml; 1x200 ml	Ekspektorans (za olakšavanje iskašljavanja) kod produktivnog kašla
Bronhoklirsyrups® bršljan PHARMANOVA D.O.O. OBRENOVAC Srbija	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), suvi ekstrakt lista	Sirup; 7 mg/ml; boca staklena, 1x125 ml	
Prospan® ENGELHARD ARZNEIMITTEL GMBH & CO.KG Nemačka		Pastila; 26 mg; blister, 2x10 kom	
	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), suvi ekstrakt lista	Sirup; 7 mg/ml; boca staklena, 1x100 ml; 1x200 ml	
		Šumeća tableta; 65 mg; strip, 5x20 kom	
		Oralni rastvor; 35 mg/5 ml; kesica, 15x5 ml; 21x5 ml	
		Oralne kapi, rastvor; 20 mg/ml; bočica sa kapaljkom, 1x20 ml	
Sirup bršljana Bocko® PHARMANOVA D.O.O. OBRENOVAC, Srbija	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), suvi ekstrakt lista	Sirup; 7 mg/ml; boca staklena, 1x125 ml	
Tuspan® SOPHARMA TRADING D.O.O. BEOGRAD - NOVI BEOGRAD, Srbija	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), suvi ekstrakt lista	Sirup; 7 mg/ml; boca plastična, 1x120 ml	
Herbion® sirup od bršljana KRKA, TOVARNA ZDRAVIL, D.D.Slovenija	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), suvi ekstrakt lista	Sirup; 7 mg/ml; boca staklena, 1x150 ml	
Mucoplant sirup za kašalj sa ekstraktom bršljana DR. THEISS NATURWAREN GMBH, Nemačka	Bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), suvi ekstrakt lista	Oralni rastvor; 154 mg/100 ml; boca staklena, 1x100 ml; 1x250 ml	

Naziv biljnog leka i proizvođač	Sastav	Oblik	Indikacija
GeloMyrtol® forte G. POHL-BOSKAMP GMBH & CO. KG Nemačka	Destilat smeše etarskih ulja eukaliptusa (<i>Eucalypti aetheroleum</i>), slatke narandže (<i>Aurantii dulcis aetheroleum</i>), mirte (<i>Myrti aetheroleum</i>) i limuna (<i>Limonis aetheroleum</i>) (66:32:1:1)	Gastrorezistentna kapsula, meka; 300 mg; blister, 2x10 kom	Pomoć u iskašljavanju (sekretolitička terapija) kod akutnog i hroničnog bronhitisa i sinuzitisa
Bronchipret® BIONORICA SE Nemačka	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L. ili <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe, bršljan (<i>Hedera helix</i> L.), tečni ekstrakt lista	Oralni rastvor; 1,5g/10g+0,15g/10g; bočica staklena, 1x100 ml; 1x50 ml	Ublažavanje simptoma akutnog bronhitisa sa produktivnim kašljem

Tabela V Tradicionalni biljni lekovi registrovani u Republici Srbiji za terapiju kašlja (40).

Table V Traditional herbal medicines with marketing authorization in Republic of Serbia for the therapy of cough (40).

Naziv tradicionalnog biljnog leka i proizvođač	Sastav	Oblik	Indikacija
Herbion® sirup od islandskog lišaja KRKA, TOVARNA ZDRAVIL, D.D. Slovenija	Islandski lišaj (<i>Cetraria islandica</i>), meki ekstrakt talusa	Sirup; 6 mg/ml; boca staklena, 1x150 ml	Iritacija sluzokože usne duplje i ždrela i kod suvog kašla
Herbion® sirup od jagorčevine KRKA D.D., NOVO MESTO, Slovenija	Jagorčevina (<i>Primula veris</i> L./ <i>Primula elatior</i> Hill.), tečni ekstrakt korena, timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L./ <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe	Sirup; 0,22-0,51 g/5 ml+0,62 g/5 ml; boca staklena, 1x150 ml	Ekspektorans kod prehlade praćene kašljem
Herbion® sirup od bokvice KRKA D.D., NOVO MESTO, Slovenija	Muška bokvica (<i>Plantago lanceolata</i>), tečni ekstrakt lista, crni slez (<i>Malva sylvestris</i>), tečni ekstrakt cveta, askorbinska kiselina	Sirup; 0,25 g/5 ml+0,25 g/5 ml+65 mg/5 ml; boca staklena, 1x150 ml	Simptomatska terapija suvog, iritirajućeg kašla.
Mucoplant DR. THEISS NATURWAREN GMBH, Nemačka	Muška bokvica (<i>Plantago lanceolata</i>), tečni ekstrakt lista	Sirup; 5 g/100 g; boca staklena, 1x100 ml Sirup; 5 g/100 g; boca staklena, 1x250 ml	Simptomatska terapija iritacije sluzokože usne duplje i ždrela povezane sa suvim kašljem.

Naziv tradicionalnog biljnog leka i proizvodač	Sastav	Oblik	Indikacija
Bronchicum® pastile SANOFI-AVENTIS SP. Z.O.O., Poljska	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L. i ili <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe	Komprimovana lozenga; 100 mg; blister, 2x10 kom	Ekspektorans kod kašlja povezanog sa prehladom
Bronchicum® sirup S A. NATTERMANN & CIE.GMBH, Nemačka	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L. i ili <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe	Sirup; 150 mg/ml; boca staklena, 1x100 ml	
Bronchicum® eliksir S A. NATTERMANN & CIE.GMBH, Nemačka	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L. i ili <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe, jagorčevina (<i>Primula veris</i> L. ili <i>Primula elatior</i> (L.) Hill.), tečni ekstrakt korena	Oralni rastvor; 50 mg/g+25 mg/g; boca staklena, 1x130 g	
Tussavit PHARMAZEUTISCHE FABRIK MONTAVIT GES.M.B.H., Austrija	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L. i ili <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe, muška bokvica (<i>Plantago lanceolata</i> L.), tečni ekstrakt lista	Sirup; 7,53 g/100 g+7,53 g/100 g; boca plastična, 1x250 g	Olakšavanje iskašljavanja kod prehlade praćene kašljem
Bronchostop® pastile KWIZDA PHARMA GMBH ,Austrija	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L./ <i>Thymus zygis</i> L.), suvi ekstrakt herbe	Pastila; 59,5 mg; blister, 2x10 kom	Kod produktivnog kašlaj povezanog sa prehladom
Bronchostop® sine sirup KWIZDA PHARMA GMBH, Austrija	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L./ <i>Thymus zygis</i> L.), suvi ekstrakt herbe, beli slez (<i>Althaea officinalis</i> L.), tečni ekstrakt korena	Sirup; 0,12 g/15 mL+0,83 g/15 ml; boca staklena, 1x120 ml	Demulcent za ublažavanje iritacije grla i kao ekspektorans kod kašlja, povezanog sa prehladom
Bronchostop® sirup KWIZDA PHARMA GMBH, Austrija	Timijan (<i>Thymus vulgaris</i> L./ <i>Thymus zygis</i> L.), tečni ekstrakt herbe, beli slez (<i>Althaea officinalis</i> L.), tečni ekstrakt korena	Sirup; 0,77 g/5,7 g+0,66 g/5,7 g; boca staklena, 1x170 g	

Zaključak

Značaj biljnih lekovitih proizvoda za ublažavanje simptoma kašlja povezanog sa akutnim respiratornim infekcijama je veliki. U našoj zemlji postoji veći broj registrovanih biljnih, odnosno tradicionalnih biljnih lekova na bazi biljnih droga ekspektorantnog delovanja i droga koje sadrže sluzi namenjenih ublažavanju kašlja. Treba ih koristiti prema uputstvu, za terapijske indikacije za koje su namenjeni, u dozama koje su preporučene, imajući u vidu sva ograničenja za primenu i neželjena dejstva koja se mogu javiti.

Literatura

1. Kardos P, Dinh QT, Fuchs KH, Gillissen A, Klimek L, Koehler M, Sitter H, Worth H. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beat-mungsmedizin zur Diagnostik und Therapie von erwachsenen Patienten mit Husten [Guidelines of the German Respiratory Society for Diagnosis and Treatment of Adults Suffering from Acute, Subacute and Chronic Cough]. *Pneumologie*. 2019;73(3):143-180.
2. Canning BJ, Chang AB, Bolser DC, Smith JA, Mazzone SB, McGarvey L. Anatomy and neurophysiology of cough: CHEST Guideline and Expert Panel report. *Chest*. 2014;146(6):1633-48.
3. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/325716/2017. Final: European Union herbal monograph on *Hedera helix* L., folium, London, 21 November 2017.
4. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/104095/2012. Final: Community herbal monograph on *Primula veris* L. and/or *Primula elatior* (L.) Hill , radix, London, 19 September 2012.
5. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/136582/2012. Final: Community herbal monograph on *Primula veris* L. and/or *Primula elatior* (L.) Hill , flos, London, 19 September 2012.
6. ESCOP Monographs. 2nd ed. Exeter: The European Scientific Cooperative on Phytotherapy. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; New York: Thieme New York, 2003.
7. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/571119/2010. Final: Community herbal monograph on *Glycyrrhiza glabra* L. and/or *Glycyrrhiza inflata* Bat. and/or *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., radix; London, 22 May 2012.
8. European Medicinal Agency. Doc. Ref.: EMEA/HMPC/600668/2007. Final: Community herbal monograph on *Polypodium vulgare* L., rhizoma, London, 6 November 2008.
9. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/748220/2011. Final: Community herbal monograph on *Grindelia robusta* Nutt., *Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal, *Grindelia humilis* Hook. et Arn., *Grindelia camporum* Greene, herba, London, 20 November 2012.
10. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/342332/2013. Final: Community herbal monograph on *Thymus vulgaris* L. and *Thymus zygis* L., herba, London, 12 November 2013.
11. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/131901/2009. Final: Community herbal monograph on *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loefl. ex L., aetheroleum, London, 16 September 2010.
12. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/321184/2012. Final: Community herbal monograph on *Pimpinella anisum* L., fructus, London, 12 November 2013.
13. European Medicinal Agency. EMA/HMPC/321185/2012. Final: Community herbal monograph on *Pimpinella anisum* L., aetheroleum, London, 12 November 2013.
14. European Medicines Agency. Doc. Ref.: EMEA/HMPC/137428/2006 Corr. Final: Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *vulgare*, fructus. London, 6 August 2007.
15. European Medicines Agency. Doc. Ref.: EMEA/HMPC/263293/2006 Corr. Final: Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *dulce* (Miller) Thellung, fructus. London, 6 August 2007.

16. European Medicines Agency. Doc. Ref. EMEA/HMPC/263292/2006, Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *vulgare*, aetheroleum, London, 5 July 2007.
17. European Medicines Agency. EMA/HMPC/892618/2011. Final: Community herbal monograph on *Eucalyptus globulus* Labill., folium, London, 15 April 2013.
18. European Medicines Agency. EMA/HMPC/307781/2012. Final: Community herbal monograph on *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus polybractea* R.T. Baker and/or *Eucalyptus smithii* R.T. Baker, aetheroleum, London, 25 March 2014.
19. European Medicines Agency. EMA/HMPC/200429/2012 Corr. Final: Community herbal monograph on *Origanum dictamnus* L., herba, London, 28 January 2014.
20. European Medicines Agency. EMA/HMPC/39453/2015. Final: European Union herbal monograph on *Sideritis scardica* Griseb.; *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub.) Hayek; *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr.; *Sideritis syriaca* L., herba, London, 2 February 2016.
21. European Medicines Agency. EMA/HMPC/604271/2012. Final: Community herbal monograph on *Marrubium vulgare* L., herba, London, 9 July 2013.
22. European Medicines Agency. EMA/HMPC/325715/2017. Final: Assessment report on *Hedera helix* L., folium, London, 21 November 2017.
23. Stauss-Grabo M, Atiye S, Warnke A, Wedemeyer RS, Donath F, Blume HH. Observational study on the tolerability and safety of film-coated tablets containing ivy extract (Prospan® Cough Tablets) in the treatment of colds accompanied by coughing. *Phytomedicine*. 2011;18:433-6.
24. Franova S, Nosalova G, Mokry J. Phytotherapy of cough. *Advances in Phytomedicine*. 2006;2:111-31.
25. Bauer L. Die Feinstruktur der menschlichen Bronchialschleimhaut nach Behandlung mit Ozothin. *Klinische Wochenschrift*. 1973; 51(9):450-53.
26. European Medicines Agency. Doc. Ref.: EMA/HMPC/84990/2015 Corr.¹; Final: European Union herbal monograph on *Thymus vulgaris* L. or *Thymus zygis* L., herba and *Primula veris* L. or *Primula elatior* (L.) Hill, radix, London 5 April 2016.
27. European Medicines Agency. Doc. Ref.: EMA/HMPC/85124/2015; Final: Assessment report on *Thymus vulgaris* L. or *Thymus zygis* L., herba and *Primula veris* L. or *Primula elatior* (L.) Hill, radix, London, 5 April 2016.
28. Schmidgall J, Schnetz E, Hensel A. Evidence for bio adhesive effects of polysaccharides and polysaccharide-containing herbs in an *ex vivo* bioadhesion assay on buccal membranes. *Planta Medica*. 2000;66:48-53.
29. European Medicines Agency. EMA/HMPC/436679/2015. Final: European Union herbal monograph on *Althaea officinalis* L., radix, London, 12 July 2016.
30. European Medicines Agency. EMA/HMPC/749511/2016. Final: European Union herbal monograph on *Malva sylvestris* L., flos, London, 20 November 2018.
31. European Medicines Agency. EMA/HMPC/749510/2016. Final: European Union herbal monograph on *Malva sylvestris* L. and/or *Malva neglecta* Wallr., folium, London, 20 November 2018.

32. European Medicines Agency. EMA/HMPC/437858/2010 Corr. Final: Community herbal monograph on *Plantago lanceolata* L., folium, London, 28 January 2014.
33. European Medicines Agency. EMA/HMPC/678891/2013. Final: European Union herbal monograph on *Cetraria islandica* (L.) Acharius s.l., thallus, London, 24 November 2014.
34. European Medicines Agency. EMA/HMPC/611537/2016. Final: European Union herbal monograph on *Verbascum thapsus* L., *V. densiflorum* Bertol. (*V. thapsiforme* Schrad) and *V. phlomoides* L., flos, London, 27 March 2018.
35. European Medicines Agency. EMA/HMPC/280193/2013. Final: European Union herbal monograph on *Sisymbrium officinale* (L.) Scop., herba, London, 30 September 2014.
36. European Medicines Agency. EMA/HMPC/444244/2015. Final: European Union herbal monograph on *Pelargonium sidoides* DC and/or *Pelargonium reniforme* Curt., radix, London, 05 June 2018.
37. Careddu D, Pettenazzo A. *Pelargonium sidoides* extract EPs 7630: a review of its clinical efficacy and safety for treating acute respiratory tract infections in children. International Journal of General Medicine. 2018;11:91-98.
38. European Medicines Agency. Doc. Ref.: EMA/HMPC/ 444251/2015; Final: Assessment report on *Pelargonium sidoides* DC and/or *Pelargonium reniforme* Curt., radix, London, 05 June 2018.
39. Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima. Službeni glasnik RS, br. 30/2010 i 107/2012.
40. Agencija za lekove i medicinska sredstva Republike Srbije [cited 2019 September 8]. Available from: <https://www.alims.gov.rs>.

Herbal medicinal products in the treatment of cough associated with colds

Tatjana Kundaković-Vasović^{*}, Jelena Radović

University of Belgrade-Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade

* Corresponding author Tatjana Kundaković-Vasović,
e-mail: ktatjana@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

Herbal medicinal products are very important for cough therapy and commonly used in both self-medication and doctor's recommendation. Herbal drugs used in cough therapy can be divided into expectorant and demulcent herbal drugs (drugs containing heteropolysaccharides, most commonly mucilages). Clinical studies have confirmed the efficacy of ivy leaf extracts and fixed combinations of thyme herb and primrose roots extracts as expectorants in productive cough, while for the most other herbal drugs and their preparations used in cough therapy only traditional use is documented. Each herbal drug used in cough therapy has its specific application restrictions (contraindications, special warnings, precautions, interactions, and adverse effects).

Key words: expectorant; demulcent; cough remedies; EMA/HMPC.

Biljni lekoviti proizvodi za ublažavanje simptoma urinarnih tegoba

Zoran Maksimović

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakognoziju,
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

Autor za korespondenciju, e-mail: zmaksim1@pharmacy.bg.ac.rs.
Tel. +381 63 16 43 504

Kratak sadržaj

Kod osoba oba pola su vrlo česti „simptomi donjeg urinarnog trakta” (LUTS) koji predstavljaju veliki klinički i javnozdravstveni problem zbog svog negativnog uticaja na brojne aspekte kvaliteta života. Biljni lekoviti proizvodi (BLP) imaju značajnu mogućnost primene kod lečenja akutnih nekomplikovanih infekcija urinarnog trakta (IUT) i benigne prostatičke opstrukcije (BPO) kao uzroka LUTS.

Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) navodi preko 20 biljnih droga koje se koriste za izradu tradicionalnih biljnih lekova (TBL) za lečenje IUT, a spadaju u biljne uroantiseptike i biljne diuretike. U kontekstu aktuelnih naučnih saznanja, smatra se da BLP predstavljaju korisnu dopunu savremenoj farmakoterapiji nekomplikovanih infekcija urinarnog trakta.

Biljni lekoviti proizvodi imaju mesto i u terapiji BPO. Prema EMA/HMPC, status biljnog leka imaju samo BLP na bazi mekog ekstrakta ploda sabal palme, dok se ostali primenjuju kao TBL u indikacionom području simptomatskog lečenja LUTS u vezi sa benignom hiperplazijom prostate. Biljni lekoviti proizvodi imaju slabije dejstvo od sintetskih lekova i nisu deo standardnih protokola za lečenje BPO. Međutim, imaju mnoge prednosti, od kojih je najznačajnija da se mogu uzimati u režimu samolečenja, uz konsultacije sa urologom, pa se mogu primeniti značajno ranije, u početnim fazama poremećaja.

Ključne reči: simptomi donjeg urinarnog trakta, infekcije urinarnog trakta, benigna prostatička opstrukcija, biljni lekoviti proizvodi, fitoterapija.

1. Uvod

U humanoj populaciji je, kod osoba oba pola, vrlo čest sindrom koji se naziva „simptomima donjeg urinarnog trakta” (Lower Urinary Tract Symptoms - LUTS). Ovaj termin je uveden u praksu 1994. godine, kako bi se opisale tegobe vezane za sistem organa donjeg urinarnog trakta, koje pacijenti osećaju bez obzira na njihov uzrok (1). Skraćenica „LUTS” je u poslednje vreme postala toliko odomaćena u medicinskoj literaturi na svim jezicima, da se koristi kao izraz kojim se opisuje poremećaj kvaliteta života, učestalo mokrenje, oslabljena mogućnost zadržavanja urina i često korišćenje zdravstvene zaštite (2).

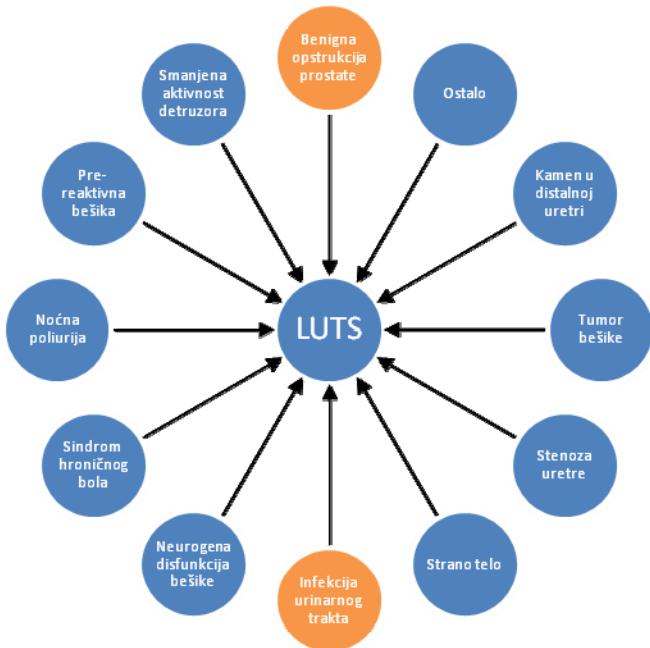
LUTS direktno utiču na brojne aspekte uobičajenih dnevnih aktivnosti i na skoro sve domene kvaliteta života. Posredno ili neposredno, utiču na povećanje troškova zdravstvenog osiguranja, odsustvovanje sa posla, smanjenu radnu sposobnost i produktivnost, seksualnu disfunkciju, poremećaj sna, anksioznost i depresiju. Ovaj sindrom ima i velike socijalne implikacije, budući da izaziva nelagodu, stid i gubitak samopouzdanja. Sve navedeno govori u prilog tome da LUTS predstavljaju veliki klinički i javnozdravstveni problem (1-3).

U LUTS se ubrajaju (2,3):

- **simptomi skladištenja** (eng. *storage symptoms*): nokturija, hitnost, povećana učestalost mokrenja, inkontinencija urina
- **simptomi pražnjenja** (eng. *voiding symptoms*): slab mlaz, mokrenje sa prekidima, čekanje na mlaz, naprezanje i
- **simptomi nakon mokrenja** (eng. *post-micturition symptoms*): osećaj nepotpunog pražnjenja bešike, kapljanje urina i sl.

LUTS se tradicionalno dovode u vezu sa opstrukcijom izlaznog dela mokraćne bešike (eng. *bladder outlet obstruction* - BOO), koju često (ali ne uvek) uzrokuje benigno uvećanje prostate (eng. *benign prostatic enlargement* - BPE) a koje je posledica benigne hiperplazije prostate (eng. *benign prostatic hyperplasia* - BPH), što je termin rezervisan za histološki nalaz kojim se oboljenje definiše.

Nasuprot prevaziđenom shvatanju da su LUTS vezani samo prostatu, danas se zna da su i druga stanja povezana sa LUTS, čime je značenje ovog termina prošireno. LUTS mogu biti izazvani i disfunkcijom bešike, strukturnim ili funkcionalnim abnormalnostima urinarnog trakta i okolnih tkiva, upalnim procesima, pa i ne-urološkim stanjima (Slika 1), od kojih oboljevaju i žene. Urinarna inkontinencija je, čak, višestruko češća kod žena, što važi i za infekcije urinarnog trakta. Kod muškarca, BPO je često jedini uzročnik LUTS, ali može da bude i konkomitentna patološka pojava (2,3).



Slika 1. Uzroci LUTS (prema EAU Guidelines, 2019)

Figure 1. Causes of LUTS (according to EAU Guidelines, 2019)

Biljni lekoviti proizvodi (BLP) se često primenjuju u lečenju akutnih nekomplikovanih infekcija urinarnog trakta i benigne opstrukcije prostate kao uzroka LUTS, pa će prikaz važnih novih informacija o BLP u ovim indikacionim područjima predstavljati težište ovog preglednog rada.

2. Infekcije urinarnog trakta

a) Opšte napomene

Infekcije urinarnog trakta (IUT) se ubrajaju u najčešće bakterijske infekcije i jedan su od najčešćih razloga propisivanja antibiotika (4). IUT su heterogena grupa kliničkih sindroma i bolesti koje se međusobno razlikuju po epidemiologiji, etiologiji, lokalizaciji, težini poremećaja opšteg stanja, opštim simptomima infekcije, izraženosti lokalnih simptoma infekcije, učestalosti i sklonosti ka recidiviranju, komplikacijama, ishodu, prognozi itd. (4).

Osnovni uslov za razvoj IUT je prisustvo mikroorganizama u urinarnom traktu. Međutim, prisustvo bakterija u urinu, samo po sebi, nije pouzdan znak IUT, jer je bakteriurija često asimptomatska. *Asimptomatska bakteriurija* se definiše bakterijskim rastom od $\geq 10^5$ cfu/ml čistog srednjeg mlaza urina u dva uzastopna uzorka kod žena i

jednog uzorka kod muškaraca, bez simptoma IUT (7). Asimptomatska bakteriurija je obično kolonizacija UT od strane simbiotskih bakterija. Ovo stanje se ne smatra infekcijom i ne tretira se, osim u precizno definisanim slučajevima kao što su planirano izvođenje neke urološke procedure kojom se narušava integritet mukoze, ili kod rizičnih grupa kao što su trudnice i osobe sa neregulisanim dijabetesom (7).

Ukoliko je potrebno, vrše se laboratorijske analize urina, koje započinju vizuelnim pregledom gde zamućenost, neprijatan miris, sediment i vidni tragovi krvi mogu da upute na IUT. Nalaz nitrita i/ili leukocitne esteraze i povećan broj leukocita u vidnom mikroskopskom polju preparata sedimenta urina (>5) mogu da ukažu na piuriju (4,6-9).

Bakterijske IUT klasifikuju se prema sledećim kliničkim kriterijumima (8):

- **Po nastanku:** akutne, hronične.
- **Po lokalizaciji:** zahvataju donji (uretritis, cistitis, prostatitis) ili gornji urinarni trakt (pijelonefritis, glomerulonefritis).
- **Po tendenciji ponavljanja:** recidivirajuće (rekurentne) ili povremene.
- **Po simptomatologiji:** simptomatske, asimptomatske.
- **Po faktoru komplikacije:** nekomplikovane ili komplikovane.

Akutne IUT prate karakteristični simptomi kao što su učestalo i bolno mokrenje i male količine urina, pekanje, osećaj neisprážnenosti bešike, suprapubični bol i slično (4,6-9).

Nekomplikovane IUT leči lekar opšte prakse, a moguće je i samolečenje. Komplikovane leči lekar - specijalista urologije. Svi oblici IUT kod muškaraca smatraju se komplikovanim. Kod žena, infekcija se smatra komplikovanom ukoliko postoji makroskopska hematurija, povišena telesna temperatura i/ili pozitivan nalaz ultrazvučnog pregleda (kamen, tumor, hidronefroza, retencija).

Ciljevi terapije IUT su usmereni na prevenciju ili saniranje sistemskih posledica infekcije, eradicaciju izazivača, prevenciju ponovne infekcije i prevenciju neželjenih efekata same terapije (pre svega, negativan uticaj na crevnu floru) (4). Kada se IUT dijagnostikuje, pristupa se terapiji antibioticima, koja relativno brzo pruža očekivane rezultate. Međutim, zbog frekventne, a često neodgovarajuće ili neracionalne upotrebe antibiotika u lečenju IUT i drugih infekcija, bakterije razvijaju mehanizme rezistencije, koji u velikoj meri smanjuju efikasnost antibiotika i ograničavaju spektar njihovog dejstva (10,11). U tim okolnostima primena BLP ima svoj puni smisao.

Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) je objavio 39 monografija EU za biljne droge i preparate biljnih droga od kojih se izrađuju BLP koji se mogu koristiti u lečenju oboljenja organa urogenitalnog trakta. Od ovog broja, više od 20 su droge koje se mogu koristiti u lečenju IUT, a spadaju u **biljne uroantiseptike i biljne diuretike**. Od izvesnog značaja su i **profilaktička sredstva**.

b) Biljni uroantiseptici

List planike (medveđeg grožđa), *Uvae-ursi folium* (*Arctostaphylos uva-ursi* L., Ericaceae) se koristi za izradu tradicionalnih biljnih lekova (TBL)⁵ (12), čija je indikacija ublažavanje simptoma nekomplikovanih rekurentnih infekcija donjeg urinarnog trakta, kao što su osećaj pečenja tokom uriniranja i/ili često uriniranje kod žena, nakon što je lekar isključio postojanje ozbiljnih stanja. Prema odgovarajućoj monografiji EU (13), koristi se usitnjena biljna droga za pripremu biljnog čaja za oralnu primenu, ili drugi preparati droge u vidu tečnih ili čvrstih doziranih oblika za oralnu primenu.

Terapijsku primenu lista planike i njegovih preparata prate ozbiljna ograničenja. Primena je kontraindikovana kod osoba preosetljivih na sastojke i osoba sa oboljenjima bubrega. Upotreba kod dece, adolescenata mlađih od 18 godina i muškaraca se ne preporučuje, jer lečenje IUT u ovim kategorijama stanovništva zahteva praćenje od strane lekara. Primena tokom trudnoće i dojenja se takođe ne preporučuje, zbog nedostatka dokaza o bezbednosti primene. Ukoliko tokom primene dođe do pogoršanja simptoma ili pojave povišene temperature, disurije, spazma ili krvi u urinu, treba konsultovati lekara (13).

Primenu droge *Uvae-ursi folium* i odgovarajućih preparata ponekad prate simptomi gastrointestinalnog diskomfora (mučnina, povraćanje, bol u stomaku), koji mogu da se razviju zbog visokog sadržaja tanina kao sastojaka. Takođe, primena preparata droge *Uvae-ursi folium* može da dovede i do promene boje urina u zelenkastomruku, što je prolaznog karaktera i ne utiče na efikasnost terapije (13).

⁵Tradicionalni biljni lek je lek koji se upisuje u Registar tradicionalnih biljnih, odnosno homeopatskih lekova ako ispunjava sledeće uslove (12):

- 1) ima indikacije koje su karakteristične isključivo za tradicionalne biljne lekove koji su po svom sastavu i nameni predviđeni za primenu bez lekarskog nadzora radi postavljanja dijagnoze ili izdavanja recepta ili radi praćenja toka lečenja;
- 2) predviđen je isključivo za primenu u skladu s propisanom jačinom i doziranjem;
- 3) namenjen je za oralnu upotrebu, spoljnu upotrebu, odnosno inhalaciju;
- 4) istekao mu je period tradicionalne upotrebe, odnosno proteklo je najmanje 30 godina upotrebe pre datuma podnošenja zahteva za izdavanje dozvole za lek, od čega najmanje 15 godina na teritoriji Evropske unije;
- 5) postoji dovoljno podataka o tradicionalnoj upotrebi leka, odnosno pokazano je da nije štetan pri propisanim uslovima primene, kao i da se mogu očekivati njegovi farmakološki efekti ili njegova efikasnost na osnovu njegove dugotrajne upotrebe i iskustva.

Tabela I Doziranje droge i preparata droge *Uvae-ursi folium***Table I** Posology of *Uvae-ursi folium* herbal substance and preparations

Preparat droge	Doziranje (odrasli)
Usitnjena biljna droga	PD**: 1,5-4 g na 150 ml ključale vode kao infuz ili 150 ml vode kao macerat, 2-4 x dnevno. DD**: najviše 8 g
Sprašena biljna droga	PD: 700 – 1050 mg 2 x dnevno; DD: 1,75 g
Suvi ekstrakt (DER* 3,5 – 5,5:1, etanol 60% V/V); sadrži 23,5 – 29,3% derivata hidrohinona, računato kao bezvodni arbutin, određen spektrofotometrijski)	PD: odgovara 100-210 mg hidrohinonskih derivata računato kao bezvodni arbutin, 2-4 puta dnevno; DD: odgovara 200–840 mg hidrohinonskih derivata računato kao bezvodni arbutin.
Tečni ekstrakt (DER 1:1, etanol 25% V/V)	PD: 1,5–4 ml do 3 x dnevno. DD: najviše 8 ml

*DER: Drug to extract ratio (odnos mase droge i ekstrakta); **PD: pojedinačna doza; DD: dnevna doza

c) Biljni diuretici

Biljne droge sa diuretičkim delovanjem obično sadrže etarska ulja, flavonoide, i/ili saponozide i povećavaju protok krvi u glomerulima, a samim tim i obim glomerularne filtracije. Droeke koje sadrže etarska ulja ili saponozide, nadražuju bubrežni epitel, stimulišući tako glomerularnu filtraciju. Terapiji nekomplikovanih IUT doprinose povećanjem volumena i protoka izlučenog urina (efekat ispiranja) (14).

Komitet za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) je izdao monografije EU većeg broja droga sa diuretičkim delovanjem (Tabela 2) (15-35). Za sve njih je karakteristično da se primenjuju za izradu TBL čija je indikacija povećanje zapremine urina, radi ispiranja organa urinarnog trakta, kao pomoć i dopuna terapiji kod blažih urinarnih tegoba. Primjenjuju se oralno, najčešće u obliku biljnog čaja (infuz, dekukt, macerat) ili različitih ekstrakata. Potrebno je savetovati pacijenta da, tokom uzimanja droga i preparata droga sa diuretičkim delovanjem, unosi povećane količine tečnosti.

Dužina primene droga i preparata droga sa diuretičkim delovanjem je ograničena najčešće na 2-4 nedelje, sa izuzetkom *Ononidis radix* (1 nedelja) i *Juniperi pseudo-fructus* (*Juniperi galbulus*), koja se uzima tako što se prvog dana dobro sažvaće 5 bobičastih šišarica i njihov broj povećava svaki dan za po 1, do maksimalnih 15; onda se njihov broj smanjuje za po 1, do 5 bobičastih šišarica. Dužina tretmana je 21 dan. Ako se droga *Juniperi pseudo-fructus* koristi u obliku biljnog čaja, dužina primene je kao u Tabeli II. Generalno, ukoliko se simptomi ne povuku tokom primene ili se intenziviraju, potrebno je potražiti savet lekara ili farmaceuta. (15-35).

Tabela II Biljne droge i preparati biljnih droga sa diuretičkim delovanjem**Table II** Herbal drugs and preparations with diuretic activity

Droga	Biološki izvor	Primena*	Uzrast	Referenca
<i>Agropyri repensis rhizoma</i> (Ph. Eur. <i>Graminis rhizoma</i>)	<i>Agropyron repens</i> (L.) P. Beauv., Poaceae	2-4 nedelje	≥18 godina	15
<i>Arctii radix</i>	<i>Arctium lappa</i> L., Asteraceae	2 nedelje	≥18 godina	16
<i>Betulae folium</i>	<i>Betula pendula</i> Roth; <i>B. pubescens</i> Ehrh., Betulaceae	2-4 nedelje	≥12 godina	17
<i>Equiseti herba</i>	<i>Equisetum arvense</i> L., Equisetaceae	2-4 nedelje	≥12 godina	18
<i>Fragariae folium</i>	<i>Fragaria vesca</i> L.; <i>F. moschata</i> Weston; <i>F. viridis</i> Weston; <i>F. x ananassa</i> (Weston) Duchesne ex Rozier, Rosaceae	2 nedelje	≥12 godina	19
<i>Fraxini folium</i>	<i>Fraxinus excelsior</i> L.; <i>F. angustifolia</i> Vahl, Oleaceae	2 nedelje	≥18 godina	20
<i>Juniperi pseudo-fructus/aetheroleum</i>	<i>Juniperus communis</i> L., Cupressaceae	2 nedelje	≥18 godina	21,22
<i>Levistici radix</i>	<i>Levisticum officinale</i> Koch., Apiaceae	2-4 nedelje	≥18 godina	23
<i>Mate folium</i>	<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hilaire, Aquifoliaceae	2 nedelje	≥18 godina	24
<i>Oleae folium</i>	<i>Olea europaea</i> L., Oleaceae	2-4 nedelje	≥18 godina	25
<i>Ononis radix</i>	<i>Ononis spinosa</i> L., Fabaceae	1 nedelja	≥12 godina	26
<i>Orthosiphonis folium</i>	<i>Orthosiphon stamineus</i> Benth., Lamiaceae	-	≥18 godina	27
<i>Phaseoli fructus sine semine</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L., Fabaceae	2 nedelje	≥18 godina	28
<i>Pilosellae herba cum radice</i>	<i>Hieracium pilosella</i> L., Asteraceae	2 nedelje	≥18 godina	29
<i>Polygoni avicularis herba</i>	<i>Polygonum aviculare</i> L., Polygonaceae	1 nedelja	≥12 godina	30
<i>Ribis nigri folium</i>	<i>Ribes nigrum</i> L., Grossulariaceae	2 nedelje	≥18 godina	31
<i>Solidaginis virgaureae herba</i>	<i>Solidago virgaurea</i> L., Asteraceae	2-4 nedelje	≥12 godina	32
<i>Taraxaci folium/radix cum herba</i>	<i>Taraxacum officinale</i> Weber ex Wigg., Asteraceae	2 nedelje	≥12 godina	33,34
<i>Urticae folium/herba</i>	<i>Urtica dioica</i> L.; <i>U. urens</i> L., Urticaceae	2-4 nedelje	≥12 godina	35

„Primena“ se odnosi na dužinu primene. U monografijama EU, ona je dvojako označena: eksplisitno (2-4 nedelje) i frazom „ukoliko simptomi persistiraju duže od __ nedelje tokom primene lekovitog proizvoda, konsultovati lekara ili kvalifikovanog zdravstvenog radnika“. Za drogu *Ortosiphonis folium*, u odgovarajućoj monografiji, dužina primene nije navedena.

Primena droga i preparata droga sa diuretičkim delovanjem, kontraindikovana je generalno kod preosetljivosti na biljne sastojke i stanja kod kojih je preporučen smanjeni unos tečnosti (teška bubrežna ili srčana bolest) (15-35). Primena korena sa herbom i lista maslačka (*Taraxaci radix cum herba/folium*) je kontraindikovana dodatno i kod preosetljivosti na maslačak ili druge vrste familije Asteraceae, opstrukcije žučnih puteva, akutne upale žučne kese ili žučnih puteva, bilo koje druge bolesti hepatobilijarnog sistema, kao i u slučaju aktivnog peptičkog ulkusa.

Pored opštih kontraindikacija (preosetljivost, stanja kod kojih je preporučen smanjeni unos tečnosti), primena *Mate folium* je kontraindikovana i kod gastričkog i duodenalnog ulkusa, kardiovaskularnih bolesti (hipertenzija i aritmija) i hipertireoidizma (15-35). Osobe na terapiji inhibitorima MAO treba da uzimaju preparate droge *Mate folium* sa oprezom. Kao droga koja sadrži kofein, *Mate folium* može da smanji sedativno delovanje i poveća neželjena delovanja simpatomimetičkih lekova, pa se istovremena primena sa ovim lekovima ne preporučuje (24).

Kod ostalih droga i preparata droga sa diuretičkim delovanjem, nisu opisane interakcije sa lekovima (15-35).

d) Species diureticae - diuretički čaj

Diuretički čaj je čajna mešavina koja se primenjuje za povećanje količine izlučenog urina, radi postizanja efekta ispiranja urinarnog trakta kod blažih urinarnih tegoba (Slika 2) (36).

Formuliše se tako da broj biljnih droga u finalnom proizvodu bude najviše 4. Za pojedine kombinacije droga postoji dokaz o tradicionalnosti primene i one su adekvatno označene (Slika 2). Mogu se koristiti i druge kombinacije droga iz popisa, iako nema formalnog dokaza o tradicionalnosti njihove primene, u smislu perioda primene na teritoriji EU (prim. aut.). Dodatne biljne droge, tj. droge van liste mogućih sastojaka diuretičkog čaja, mogu imati samo ulogu ekscipijensa, pri čemu njihov broj, količina i uloga moraju biti opravdani (36).

Na Slici 2, krajnji desni red tabele ukazuje na uobičajenu količinu pojedine biljne droge u kombinaciji. Droege se kombinuju u količinama koje obezbeđuju efikasnost. Zbir količina biljnih droga je 100%, pri čemu količina ekscipijenasa ne ulazi u proračun (36).

	Betulae folium	Equiseti herba	Graminis rhizoma	Juniperi galbulus	Levisticci radix	Mate folium	Ononis radix	Orthosiphonis folium	Phaseoli fructus	Polygoni avicul. herba	Solidaginis virg. herba	Urticae herba / folium	Uvae ursi folium	Udeo u kombinaciji (bez ekscipijenasa)
Betulae folium		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10–57%
Equiseti herba	+		+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	10–61%
Graminis rhizoma	+	+		+			+	+					+	10–25%
Juniperi galbulus	+	+	+		+		+	+			+			10–50%
Levisticci radix	+	+		+			+							20–33%
Mate folium	+	+						+	+				+	10%
Ononis radix	+	+	+	+	+			+		+		+	+	10–50%
Orthosiphonis folium	+	+	+	+		+	+		+		+		+	10–50%
Phaseoli fructus	+	+				+		+					+	10–20%
Polygoni avic. herba	+						+					+	+	12%
Solidaginis virg. herba	+	+		+				+					+	18–29%
Urticae herba/folium	+	+					+			+			+	11–22%
Uvae ursi folium	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+		20–50%

Znak + ukazuje na tradicionalnost primene određene kombinacije

Slika 2. Diuretički čaj (36)

Figure 2. Diuretic herbal tea combinations (36)

Diuretički čaj se primenjuje kao infuz, prelivanjem 1,5–2 g čajne mešavine sa 150 ml ključale vode i uzima 3–4 puta dnevno (36).

Primena kombinacija koje sadrže (među ostalim aktivnim sastojcima) *Juniperi galbulus* (*Juniperi pseudo-fructus*), *Levisticci radix*, *Mate folium*, *Orthosiphonis folium*, *Phaseoli fructus sine semine* ili *Uvae-ursi folium* se ne preporučuje osobama mlađim od 18 godina. Ostale kombinacije se ne preporučuju osobama mlađim od 12 godina. Ukoliko simptomi IUT potraju duže od 2 nedelje od početka uzimanja, treba potražiti savet lekara (36).

Primena bilo koje formulacije diuretičkog čaja je kontraindikovana kod preosetljivosti na aktivne sastojke i stanja kod kojih se preporučuje smanjen unos tečnosti (npr. teška srčana ili bubrežna bolest). Kombinacije koje sadrže *Betulae folium* dodatno su kontraindikovane kod preosetljivosti na polen breze. Kombinacije koje sadrže *Levisticci radix* dodatno su kontraindikovane kod preosetljivosti na druge biljke iz familije Apiaceae, ili na anetol (36).

Ukoliko se, tokom primene simptomi pogoršaju, ili se javi povišena temperatura, disurija, spazam ili krv u urinu, potražiti pomoć lekara (36).

Tokom trudnoće i dojenja, primena diuretičkog čaja se ne preporučuje, jer bezbednosni profil primene nije ustanovljen, a kombinacije koje sadrže *Uvae-ursi folium* treba izbegavati (36). Ukoliko postoje, neželjena delovanja su opisana u pojedinačnim monografijama biljnih droga. (36).

e) Profilaktička sredstva

Plod američke brusnice, *Vaccinii macrocarponi fructus* (*Vaccinium macrocarpon* Ait., Ericaceae) se koristi odvajkada u svakodnevnom životu naroda severa Evrope (Skandinavija, sever Velike Britanije), Kanade i SAD: od ploda se pripremaju sirupi, ekstrakti, sok, marmelada ili razni namazi (37). U poslednje vreme su proizvodi na bazi soka ploda američke brusnice vrlo dostupni i na tržištu farmaceutskih proizvoda u Srbiji, isključivo kao dijetetski proizvodi - dodaci ishrani.

Plod američke brusnice sadrži polifenole kao što su flavonoidi (pretežno derivati kvercetina i miricetina), antocijanini, katehini, proantocijanidini (PAC različitog stepena polimerizacije i prostornog rasporeda oligomera, od kojih su najvažniji tzv. PAC-A derivati), šećere (glukoza, fruktoza), polisaharide, vitamine (askorbinska kiselina), organske kiseline (hina, jabučna, šikiminska, limunska i salicilna), iridoide, triterpenske kiseline (ursolna kiselina i njeni derivati). (37-39).

Do sada nije ustanovljen definitivan mehanizam na kojem se temelji aktivnost preparata ploda brusnice u smislu prevencije rekurentnih IUT. Pretpostavlja se da PAC-A derivati ometaju adheziju patogenih sojeva bakterija na sluzokožu organa urinarnog trakta, što ih sprečava da se pričvrste i formiraju kolonije. Pokazano je, međutim, da PAC nisu u stanju da odvoje bakterije od epitelnih ćelija UT kada se jednom vežu za njih (38-40). Pored toga, pokazan je uticaj sastojaka soka američke brusnice na flagelaciju i motilitet *Escherichia coli*, kao i uticaj na smanjenje sposobnosti različitih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija da formiraju bio-film (39).

Sličnu aktivnost sok američke brusnice ispoljava i na *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Proteus mirabilis* (40).

Sve u svemu, postoji izvestan nivo dokaza da proizvodi na bazi soka američke brusnice mogu da budu efikasni u smanjenju incidence IUT (41). Međutim, ispostavlja se da efektivnost u prevenciji IUT može da se očekuje samo kod žena u reproduktivnom razdoblju života, ali je i ona vrlo mala. Rezultati kliničkih studija izvedenih do 2009. godine nisu omogućili donošenje zaključka o efikasnosti u prevenciji IUT kod starijih osoba oba pola ili osoba sa neuropatskom bešicom (41). Pored toga, uočen je veliki broj odustajanja od učešća u studijama, što ukazuje na to da sok američke brusnice nije prihvatljiv za primenu tokom dužeg vremenskog perioda (verovatno zbog kiselog i oporog ukusa, prim. aut.). Naponsetku, nema jasnih pokazatelja ni o tome koja količina i koncentracija soka američke brusnice treba da se konzumira, kao i ni koliko bi trebalo da traje primena (41).

Poslednjih godina, značajno je povećan broj velikih kliničkih studija koje su bile posvećene ispitivanju efikasnosti i bezbednosti različitih preparata ploda američke brusnice, najčešće soka, ali i čvrstih doziranih oblika, što je dovelo do reevaluacije prethodno iznetih zaključaka u Cochrane Database of Systematic Reviews (42). Trenutno, korpus dokaza ukazuje na to da primena proizvoda na bazi ploda američke brusnice (sok ili čvrsti dozirani oblici) u prevenciji IUT, u poređenju sa placeboom ili antibioticima, ne obezbeđuje značajnu korist u većini populacionih grupa. Izvesnu prednost pri upotrebi imaju čvrsti dozirani oblici u odnosu na sok, zbog bolje komplijanse. Preovladava stav da će buduće kliničke studije biti opravdane samo ako se nastave u pravcu ispitivanja efikasnosti čvrstih doziranih oblika na bazi standardizovanih preparata ploda američke brusnice u subpopulaciji žena sa rekurentnim IUT. Preporučena dnevna doza PAC ploda američke brusnice za dalja istraživanja je najmanje 36 mg dnevno, ili adekvatna količina bilo kog drugog preparata ploda američke brusnice kojom može da se obezbedi preporučena doza PAC (42).

3. Benigna hiperplazija prostate i prostatička opstrukcija

a) Opšte napomene

Naziv benigna hiperplazija prostate (BHP) koristi se za opisivanje dobroćudnog rasta epitelnih, mišićnih i vezivnih ćelija prostate. BHP se danas ne smatra oboljenjem, već histološkim nalazom koji je u osnovi dobroćudnog povećanja prostate usled kojeg se razvija prostatička opstrukcija (BPO) kao vid opstrukcije izlaznog dela mokraćne bešike (2,3,43,44).

Histološke promene u prostati povećavaju se starenjem i mogu se uočiti kod približno 40% muškaraca u 6. deceniji života i kod 90% muškaraca u 9. deceniji života (2,3). Sprovedena su brojna ispitivanja raznih demografskih i drugih faktora, koji bi se mogli okarakterisati kao uzročnici ovih histoloških promena ili predisponirajući faktori za nastanak BHP. Kao najznačajniji faktori uticaja identifikovani su, za sada (2,3):

- godine starosti
- porodična istorija bolesti (genetska sklonost se nasleđuje kao autozomno dominantno svojstvo)
- gojaznost i povišen BMI, kao i metabolički sindrom (biohemski i fiziološki poremećaji koji su u vezi sa razvojem kardiovaskularne bolesti i dijabetesa tip 2)
- ostali promenljivi životni faktori (smanjena fizička aktivnost, povećan unos crvenog mesa i masti, alkoholizam, konzumiranje cigareta itd.).

Zašto se BHP razvija, još uvek nije razjašnjeno. Jedna od najšire prihvaćenih hipoteza je endokrinološka, koja naglašava ulogu cirkulatornih androgena među kojima je najznačajniji testikularni testosteron (2,3,43).

b) Osnovne terapijske prepostavke

Razvoj BPO je dugotrajan proces, tokom kojeg mogu nastati brojne komplikacije. One se mogu razviti vrlo brzo, a može proći i mnogo godina do njihovog ispoljavanja. Mogu biti lake, a nekada veoma teške - čak smrtonosne, zbog sepse ili uremije. Glavne komplikacije su: retencija urina, urinarna infekcija, hematurija, bubrežna insuficijencija, kalkuloza, divertikuloza i opstruktivni refluks urina. Zato se BPO mora lečiti (2,3).

Osnovni simptomi i znaci BPO su teškoće pri započinjanju uriniranja, slab i umanjen mlaz urina, isprekidan mlaz pri kraju uriniranja, poliurija i nokturija, nemogućnost da se do kraja isprazni bešika, urgentna potreba za uriniranjem, često bez ikakvog upozorenja i nemogućnost zaustavljanja toka urina u toku uriniranja (2,3,45).

Kako bi se isključila mogućnost postojanja karcinoma prostate, nefritisa, infekcije urinarnog trakta i drugih nefrouroloških oboljenja, često je potrebno uputiti pacijenta lekaru - specijalisti urologije. Simptomi i znaci koji svakako zahtevaju upućivanje lekaru su: zamućen urin, krv u urinu ili urin neprijatnog mirisa, bol u donjem abdomenu, mučnina i povraćanje, telesna temperatura $>38^{\circ}\text{C}$, drhtavica i jeza, iznenadna nemogućnost uriniranja, oticanje bešike koje može da se napipa rukama (45).

Terapija BPO je, zbog nejasne etiologije i patogeneze, isključivo simptomatskog karaktera. Šta će se preduzeti, zavisi od težine kliničke slike oboljenja, što određuje lekar - specijalista urologije.

Muškarce s blagim do umerenim simptomima treba pažljivo pratiti (tzv. „watchful waiting“) ili lečiti konzervativno, najčešće savetima o promeni životnih navika (smanjenje uzimanja tečnosti u večernjim satima, kofeina, alkohola i veštačkih zaslađivača), vežbama za jačanje muskulature dna karlice, vežbama disanja i načina skretanja pažnje usled iritantnih simptoma i potrebe za toaletom i sl. (2,3,45).

Ako su konzervativne mere neuspešne, indikovana je farmakoterapija ili fitoterapija. U farmakoterapiji se primenjuju α_1 -adrenergički blokatori (doksazosin, silodosin, tamsulosin i terazosin), inhibitori 5 α -reduktaze (dutasterid i finasterid), antagonisti muskarinskih receptora (darifenacin, fesoterodin, oksibutinin, propiverin, solifenacin, tolterodin, trospijum-hlorid), inhibitori 5-fosfodiesteraze (tadalafil), β_3 -agonisti (mirabegron), kombinovana terapija (α_1 -adrenergički blokatori + inhibitori 5 α -reduktaze; α_1 -adrenergički blokatori + antagonisti muskarinskih receptora), uz nastavak sprovođenja higijensko-dijetetskog režima (2,3,44,45).

Biljni lekoviti proizvodi nisu deo standardne terapije BHP, mada se često primenjuju. Ne utiču na veličinu prostate i progresiju bolesti, ali dovode do poboljšanja nekih simptoma. Mogu da budu od koristi kod pacijenata sa blagim do umerenim simptomima (2,43-45).

Pacijenti sa teškim simptomima, u slučaju neuspeha konzervativnih mera, fitoterapije i farmakoterapije, leče se hirurški (2,3).

c) Biljni lekovi za primenu kod BPO/BHP

Prema monografijama EU, biljni lekovi se koriste u indikacionom području simptomatskog lečenja BPO i sadrže **meki ekstrakt ploda sabal palme**, *Sabalis serrulatae fructus* (DER 7-11:1; rastvarač za ekstrakciju heksan; sadrži 92% slobodnih ili esterifikovanih masnih kiselina i 2% nesaponifikovanih supstanci).

Koristi se u dozi od 320 mg jednom dnevno, ili 160 mg 2 puta dnevno (46).

d) Tradicionalni biljni lekovi za primenu kod BPO/BHP

Prema monografijama EU, TBL se primenjuju u indikacionom području simptomatskog lečenja simptoma donjeg urinarnog trakta u vezi sa BHP, nakon što je lekar isključio postojanje ozbiljnih stanja. Za izradu TBL koriste se:

- **Meki ekstrakt ploda sabal palme**, *Sabalis serrulatae fructus* (DER 7,5-14,3:1; rastvarač za ekstrakciju etanol 90-96% m/m): koristi se u dozi od 320 mg jednom dnevno (46).
- **Seme bundeve**, *Cucurbitae peponis semen*, **usitnjeno ili in toto**: koristi se u dozi od 2,5 – 7,5 g dva puta dnevno (47).
- **Meki ekstrakt semena bundeve** (DER 15-25:1; rastvarač za ekstrakciju etanol 92% m/m): koristi se u dozi od 500 mg dva puta dnevno (47).
- **Suvi ekstrakt semena bundeve** (15-30:1; rastvarač za ekstrakciju etanol 60% V/V): koristi se u dozi od 105 mg tri puta dnevno ili 152 mg dva puta dnevno (47).
- **Masno ulje semena bundeve**: koristi se u dozi od 1 – 1,2 g tri puta dnevno (47).
- **Meki ekstrakt kore afričke šljive**, *Pruni africanae cortex* (DER 114-222:1; rastvarač za ekstrakciju hloroform): koristi se u dozi od 50 mg dva puta dnevno (48).
- **Usitnjen koren koprive**, *Urticae radix*: koristi se u pojedinačnoj dozi od 1,5 g za pripremu dekokta, 3-4 puta dnevno (49).
- **Suvi ekstrakt korena koprive** (DER 7,1-14,3:1; rastvarač za ekstrakciju metanol 20% V/V): koristi se u pojedinačnoj dozi od 160 mg, tri puta dnevno ili 460 mg jednom dnevno (49).
- **Suvi ekstrakt korena koprive** (DER 6,7-8,3:1; rastvarač za ekstrakciju etanol 20% V/V): koristi se u pojedinačnoj dozi od 240 mg, tri puta dnevno (49).
- **Suvi ekstrakt korena koprive** (DER 12-16:1; rastvarač za ekstrakciju etanol 70% V/V): koristi se u pojedinačnoj dozi od 150-190 mg, dva puta dnevno (49).

- **Tečni ekstrakt korena koprive** (DER 1:1; rastvarač za ekstrakciju etanol 30% V/V): primenjuje se u dnevnoj dozi od najviše 5 ml, podeljeno u 3-4 pojedinačne doze (49).
- **Usitnjena herba vrbovice**, *Epilobii herba*: koristi se u pojedinačnoj dozi od 1,5-2 g droge za pripremu infuza, dva puta dnevno (50).

e) Ostali biljni lekoviti proizvodi za primenu kod BHP

Prema Vodiču Evropskog udruženja urologa (2019), u lečenju ne-neurogenog LUTS muškaraca koriste se: seme bundeve, krtola vrste *Hypoxis rooperi* T.Moore (sin. *Hypoxis hemerocallidea* Fisch.Mey. & Avé-Lall.), kora afričke šljive, polen raži (*Secale cereale*), plod sabal palme i koren koprive (3).

Naposletku, Komisija E pri Ministarstvu zdravlja Savezne Republike Nemačke je 1994. godine odobrila upotrebu preparata *Extractum pollinis siccum* (suvi ekstrakt polena) čija je aktivna komponenta ekstrakt polena raži (*Secale cereale*, Poaceae; 92 %), popinog praseta (*Phleum pratense*, Poaceae; 5 %) i kukuruza (*Zea mays*, Poaceae; 3 %), načinjenog smesom acetona i vode (51).

f) Mehanizam delovanja biljnih lekovitih proizvoda za primenu kod BPO/BHP

Aktivne komponente i mehanizmi delovanja svih navedenih droga i preparata droga još uvek nisu u potpunosti identifikovani, ali se pretpostavlja da su fitosteroli (Δ^5 -steroli: β -sitosterol, β -sitosteril-3-O-glukozid i Δ^7 -steroli), lektini i neke masne kiseline odgovorne za uočene efekte (3,43).

Δ^5 - i Δ^7 -Steroli imaju izraženu struktturnu sličnost sa testosteronom i dihidrotestosteronom (DHT) i moguće je da se zbog toga uključuju u metabolizam testosterona, ili nadmeću sa DHT prilikom vezivanja za androgene receptore u citoplazmi ćelija prostate, što dovodi do poboljšanja urodinamičkih parametara usled sniženja koncentracije intraprostatičkog DHT (43).

Pored fitosterola, određeni uticaj imaju i drugi sastojci pomenutih biljnih droga i preparata droga: linolna kiselina utiče na metabolizam arahidonske kiseline do prostaglandina, koji učestvuju u regulaciji tonusa detrusora i sfinktera mokraćne bešike, dok karotenoidi deluju kao neutralizatori slobodnih radikala (43). *In vitro*, biljni ekstrakti mogu da ispolje i druga delovanja, kao što su sniženje nivoa SHBG (Sexual Hormone Binding Globulin) u plazmi, inhibicija enzima aromataze i 5α -reduktaze, supresija proliferacije ćelija prostate stimulisane faktorom rasta, inhibicija α -adrenoceptora, muskarinskih holinoceptora, vaniloidnih receptora, kalcijumskih kanala na krvnim sudovima, itd. (3). *In vivo* efekti ovih sastojaka su nesigurni, a precizni mehanizmi delovanja biljnih ekstrakata do daljeg ostaju nejasni (3).

g) Kontraindikacije i neželjena delovanja biljnih lekovitih proizvoda za primenu kod BPO/BHP

Jedina opisana kontraindikacija za sve biljne i tradicionalne biljne lekove za primenu kod BPO/BHP je preosetljivost na sastojke (46-50).

Neželjena delovanja biljnih lekovitih proizvoda su, po pravilu, retka i blaga (46-50). Kod biljnog leka na bazi lipofilnog ekstrakta ploda sabal palme, moguć je razvoj gastrointestinalnih (abdominalni bol, nauzeja), hepatobilijarnih (retko povećanje transaminaza ili γ -glutamil-transferaza) i endokrinih poremećaja (reverzibilna ginekomastija). Takođe, moguća je pojava promena na koži (osip) i potkožnim tkivima i glavobolja (46).

Primenu tradicionalnog biljnog leka na bazi etanolnog ekstrakta ploda sabal palme mogu da prate gastrointestinalni poremećaji (abdominalni bol – naročito ako se uzme na prazan stomak, nauzeja, povraćanje, dijareja), alergija i glavobolja (46).

Tradicionalni biljni lekovi na bazi semena bundeve, retko, mogu da izazovu gastrointestinalne smetnje (47).

Primenu TBL na bazi kore afričke šljive mogu da prate simptomi digestivnih poremećaja (mučnina, konstipacija ili dijareja) (48).

Biljni lekoviti proizvodi na bazi korena koprive, retko, mogu da izazovu gastrointestinalne smetnje (mučnina, gorušica, osećaj punoće, nadimanje ili dijareja) ili kožne alergijske simptome kao što su svrab, osip, koprivnjača (49).

Za herbu vrbovice nema opisanih neželjenih delovanja (50).

h) Terapijski značaj biljnih lekovitih proizvoda za primenu kod BPO/BHP

Biljni lekoviti proizvodi imaju slabije dejstvo od sintetskih, i nisu deo standardnih protokola za lečenje BPO/BHP. Međutim, činjenica je da ni sintetski lekovi ne omogućavaju kauzalnu terapiju, što daje određenu svrhu primeni BLP (43,51).

Kao problem kod primene BLP, Evropsko udruženje urologa ističe činjenicu da ekstrakti istih droga koje proizvode različiti proizvođači - ne moraju nužno da ispoljavaju iste biološke i kliničke efekte, iz čega sledi da se efekti uočeni kod primene preparata jednog proizvođača ne mogu jednostavno ekstrapolirati na druge (3). Pored toga, različite proizvodne šarže istog proizvođača mogu da sadrže različite koncentracije aktivnih sastojaka (3). Nedavni revijalni prikaz uticaja različitih tehnika ekstrakcije na hemijski sastav i biološku aktivnost ekstrakata ploda sabal palme, pokazao je da rezultati različitih kliničkih studija ne mogu da se porede ako nije korišćena ista validirana ekstrakcionala tehnika za proizvodnju ekstrakata i ako sadržaj aktivne supstance nije podudaran u ispitivanim slučajevima, jer farmakokinetički parametri različitih preparata mogu da variraju u značajnoj meri (3).

Meta-analizom, kojom je obuhvaćeno 32 kliničke studije trajanja 4-72 nedelje, u kojima je učestvovalo 5666 muškaraca, nije utvrđena značajna razlika između preparata ploda *Serenoa repens* i placebo u smislu promene ishoda studije - smanjenja skora simptoma (3). Dvema dodatnim meta-analizama, koje su bile usmerene na heksanski ekstrakt ploda *S. repens* a za koji se smatra da ima povoljnije karakteristike u smislu koncentracije i vrste terapijski značajnih sastojaka, pokazan je pozitivan uticaj na nokturniju i neke urodinamičke parametre u odnosu na placebo, sličan efektu tamsulosina i inhibitora 5 α -reduktaze na ublažavanje LUTS (3). Meta-analiza podataka kliničkih ispitivanja preparata na bazi kore *Pygeum africanum* i polena *Secale cereale* ukazuje na to da su muškarci koji su dobijali ispitivane ekstrakte prijavljivali poboljšanje simptoma dvostruko češće nego oni koji su primali placebo. Međutim, ove analize nisu dopunjavane novim podacima više od 15 godina, a kvalitet dokaza je ograničen malim brojem učesnika, kratkim vremenom praćenja, korišćenjem različitih doza i preparata pomenutih droga i ocenjivanjem ishoda lečenja nestandardnim postupcima (3). Zbog svega navedenog, a pre svega heterogenosti BLP i metodoloških ograničenja objavljenih kliničkih studija i meta-analiza, savremeni vodići dobre kliničke prakse ne preporučuju ovu vrstu terapije (2,3).

Ipak, BLP za primenu kod BPO imaju i neke prednosti. Za razliku od sintetskih lekova, BLP se mogu uzimati u režimu samolečenja, uz konsultacije sa urologom, tako da se BLP mogu primeniti ranije, u početnim fazama terapije (prim. aut.). Pored toga, BLP se dobro podnose i imaju malo neželjenih delovanja koja su, po pravilu, blaga i na nivou placebo (3). BLP ne dovode do smanjenja volumena ejakulata, smanjenja libida i pojave impotencije ili ortostatske hipotenzije, zamora i glavobolje kao čestih sporednih efekata koji prate primenu nekih lekova (43,51). Na kraju, BLP ne utiču na nivo PSA (*Prostate Specific Antigen*) u plazmi, jednog od markera koji se koristi u dijagnostici karcinoma prostate (51).

4. Zaključak

Pored konvencionalnih lekova, BLP se takođe koriste za ublažavanje simptoma urinarnih tegoba. Njihova bezbednost i efikasnost najčešće se zasnivaju na osnovu iskustava stečenih dugogodišnjom primenom u tradicionalnoj medicini i rezultata pretkliničkih istraživanja. Klinički potvrđene efekte i status biljnog leka, prema monografijama EU koje je do sada objavio EMA/HMPC, ima samo meki ekstrakt ploda sabal palme načinjen heksanom. Svi ostali BLP, koji se koriste kao uroantiseptici, diuretici i za primenu kod BPO imaju status TBL. Plod američke brusnice, kao profilaktičko sredstvo, za sada se koristi samo kao sastojak hrane ili dijetetski proizvod - dodatak ishrani.

Zbog niskog nivoa prijavljenih neželjenih efekata, BLP ostaju korisna dopuna savremenoj farmakoterapiji nekomplikovanih infekcija urinarnog trakta i benigne prostatičke opstrukcije.

Literatura

1. Wennberg AL. Lower urinary tract symptoms in women – aspects on epidemiology and treatment [dissertation]. [Göteborg, Sweden]: University of Gothenburg, The Sahlgrenska Academy, Institute of Clinical Sciences, Department of Urology; 2009. 83 p.
2. Babić UM. Procena efekata operativnog lečenja benignog uvećanja prostate na simptome donjeg urinarnog trakta i kvalitet života [dissertation]. [Beograd, Srbija]: Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet; 2017. 142 p.
3. Gravas S, Cornu JN, Gacci M, Gratzke C, Herrmann TRW, Mamoulakis C, Rieken M, Speakman MJ, Tikkinen KAO, Karavitakis M, Kyriazis I, Malde S, Sakalis V, Umbach R. EAU Guidelines on Management of Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS), including Benign Prostatic Obstruction (BPO). European Association of Urology, EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands, 2019.
4. Škerk V, Dujnić Špoljarević T. Infekcije mokraćnog sustava. MEDICUS 2012; 21(1): 23-27.
5. Zulić S, Tvica J. Infekcija urinarnog trakta u djece. Pedijatrija danas 2007; 3(2):164-176
6. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča u kliničkoj praksi Infekcije urinarnog trakta. Nacionalni vodič za lekare u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Beograd, 2004.
7. Bonkat G, Bartoletti RR, Bruyère F, Cai T, Geerlings SE, Köves B, Schubert S, Wagenlehner F, Mezei T, Pilatz A, Pradere B, Veeratterapillay R. EAU Guidelines on Urological Infections. European Association of Urology, EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands, 2019.
8. Stojsavljević-Šatara S, Tepić R, Žigić M. Bolesti mokraćno-polnog sistema. Upale urinarnog sistema kod odraslih. Klinički vodič za primarnu zdravstvenu zaštitu. Ministarstvo zdravlja i socijalne zaštite Republike Srpske.
9. http://www.vladars.net/sr-SP-Cyril/Vlada/Ministarstva/MZSZ/Publikacije/Pages/Zdravstvena_zastita.aspx
10. Đukanović Lj. Rekurentne infekcije mokraćnih puteva: antimikrobna i imunoaktivna profilaksa. Biomedicinska istraživanja 2015; 6(2):146-156.
11. Pešić S, Grbović L, Nikolić V. Primena antimikrobnih lekova u terapiji infekcija u ginekologiji i akušerstvu. Acta Medica Medianae 2008; 47:56-64.
12. Radna grupa za izradu vodiča dobre kliničke prakse za racionalnu upotrebu antibiotika. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za racionalnu upotrebu antibiotika. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2018.
13. Pravilnik o bližim uslovima i načinu upisa leka u Registar tradicionalnih biljnih, odnosno homeopatskih lekova. Službeni glasnik RS br. 100/2011 od 29.12.2011.
14. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., folium. EMA/HMPC/750269/2016. London: 30 January 2018.

15. Bone K, Mills S. Principles and Practice of Phytotherapy. Second edition. Edinburgh: Churchill-Livingstone Elsevier; 2013.
16. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Agropyron repens* (L.) P. Beauv., *rhizoma*. EMA/HMPC/563408/2010. London: 22 November 2011.
17. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Arctium lappa* L., *radix*. EMA/HMPC/246763/2009 Corr.1. London: 16 September 2010.
18. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Betula pendula* Roth and/or *Betula pubescens* Ehrh. as well as hybrids of both species, *folium*. EMA/HMPC/573241/2014. London: 24 November 2014.
19. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Equisetum arvense* L., *herba*. EMA/HMPC/278091/2015. London: 2 February 2016.
20. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Fragaria vesca* L., *Fragaria moschata* Weston, *Fragaria viridis* Weston and *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne ex Rozier, *folium*. EMA/HMPC/432278/2015. London: 20 November 2018.
21. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Fraxinus excelsior* L. or *Fraxinus angustifolia* Vahl, *folium*. EMA/HMPC/239271/2011. London: 27 March 2012.
22. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Juniperus communis* L., *aetheroleum*. EMA/HMPC/12402/2010. London: 25 November 2010.
23. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Juniperus communis* L., *pseudo-fructus*. EMA/HMPC/441929/2008. London: 12 November 2009.
24. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Levisticum officinale* Koch, *radix*. EMA/HMPC/524621/2011. London: 20 November 2012.
25. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Ilex paraguariensis* St. Hilaire, *folium*. EMA/HMPC/580539/2008. London: 6 May 2010.
26. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Olea europaea* L., *folium*. EMA/HMPC/359238/2016. London: 31 January 2017.
27. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Ononis spinosa* L., *radix*. EMA/HMPC/138317/2013. London: 25 March 2014.
28. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Orthosiphon stamineus* Benth., *folium*. EMA/HMPC/281496/2009. London: 11 March 2010.
29. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Phaseolus vulgaris* L., *fructus sine semine*. EMA/HMPC/317319/2012. London: 12 November 2013.
30. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Hieracium pilosella* L., *herba cum radice*. EMA/HMPC/680374/2013. London: 5 May 2015.
31. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Polygonum aviculare* L., *herba*. EMA/HMPC/143658/2015. London: 5 April 2016.
32. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Ribes nigrum* L., *folium*. EMA/HMPC/745353/2016. London: 19 September 2017.
33. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Taraxacum officinale* Weber ex Wigg., *folium*. EMA/HMPC/579636/2008. London: 12 November 2009.

34. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Taraxacum officinale* Weber ex Wigg., *radix cum herba*. EMA/HMPC/212895/2008. London: 12 November 2009.
35. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L.; *Urtica urens* L., *folium*. EMA/HMPC/508015/2007. London: 14 January 2010.
36. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L.; *Urtica urens* L., *herba*. Doc. Ref. EMEA/HMPC/170261/2006. London: 4 September 2008.
37. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Species diureticae*. EMA/HMPC/224755/2016. London: 28 March 2017.
38. Turner A. The pharmacognosy of cranberries (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) as a urologic dietary supplement. [Chicago (IL)]: University of Illinois at Chicago; 2006. 137 p.
39. Neto CC, Vinson JA. Cranberry. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2011. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92762/>
40. CHMP scientific opinion to DG Internal Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs, Unit GROW D.4. „Health Technology & Cosmetics” on the principal mode of action of proanthocyanidins intended to be used for prevention and treatment of urinary tract infections. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). EMA/427414/2016. London: 22 July 2016.
41. Dugoua JJ, Seely D, Perri D, Mills E, Koren G. Safety and efficacy of cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) during pregnancy and lactation. *Can J Clin Pharmacol* 2008; 15(1):e80-e86.
42. Jepson RG, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008, Issue 1. Art. No.: CD001321. DOI: 10.1002/14651858.CD001321.pub4.
43. Jepson RG, Williams G, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 10. Art. No.: CD001321.DOI: 10.1002/14651858.CD001321.pub5
44. Maksimović Z. Primena biljnih lekova kod benigne hiperplazije prostate. *Arhiv za farmaciju* 2009; 59(5): 488-499.
45. Džamić Z, Nikić P, Kajmaković B, Milojević B, Radovanović M. Hiperplazija prostate (BPH) N40. Farmakoterapijski protokoli u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. Republički fond za zdravstveno osiguranje, Beograd, 2014.
46. Katedra za farmakokinetiku i kliničku farmaciju. Smernice za farmaceute: „Farmaceutska zdravstvena zaštita u terapiji benigne hiperplazije prostate”.
47. <http://www.ph.bg.ac.rs/files/Razno/2017/Smernice%20za%20farmaceut/26%20Benigna%20hiperplazija%20prostate.pdf>
48. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Serenoa repens* (W. Bartram) Small, *fructus*. EMA/HMPC/280079/2013. London: 24 November 2015.
49. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Cucurbita pepo* L., *semen*. EMA/HMPC/136024/2010. London: 20 November 2012.
50. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Prunus africana* (Hook f.) Kalkm., *cortex*. EMA/HMPC/680626/2013. London: 12 July 2016.

51. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L., their hybrids or their mixtures, *radix*. EMA/HMPC/461160/2008. London: 24 September 2012.
52. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Epilobium angustifolium* L. and/or *Epilobium parviflorum* Schreb., *herba*. EMA/HMPC/712511/2014. London: 24 November 2015.
53. Schulz V, Hänsel R, Tyler VE. Rational phytotherapy. 4th English edition. Berlin - Heidelberg: Springer-Verlag; 2001.

Herbal medicinal products for relieving symptoms of urinary disorders

Zoran Maksimović

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade

Corresponding author: e-mail: zmaksim1@pharmacy.bg.ac.rs. Tel. +381 63 16 43 504

Summary

In both sexes, „lower urinary tract symptoms” (LUTS) are a very common syndrome that present a major clinical and public health problem due to its negative impact on numerous quality of life aspects. Herbal medicinal products (HMPs) holds an important place in the therapy of acute uncomplicated urinary tract infections (UTIs) and benign prostatic obstruction (BPH) as frequent causes of LUTS.

Committee on Herbal Medicinal Products of the European Medicines Agency (EMA/HMPC) lists more than 20 herbal drugs used for production of traditional herbal medicinal products (THMPs) for the treatment of UTIs, classified as urinary antiseptics and diuretics. In the context of actual scientific data, HMPs are considered as a useful adjunct to contemporary pharmacotherapy of uncomplicated UTIs.

HMPs have a place in the therapy of BPO, too. According to EMA/HMPC, only one herbal medicinal product with soft hexane extract of saw palmetto fruit has the status of a herbal medicine, while the others are used as TMPs for the relief of LUTS related to benign prostatic hyperplasia. HMPs are less potent than synthetic medicines, and still are not included in standard BPO treatment protocols. However, their use have some great advantages: they can be taken through self-medication, in consultation with the urologist and, therefore, applied significantly earlier than synthetic medicines in initial stages of the disorder.

Key words: lower urinary tract symptoms, urinary tract infections, benign prostatic obstruction, herbal medicinal products, phytotherapy.

Bezbednosni aspekti primene biljnih proizvoda koji sadrže jedinjenja sa potencijalnim rizikom

Milica M. Drobac^{*}, Jelena S. Arsenijević, Mirjana D. Marčetić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakognoziju,
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

^{*}Autor za korespondenciju Milica Drobac, Tel. +381 11 3951 387
e-mail: milica.drobac@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Pojedine biljne droge i preparati biljnih droga sadrže jedinjenja sa potencijalnim rizikom primene, kao što su pirolizidinski alkaloidi (npr. u korenju gaveza, *Symphyti radix*, listu podbela, *Farfarae folium*, rizomu lopuha, *Petasitidis rhizoma*), kumarin (u kori kineskog cimeta, *Cassiae cortex*, herbi ždraljevine, *Meliloti herba*), estragol (u plodovima gorkog i slatkog morača, *Foeniculi amari/dulcis fructus*, plodu anisa, *Anisi fructus*, herbi bosiljka, *Basilici herba*), tujon (u listu žalfije, *Salviae officinalis folium*, herbi belog pelena, *Absinthii herba*) ili azaron (u rizomu idirota, *Calami rhizoma*). Za ove sastojke i droge/preparate droga koji ih sadrže utvrđeni su prihvatljivi, ograničeni dnevni unosi kao i preporuke za dužinu primene.

Farmaceut ima ključnu ulogu u savetovanju pacijenata o primeni proizvoda na bazi biljnih droga i preparata biljnih droga, uključujući i one koji sadrže jedinjenja sa potencijalnim rizikom i veoma je važno da bude upoznat sa karakteristikama i pravilnom primenom ovih biljnih proizvoda.

Ključne reči: pirolizidinski alkaloidi, kumarin, tujon, estragol, azaron

Uvod

Sa porastom upotrebe biljnih proizvoda poslednjih decenija, pitanje bezbednosti njihove primene dobija sve veći značaj. Iako zbog prirodnog porekla, biljne droge i preparati biljnih droga, najčešće, imaju povoljan odnos korist/rizik, ipak ne mogu se svi smatrati u potpunosti bezbednim za primenu. Pojedini biljni proizvodi, kao i konvencionalni lekovi, mogu ispoljiti neželjena delovanja i/ili stupiti u interakciju sa lekovima (1, 2).

U radu su prikazani uslovi za bezbednu primenu biljnih droga i preparata biljnih droga koji sadrže jedinjenja sa potencijalnim rizikom primene kao što su: pirolizidinski alkaloidi, kumarin, tujon, estragol i azaron.

Pirolizidinski alkaloidi

Pirolizidinski alkaloidi (PA) su sekundarni metaboliti biljaka, koji su značajni sa toksikološkog aspekta, zbog svoje hepatotoksičnosti. Do sada je u prirodi pronađeno oko 660 PA (uključujući i njihove N-okside), a smatra se da je oko polovina hepatotoksična (3). Rasprostranjeni su, prvenstveno, u biljkama nekoliko rodova familije Asteraceae: *Senecio*, *Tussilago*, *Eupatorium*, familije Boraginaceae: *Echium*, *Heliotropium*, *Symphytum* i familije Fabaceae: *Crotalaria* (4).

Pirolizidinski alkaloidi su lipofilna jedinjenja, brzo se resorbuju iz digestivnog trakta, i potom se u jetri najveći deo prevodi u veoma toksične pirolne estre, koji se kao alkilirajući agensi vezuju za proteine, DNK i RNK, dovodeći do oštećenja jetre (5).

Za PA karakteristična je hronična toksičnost. Slučajevi akutnog trovanja pirolizidinskim alkaloidima su retki i zabeleženi su u nerazvijenim zemljama. Do akutnih trovanja dolazi zbog konzumiranja žitarica kontaminiranih semenom biljaka iz robova *Crotalaria* i *Heliotropium* koje sintetišu PA (6).

Biljne droge koje sadrže PA su: koren gaveza, *Symphyti radix*, list podbela, *Farfarae folium*, rizom i list lopuha, *Petasitidis rhizoma/folium*.

Koren gaveza, *Symphyti radix* se prema preporukama Komiteta za biljne lekovite proizvode Evropske agencije za lekove (EMA/HMPC) primenjuje dermalno u obliku etanolnog ekstrakta kod uganuća i modrica, ne duže od 10 dana (7). Pored toga, u narodnoj medicini koren gaveza se primenjuje i oralno u obliku infuza, kod plućnih bolesti, gastritisa i preloma kostiju (8). Međutim, zbog prisustva PA (0,2-0,4%) (9), oralna primena korena gaveza se ne preporučuje, a za dermalnu primenu postoji ograničenje u pogledu izloženosti pirolizidinskim alkaloidima do 1 µg dnevno tokom 10 dana. Biljni lekoviti proizvodi sa ekstraktom korena gaveza treba da imaju naznačen sadržaj PA (10).

Slično, zbog prisustva PA, oralna primena lista podbela, *Farfarae folium*, kao demulcentnog sredstva kod suvog kašla se ne preporučuje, već se savetuje primena drugih droga sličnog delovanja, npr. korena belog sleza ili talusa islandskog lišaja (5).

Rizom lopuha, *Petasitidis rhizoma*, primenjuje se u profilaksi migrene i kod alergijskog rinitisa, pre svega zahvaljujući prisustvu seskviterpena petazina (11, 12). Primena u obliku infuza nije dozvoljena, jer sadrži značajne količine PA koji se prilikom pripreme ekstrahuju u infuz, čime bi maksimalni dozvoljeni dnevni unos PA bio prekoračen. Zbog toga je razvijen specijalan tehnološki postupak ekstrakcije kojim se dobija ekstrakt koji ne sadrži PA, i za koji je u nekoliko kliničkih ispitivanja utvrđen povoljan efekat u profilaksi migrene i kod alergijskog rinitisa (11, 13, 14). Takav ekstrakt ulazi u sastav proizvoda na tržištu Nemačke i Švajcarske namenjenih za terapiju migrene i alergijskog rinitisa (15).

U skorije vreme utvrđeno je da PA mogu biti kontaminanti nekih biljnih sirovina, odnosno biljnih droga, koje inače ne sadrže PA. Neke od biljaka koje sintetišu PA su uobičajeni korovi (npr. *Senecio* vrste), tako da do kontaminacije najčešće dolazi prilikom prikupljanja biljnog materijala. Pirolizidinski alkaloidi kao kontaminanti najčešće se javljaju u vrlo niskim koncentracijama, ali mogu se detektovati savremenim analitičkim tehnikama (4). U Velikoj Britaniji je 2016. god. povučeno sa tržišta 6 serija jednog tradicionalnog biljnog leka (TBL) sa ekstraktom herbe kantariona zbog prisustva PA (16). Prema preporuci EMA/HMPC, koja se odnosi na kontaminaciju biljnih lekovitih proizvoda (BLP) pirolizidinskim alkaloidima, trenutno je prihvatljiv unos PA (za osobu telesne mase 50 kg) do 1 µg dnevno, tokom najduže dve nedelje (17). Međutim, od 2021. god. očekuje se smanjenje prihvatljivog dnevног unosa na manje od 0,35 µg dnevno (18).

Biljne droge, koje inače ne sadrže PA, a za koje je na osnovu preliminarnih ispitivanja utvrđeno da postoji najveći rizik da budu kontaminirane PA i za koje je neophodno kontrolisati sadržaj PA su: herba kantariona (*Hyperici herba*), herba pasiflore (*Passiflorae herba*), cvast kamilice (*Matricariae flos*), herba virka (*Alchemillae herba*), list matičnjaka (*Melissae folium*), list pitome nane (*Menthae piperitae folium*), list žalfije (*Salviae officinalis folium*), herba sa korenom maslačka (*Taraxaci herba cum radix*), koren sladića (*Liquiritiae radix*) i herba timijana (*Thymi herba*), a među njima posebna pažnja obraća se na herbu kantariona, list matičnjaka i herbu pasiflore (17).

Osim u biljnim proizvodima, PA mogu biti prisutni i u medu, u koji dospevaju putem polena i nektara koji pčele prikupljaju sa biljaka koje sintetišu PA (19).

U cilju procene kontaminacije biljnih droga koje ne sadrže PA, čajnih mešavina i biljnih dijetetskih suplemenata, proteklih godina sprovedena su ispitivanja komercijalnih uzoraka u zemljama Evropske unije. U velikom broju ispitanih uzoraka biljnih čajeva utvrđeno je prisustvo bar jednog ili dva PA. Takođe, PA su detektovani i

u velikom broju biljnih suplemenata sa tržišta zemalja EU u čiji sastav ulaze droge koje ne sadrže PA (3, 19-22). Novije istraživanje pokazalo je da prilikom pripreme infuza, stepen ekstrakcije PA, koji su kao kontaminanti prisutni u biljnim drogama, iznosi 16-28%, tako da je realna izloženost pirolizidinskim alkaloidima prilikom primene infuza manja (6).

Kumarin

Kumarin (benzo- α -piron) je sastojak mnogih biljaka iz različitih familija: Fabaceae (npr. vrste roda *Melilotus*), Poaceae, Rubiaceae, Asteraceae, a u malim količinama nalazi se i u voću poput urme, jagode, kupine, kajsije, višnje (5).

Ima specifičan miris, osladak i svež, koji podseća na miris pokošenog sena. Zbog toga se sintetski kumarin široko koristi u parfimerijskoj industriji, a ranije je korišćen i kao sredstvo za aromatizaciju hrane i pića, sve dok nije utvrđena njegova hepatotoksičnost i kancerogenost na laboratorijskim životinjama (5, 23).

Hepatotoksičnost i kancerogenost kumarina uočena je u ispitivanjima na životinjama, pri primeni velikih doza i tokom dugotrajne izloženosti (23, 24). Ustanovljeno je i da su eksperimentalne životinje podložnije nastanku toksičnih oštećenja jetre od ljudi, što se objašnjava različitim metaboličkim putevima kumarina. U humanom organizmu, kumarin se dominantno metaboliše do netoksičnog 7-hidroksikumarina aktivnošću enzima CYP2A6, dok kod životinja uz pomoć CYP3A2 nastaju hepatotoksični i kancerogeni metaboliti. Međutim, kod pojedinih osoba (sa genskim polimorfizmom enzima CYP2A6, pojedinim oboljenjima jetre, hroničnim limfedemom) može doći do nastanka hepatotoksičnih metabolita. Kako se ovaj metabolički put kumarina kod ljudi ne može u potpunosti isključiti, kumarin se ne može smatrati u potpunosti bezbednim. Slučajevi hepatotoksičnosti kod ljudi zabeleženi su uglavnom kod pacijenata sa hroničnom venskom insuficijencijom koji su kumarin primali peroralno u dozi većoj od 90 mg dnevno, ali su dokumentovani i pojedini slučajevi toksičnih reakcija nakon primene više od 25 mg/dan kumarina. Pojava ovih slučajeva ukazala je na postojanje grupe pacijenata koja je podložnija nastanku toksičnih oštećenja jetre pri primeni kumarina (23).

Pored toga, utvrđeno je da se kumarin *in vivo* ne vezuje kovalentno za DNK, odnosno da ne predstavlja genotoksični kancerogen, tako da se određeni ograničen dnevni unos može smatrati prihvatljivim (23, 24).

Evropska agencija za bezbednost hrane (EFSA) i Nemački federalni institut za procenu rizika (BfR) utvrdili su prihvatljiv dnevni unos kumarina (PDU) od 0,1 mg/kg telesne mase (t.m.)/dnevno (24, 25).

Uzimajući u obzir dostupne podatke o toksičnosti, uključujući i vremena nastanka štetnih efekata i oporavka po prestanku izloženosti kumarinu, kao i vreme polueliminacije kumarina, zaključeno je da unos kumarina do 3 puta veći od PDU u

ograničenom vremenskom periodu od jedne do dve nedelje ne predstavlja opasnost (26). Prema važećim evropskim propisima, direktno dodavanje kumarina kao sredstva za aromatizaciju hrane i pića je zabranjeno, a postavljene su i granice sadržaja kumarina prirodno prisutnog u pojedinim kategorijama prehrabbenih proizvoda (27).

Od biljnih droga koje sadrže kumarin, najznačajnija je herba kokoca ili ždraljevine (*Meliloti herba*). Herba kokoca primenjuje se oralno kod manjih poremećaja venske cirkulacije i dermalno kod blažih inflamacija kože (28).

Imajući u vidu analizu, zaključke i preporuke EFSA, kao i podatke o dozama kumarina koje su dovele do pojave toksičnih reakcija kod ljudi, prilikom procene bezbednosti primene proizvoda na bazi herbe kokoca, EMA/HMPC je ograničila dnevnu dozu proizvoda namenjenih za oralnu primenu na 2,0-2,4 g herbe za pripremu infuza, odnosno na 750 mg sprašene herbe u čvrstim doziranim oblicima, kao i dužinu primene ovih proizvoda do najviše 2 nedelje. Dermalno se primenjuje tečni ekstrakt koji odgovara do 2 g herbe, tokom nedelju dana. Na proizvodima koji sadrže herbu kokoca treba da bude naznačen sadržaj kumarina (28, 29).

Drugi značajan izvor kumarina su kore kineskog (*Cinnamomum cassia* Blume syn. *C. aromaticum* Nees), indonežanskog (*C. burmanii* (Nees & T.Nees) Blume) i sajgonskog (*C. loureiroi* Nees) cimeta, tzv. „*Cassia*” kore, koje se pre svega koriste kao začin, ali se tradicionalno primenjuju i kod gastrointestinalnih tegoba, gubitka apetita, anoreksije, bolesti respiratornog sistema (30). Za razliku od ovih kora, kora cejlonskog ili „pravog” cimeta (*Cinnamomum verum* J.Presl, syn. *C. zeylanicum* Blume) ne sadrži kumarin ili ga sadrži u veoma maloj količini. Kora cejlonskog cimeta (*Cinnamomi cortex*) oficinalna je u Evropskoj farmakopeji (31), a u savremenoj fitoterapiji primenjuje se kod blagih grčeva u GIT-u, dijareje, nadimanja i gasova (32). Kora cejlonskog cimeta takođe se koristi i kao začin (9).

U ispitivanjima komercijalnih uzoraka kore cejlonskog cimeta sa tržišta evropskih zemalja i SAD ustanovljeno je da sadržaj kumarina iznosi 0,00-0,19 mg/g (Nemačka) (33), odnosno 0,007-0,025 mg/g (SAD) (34). Sa druge strane, u komercijalnim uzorcima kora drugih vrsta cimeta u SAD određeno je 2,37-9,30 mg/g kumarina u kori indonežanskog cimeta i 1,06 mg/g u uzorku kore sajgonskog cimeta, odnosno 0,085-0,262 mg/g kumarina u kori kineskog cimeta (34). U uzorcima „*Cassia*” kora prisutnih na tržištima Nemačke i Češke sadržaj kumarina iznosio je 2,65-7,02 mg/g (35, 36), a u komercijalnim uzorcima iz Italije određeno je i do 4,45 mg/g kumarina (37).

Kore kineskog, indonežanskog i sajgonskog cimeta su jeftinije, zastupljenije na tržištu i češće se koriste kao začin u odnosu na koru cejlonskog cimeta (38). Uzimajući u obzir da je, u kori „*Cassia*” cimeta (kineskog, indonežanskog i sajgonskog) kumarin prisutan u znatno većoj koncentraciji, visoka izloženost ovim proizvodima može biti nepovoljna sa aspekta bezbednosti.

Pored toga, na bazi kore biljaka roda *Cinnamomum* izrađuju se dijetetski suplementi (npr. kapsule sa sprašenom korom cimeta) za koje se navodi da su namenjeni snižavanju i održavanju nivoa glukoze u krvi. Hipoglikemijski potencijal kora *Cinnamomum* vrsta ispitivan je u većem broju istraživanja. Iako su u određenim *in vitro* i *in vivo* studijama ustanovljeni povoljni efekti ekstrakata kore cimeta na održavanje nivoa glukoze (30), u pojedinim kliničkim ispitivanjima nisu dobijeni značajni rezultati kod pacijenata sa dijabetesom (39), tako da su za potvrdu potencijalnog hipoglikemijskog delovanja kore cimeta neophodna dalja ispitivanja.

Dodatno, na ovim dijetetskim suplementima najčešće se ne navodi biološki izvor kore cimeta kao ni eventualni sadržaj kumarina, što može biti nepovoljno sa aspekta bezbednosti primene. Prema preporuci nemačkog BfR, kore „*Cassia*” cimeta treba koristi umereno, a osobe koje često koriste veće količine cimeta trebalo bi da se opredеле za koru cejlonskog cimeta koja sadrži znatno manju količinu kumarina (40).

Tujon

Tujon je isparljivi monoterpenski keton, koji se u prirodi nalazi u obliku mešavine dva diastereoizomera: (−)-α-tujona i (+)-β-tujona. U ispitivanjima na životinjama utvrđeno je da tujon deluje neurotoksično i izaziva konvulzije nalik epileptičnim, blokadom GABA_A receptora. Kod ljudi su zabeleženi slučajevi trovanja etarskim uljima bogatim tujonom koja su se manifestovala konvulzijama, što ukazuje da su rezultati ispitivanja toksičnosti na životinjama relevantni i za humani organizam. Međutim, kako doze koje su kod ljudi dovele do pojave konvulzija još uvek nisu utvrđene, zaključeno je da kod ljudi postoji najmanje ista osetljivost na tujon kao i kod životinja (41). Prema preporuci EMA/HMPC unos tujona putem biljnih lekovitih proizvoda ograničen je na 6 mg dnevno tokom dve nedelje (42).

Najznačajniji izvori mogućeg unosa tujona su list žalfije i herba belog pelena, odnosno etarska ulja ovih droga čiji je tujon sastojak.

U etarskom ulju lista žalfije (*Salviae officinalis aetheroleum*) tujon može biti prisutan u veoma velikoj koncentraciji što zavisi od hemotipa (43). Etarsko ulje lista žalfije nije oficinalno, a zbog prisustva tujona EMA/HMPC negativno je ocenila odnos koristi i rizika medicinske primene i nije izdala monografiju za ovo etarsko ulje (44). Sa druge strane, list žalfije, *Salviae officinalis folium*, koristi se oralno kod blagih digestivnih tegoba kao što su gorušica i nadimanje, u obliku infuza (1-2 g droge/150 mL ključale vode, 3 puta dnevno), ekstrakata ili tinkture, tokom dve nedelje. U obliku infuza (2 g droge/150 mL ključale vode, jednom dnevno) primenjuje se i za ublažavanje prekomernog znojenja, do 6 nedelja. Obe navedene dužine primene odnose se na samolečenje, tj. ukoliko posle navedenog perioda primene ne dođe do ublažavanja simptoma, pacijent treba da se obrati lekaru ili farmaceutu (45).

Prilikom pripreme infuza samo deo etarskog ulja, odnosno samo deo tujona se ekstrahuje i prelazi u infuz (46, 47), tako da je za realnu procenu unosa tujona, i procenu bezbednosti primene lista žalfije putem infuza potreбno odrediti sadržaj tujona u infuzu. U zemljama Evropske unije rađena su ispitivanja sadržaja tujona u infuzima koji su pripremljeni sa komercijalnim uzorcima lista žalfije. Sadržaj tujona u infuzima bio je vrlo različit, ali za najveći broj uzoraka utvrđeno je da primenom 3 šolje infuza (1,5 g droge/150 mL vode) dnevno, nije prekoračen prihvatljiv dnevni unos tujona (46, 48, 49).

Takođe, ispitivan je sadržaj tujona u komercijalnim uzorcima tinkture lista žalfije u Nemačkoj (135-492 µg/L tinkture). Rezultati su pokazali da unosom 2-3 mL tinkture, 3 puta dnevno, prihvatljiv dnevni unos tujona neće biti prekoračen (46).

U studijama procene rizika zaključeno je da postoje ograničeni podaci o izloženosti tujonu putem biljnih proizvoda, ali da trenutno, nije utvrđen rizik povezan sa medicinskom primenom lista žalfije, pri propisanom načinu i dužini primene (50).

Količina tujona u etarskom ulju herbe belog pelena (*Absinthii aetheroleum*) takođe zavisi od hemotipa (51). Etarsko ulje herbe belog pelena nije oficinalno i ne koristi se zbog prisutnog tujona. Herba belog pelena, *Absinthii herba*, primenjuje se kod privremenog gubitka apetita (30 min pre obroka) i kod blagih dispeptičnih/gastrointestinalnih tegoba (nakon obroka), u dnevnoj dozi od 2-3 g droge, tokom 2 nedelje (52). Za procenu unosa tujona putem infuza herbe belog pelena postoji relativno mali broj ispitivanja, u kojima je utvrđeno da infuzi (2 g droge/200 ml vode) sadrže tujon u količini koja ne prelazi prihvatljiv dnevni unos od 6 mg dnevno.

Zaključak studija procene rizika je da trenutno nije utvrđen rizik povezan sa medicinskom primenom herbe belog pelena, pri propisanom načinu i dužini primene (47, 50).

Estragol

Estragol (1-alil-4-metoksibenzen, metilhavikol) je fenilpropensko jedinjenje, koje se nalazi u pojedinim biljnim drogama, odnosno njihovim etarskim uljima: u plodovima gorkog i slatkog morača (*Foeniculi amari/dulcis fructus*), anisa (*Anisi fructus*), zvezdastog anisa (*Anisi stellati fructus*), herbi bosiljka (*Basilici herba*), kao i u nekim začinima, kao što su: estragon (*Artemisia dracunculus*, Asteraceae) i francuski peršun (*Anthriscus cerefolium*, Apiaceae) (53).

Estragol je ranije široko korišćen kao aditiv za aromatizaciju prehrabrenih proizvoda, jer je imao status GRAS (eng. *Generally Recognized as Safe*) supstance (54). Međutim, u ispitivanjima na životinjama, tokom dugotrajne primene velikih doza, uočen je toksični potencijal estragola, odnosno njegova kancerogenost. *In vivo*, metaboliti estragola (hidroksi i sulfoksi derivati) predstavljaju genotoksične kancerogene agense, iako u *in vitro* ispitivanjima sam estragol ne ispoljava mutageni

potencijal (55). Nedavno je utvrđeno da prisustvo komponenti biljnih ekstrakata, kao što su npr. neka polifenolna jedinjenja, značajno smanjuje genotoksičnost metabolita alkenilbenzena, ali su ovi rezultati za sada ograničeni na *in vitro* eksperimente (56).

Prema važećoj evropskoj regulativi, zbog kancerogenog potencijala, direktno dodavanje estragola hrani je zabranjeno, a za pojedine prehrambene proizvode ograničena je količina estragola koja može biti prisutna usled dodatka prirodnih aromatizujućih sredstava koja ga sadrže (27). Što se tiče unosa putem BLP, prema preporuci EMA/HMPC, prihvatljiv dnevni unos estragola tokom dve nedelje je 10 µg/kg t.m./dnevno, što za osobu telesne mase 50 kg iznosi 0,5 mg dnevno (53).

Estragol se nalazi u etarskim uljima plodova gorkog i slatkog morača, s tim što je u ulju ploda slatkog morača prisutan u većoj količini. Zbog toga ovo etarsko ulje nije oficinalno (5), dok za plod i etarsko ulje gorkog morača, Evropska farmakopeja definiše zahtev za sadržaj estragola (31). Plodovi gorkog i slatkog morača primenjuju se za simptomatsku terapiju blagih digestivnih tegoba kao što su grčevi, nadimanje i gasovi, kao ekspektoransi, kod prehlade praćene produktivnim kašljem, i za tretman blažih grčeva vezanih za menstrualni ciklus. Dužina primene je ograničena na 2 nedelje, za osobe starije od 12 godina, odnosno na nedelju dana kod dece uzrasta 4-12 godina. Zbog prisustva estragola, primena plodova gorkog i slatkog morača nije namenjena deci mlađoj od 4 godine (57, 58). Etarsko ulje ploda gorkog morača takođe se primenjuje kao ekspektorans, kod prehlade praćene produktivnim kašljem, tokom 2 nedelje (59).

Plodovi gorkog i slatkog morača se najčešće primenjuju u obliku infuza (dnevna doza za odrasle 3,5-7,5 g), pri čemu se tokom pripreme estragol samo delimično ekstrahuje u infuz. U zemljama EU sproveden je veći broj ispitivanja, kako bi se procenio realni unos estragola putem infuza od komercijalnih uzoraka ploda morača (47, 60-62). Sadržaj estragola u infuzima kretao se u veoma velikom rasponu. U pojedinim uzorcima sadržaj estragola bio je viši od prihvatljivog dnevног unosa, ali za najveći broj komercijalnih uzoraka pokazano je da primenom infuza u količini koja odgovara dnevnoj dozi ploda morača od 3,5-7,5 g neće biti prekoračen prihvatljiv dnevni unos estragola. Pored toga, utvrđeno je da je sadržaj estragola u infuzu i do 3 puta niži ukoliko se za pripremu infuza koristi ceo umesto usitnjeno ploda (60), kao i da se sadržaj estragola u instant čajevima može znatno redukovati primenom odgovarajućih tehnoloških postupaka prilikom njihove proizvodnje (61). Studije procene rizika su pokazale da se primena infuza ploda morača u preporučenim dozama tokom kraćeg vremenskog perioda (2 nedelje), generalno može smatrati bezbednom (60, 63).

Sadržaj estragola ispitivan je i u komercijalnim uzorcima biljnih dijetetskih suplemenata na bazi ploda morača sa tržišta zemalja EU (63, 64). U pojedinim suplementima sadržaj estragola bio je veoma nizak, ali bilo je i uzoraka u kojima je

utvrđen veoma visok sadržaj estragola. Studija procene rizika ukazala je na postojanje izvesnog rizika primene ovih suplemenata (63).

Azaron

Azaron (1-propenil-2,4,5-trimetoksibenzen), kao i estragol, pripada klasi alkenilbenzena. U prirodi je prisutan u tri stereoizomerna oblika: α - i β - i γ -azaron, među kojima je β -azaron najzastupljeniji (65).

U eksperimentima na životinjama, tokom dugotrajne primene velikih doza, pokazano je da je azaron genotoksičan i hepatokancerogen. Pretpostavlja se da se metaboliše u genotoksični karcinogen (*E*)-azaron-1',2'-epoksid (65, 66), ali nije poznato da li se rezultati ispitivanja na životinjama odnose i na humani organizam. Metabolizam, a time i stvaranje genotoksičnih i karcinogenih metabolita, ne moraju biti identični kod ljudi i eksperimentalnih životinja (5).

Najznačajnija biljna droga koja sadrži β -azaron je rizom iđirota, *Calami rhizoma*. Na osnovu različitog sadržaja β -azarona u etarskom ulju razlikuju se tri varijeteta iđirota: azijski (var. *angustatus*) koji sadrži 85-95% β -azarona u etarskom ulju, raste u Aziji ali se može se naći i u Evropi, evropski (var. *calamus*) sadrži manju količinu β -azarona u etarskom ulju (9-19%) i američki (var. *americanus*) koji ne sadrži β -azaron u etarskom ulju. Zahvaljujući prisustvu etarskog ulja, rizom iđirota deluje kao gorko aromatično sredstvo (*amarum aromaticum*), a ispoljava i blago analgetično, spazmolitično i sedativno delovanje. Ranije se primenjivao za poboljšanje apetita i za bolje varenje hrane, a u narodnoj medicini i za žvakanje za odvikavanje od pušenja i kao sedativ (5).

Zbog potencijalne toksičnosti azarona, EMA/HMPC je 2005. god. izdala saopštenje prema kome sadržaj α - i β -azarona u BLP treba svesti na minimum i koristiti varijetete koji ne sadrže azaron. Unos azarona putem BLP bio je ograničen na 115 µg dnevno, tj. unos oko 2 µg/kg t.m./dnevno smatrao se privremeno prihvatljivim dok se ne uradi potpuna procena odnosa korist/rizik (67). Međutim, 2015. godine objavljena je lista biljnih droga među kojima je i *Calami rhizoma*, za koje do daljnog neće biti pripremljena monografija EU zbog verovatno nepovoljnog ishoda procene odnosa korist/rizik, što znači da prema preporuci EMA/HMPC, ne mogu biti registrovani tradicionalni biljni lekovi na bazi rizoma iđirota (68). U stručnoj javnosti postoje mišljenja da ovakva procena za TBL nije u potpunosti opravdana, pogotovo za varijetete koji ne sadrže azaron, a treba imati u vidu i da je mogući metabolizam azarona u humanom organizmu drugačiji u odnosu na životinje (5).

Zaključak

Pojedine biljne droge sadrže jedinjenja koja poseduju izvesni toksični potencijal. Toksični potencijal pojedinih sastojaka i njihov prihvatljiv dnevni unos utvrđeni su

uglavnom na osnovu ispitivanja sprovedenim na životinjama. Međutim, metabolički putevi, a time i nastanak toksičnih metabolita, kod ljudi i životinja mogu biti različiti, pa se rezultati ispitivanja na životinjama ne mogu uvek ekstrapolirati na ljude.

Za biljne lekovite proizvode koji sadrže sastojke sa potencijalnim rizikom, EMA/HMPC daje preporuke za ograničen dnevni unos, način i dužinu primene.

Generalno, ovakvi biljni proizvodi mogu se smatrati bezbednim ukoliko je ispitani njihov kvalitet i ako se primenjuju na propisan način.

Imajući u vidu da farmaceut ima ključnu ulogu u savetovanju pacijenata o primeni proizvoda na bazi biljnih droga i preparata biljnih droga, uključujući i one koji sadrže jedinjenja sa potencijalnim rizikom, veoma je važno da bude upoznat sa karakteristikama i pravilnom primenom ovih biljnih proizvoda.

Literatura:

1. Jordan SA, Cunningham DG, Marles RJ. Assesment of herbal medicinal products: Challenges, and opportunities to increase the knowledge base for safety assessment. *Toxicol Appl Pharm.* 2010;243:198-216.
2. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol.* 2014; <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00177>.
3. Chen L, Mulder PPJ, Louisse J, Peijnenburg A, Wesseling S, Rietjens IMCM. Risk assessment for pyrrolizidine alkaloids detected in (herbal) teas and plant food supplements. *Regul Toxicol Pharm.* 2017;86:292-302.
4. Dusemund B, Nowak N, Sommerfeld C, Lindtner O, Schäfer B, Lampen A. Risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food of plant and animal origin. *Food Chem Toxicol.* 2018;115:63-72.
5. Sticher O, Heilmann J, Zündorf I. Hänsel/Sticher Pharmakognosie Phytopharmazie. 10. Auflage. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 2015.
6. François Picron JF, Herman M, Van Hoeck E, Goscinny S. Analytical strategies for the determination of pyrrolizidine alkaloids in plant based food and examination of the transfer rate during the infusion process. *Food Chem.* 2018;266:514-23.
7. European Medicines Agency. EMA/HMPC/572846/2009. European Union herbal monograph on *Symphytum officinale* L., radix. London: 5 May 2015.
8. Tucakov J. Lečenje biljem. Beograd: Rad; 1997.
9. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines. 3rd Edition. London: Pharmaceutical Press; 2007.

10. European Medicines Agency. EMA/HMPC/893108/2011. Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs). London: 24 November 2014.
11. Lipton RB, Göbel H, Einhäupl KM, Wilks K, Mauskop A. *Petasites hybridus* root (butterbur) is an effective preventive treatment for migraine. *Neurology*. 2004;63:2240-4.
12. Thomet OAR, Schapowal A, Heinisch IVWM, Wiesmann UN, Simona HU. Anti-inflammatory activity of an extract of *Petasites hybridus* in allergic rhinitis. *Int Immunopharmacol*. 2002;2:997-1006.
13. Agosti R, Duke RK, Chrubasik JE, Chrubasik S. Effectiveness of *Petasites hybridus* preparations in the prophylaxis of migraine: A systematic review. *Phytomedicine*. 2006;13:743-6.
14. Thomet OAR, Simon HU. Petasins in the Treatment of Allergic Diseases: Results of Preclinical and Clinical Studies. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;129:108-12.
15. Brayfield A, editor. *Martindale: The Complete Drug Reference*, 39th edition. London: Pharmaceutical Press; 2017.
16. Medicines & Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). Press release: Precautionary recall - six batches of St John's Wort Tablets. [Online] 08 February 2016. <https://www.gov.uk/government/news/precautionary-recallsix-batches-of-st-johns-wort-tablets>.
17. European Medicines Agency. EMA/HMPC/328782/2016. Public statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids. Transitional recommendations for risk management and quality control. London: 31 May 2016.
18. European Medicines Agency. EMA/HMPC/26549/2019. HMPC meeting report on European Union herbal monographs, guidelines and other activities. London: 16 January 2019.
19. Bodi D, Ronczka S, Gottschalk C, Behr N, Skibba A, Wagner M, Lahrsen-Wiederholt M, Preiss-Weigert A, These A. Determination of pyrrolizidine alkaloids in tea, herbal drugs and honey. *Food Addit Contam - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess*. 2014;31:1886-95.
20. Mulder PPJ, Lopez Sanches P, These A, Preiss-Weigert A, Castellari M. Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food - external scientific report. EFSA supporting publication 2015:EN-859.
21. Mathon C, Edder P, Bieri S, Christen P. Survey of pyrrolizidine alkaloids in teas and herbal teas on the Swiss market using HPLC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem*. 2014;406:7345-54.
22. Schulz M, Meins J, Diemert S, Zagermann-Muncke P, Goebel R, Schrenk D, Schubert-Zsilavecz M, Abdel-Tawab M. Detection of pyrrolizidine alkaloids in German licensed herbal medicinal teas. *Phytomedicine*. 2015;22:648-56.
23. Abraham K, Wöhrlin F, Lindtner O, Heinemeyer G, Lampen A. Toxicology and Risk Assessment of Coumarin: Focus on Human Data. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2010;54(2):228-39.
24. European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contacts with Food (AFC) on a request from the Commission related to Coumarin. *The EFSA Journal*. 2004;104:1-36.

25. Federal Institute for Risk Assessment, BfR. Verbraucher, die viel Zimt verzehren, sind derzeit zu hoch mit Cumarin belastet. Gesundheitliche Bewertung des BfR Nr. 043/2006, 2006. https://www.bfr.bund.de/de/a-z_index/cumarin-5103.html
26. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the European Commission on Coumarin in flavourings and other food ingredients with flavouring properties. The EFSA Journal. 2008;793:1-15.
27. Regulation (EC) No 1334/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods and amending Council Regulation (EEC) No 1601/91, Regulations (EC) No 2232/96 and (EC) No 110/2008 and Directive 2000/13/EC. Official Journal of the European Union 354, p. 34-50, 31.12.2008.
28. European Medicines Agency. EMA/HMPC/44166/2016. European Union herbal monograph on *Melilotus officinalis* (L.) Lam., herba. London: 21 November 2017.
29. European Medicines Agency. EMA/HMPC/44165/2016. Assessment report on *Melilotus officinalis* (L.) Lam., herba. London: 21 November 2017.
30. Vijayan KK, Ajithan Thampuran RV. Pharmacology and Toxicology of Cinnamon and Cassia. In: Ravindran PN, Nirmal Babu K, Shylaja M, editors. Cinnamon and Cassia The Genus *Cinnamomum*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 259-84.
31. European Pharmacopoeia, 9th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2016.
32. European Medicines Agency. EMA/HMPC/246774/2009. Community herbal monograph on *Cinnamomum verum* J.S. Presl, cortex. London: 10 May 2011.
33. Miller KG, Collin FP, Chichila TMP. Solvent-Assisted Supercritical Fluid Extraction for the Isolation of Semivolatile Flavor Compounds from the Cinnamons of Commerce and Their Separation by Series-Coupled Column Gas Chromatography. Journal of High Resolution Chromatography. 1995;18(8):461-71.
34. Wang YH, Avula B, Dhammadika Nanayakkara NP, Zhao J, Khan IA. Cassia Cinnamon as a Source of Coumarin in Cinnamon-Flavored Food and Food Supplements in the United States. J Agr Food Chem. 2013;61:4470-6.
35. Scroll C, Ruge W, Andlauer C, Godelmann R, Lachenmeier DV. HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. Food Chem. 2008;109:462-9.
36. Blahová J, Svobodová Z. Assessment of Coumarin Levels in Ground Cinnamon Available in the Czech Retail Market. The Scientific World Journal. 2012, doi: 10.1100/2012/263851.
37. Lungarini S, Aureli F, Coni E. Coumarin and Cinnamaldehyde in Cinnamon Marketed in Italy: A Natural Chemical Hazard? Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess. 2008;25(11):1297-305.
38. Senanayake UM, Wijesekera ROB. Chemistry of Cinnamon and Cassia. In: Ravindran PN, Nirmal Babu K, Shylaja M, editors. Cinnamon and Cassia The Genus *Cinnamomum*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 81-104.

39. Leach MJ, Kumar S. Cinnamon for diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2012;9:CD007170.
40. Federal Institute for Risk Assessment, BfR. Neue Erkenntnisse zu Cumarin in Zimt Stellungnahme Nr. 036/2012, 2012. <https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/neue-erkenntnis-zu-cumarin-in-zimt.pdf>.
41. Pelkonen O, Abass K, Wiesner J. Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. Regul Toxicol Pharm. 2013;65:100-7.
42. European Medicines Agency. EMA/HMPC/732886/2010 Rev.1. Public statement on the use of herbal medicinal products containing thujone. London: 22 May 2012.
43. Craft JD, Satyal P, Setze WN. The Chemotaxonomy of Common Sage (*Salvia officinalis*) Based on the Volatile Constituents. Medicines. 2017;4(47):1-12.
44. European Medicines Agency. EMA/HMPC/41843/2009 Corr. Public statement on *Salvia officinalis* L., aetheroleum. London: 2 February 2016.
45. European Medicines Agency. EMA/HMPC/277152/2015. European Union herbal monograph on *Salvia officinalis* L., folium. London: 20 September 2016.
46. Walch SG, Kuballa T, Stühlinger W, Lachenmeier DW. Determination of the biologically active flavour substances thujone and camphor in foods and medicines containing sage (*Salvia officinalis* L.). Chem Cent J. 2011;5:44-53.
47. Sgorbini B, Cagliero C, Acquadro S, Marengo A, Cordero C, Liberto E, Bicchi C, Rubiolo P. Evaluation of volatile bioactive secondary metabolites transfer from medicinal and aromatic plants to herbal teas: Comparison of different methods for the determination of transfer rate and human intake. J Chromatogr. A 2019;1594:173-80.
48. Walch SG, Lachenmeier DW, Kuballa T, Stühlinger W, Monakhova YB. Holistic Control of Herbal Teas and Tinctures Based on Sage (*Salvia officinalis* L.) for Compounds with Beneficial and Adverse Effects using NMR Spectroscopy. Analytical Chemistry Insights. 2012;7:1-12.
49. Arceusz A, Occhipinti A, Capuzzo A, Maffei ME. Comparison of different extraction methods for the determination of α - and β -thujone in sage (*Salvia officinalis* L.) herbal tea. J Sep Sci. 2013;36:3130-4.
50. Lachenmeier DW, Uebelacker M. Risk assessment of thujone in foods and medicines containing sage and wormwood - Evidence for a need of regulatory changes? Regul Toxicol Pharm. 2010;58:437-43.
51. Chialva F, Liddle PAP, Dogdlia G. Chemotaxonomy of wormwood (*Artemisia absinthium* L.). (I. Composition of the essential oil of several chemotypes). Z Lebensm Unters Forsch. 1983;176:363-6.
52. European Medicines Agency. EMA/HMPC/751490/2016. European Union herbal monograph on *Artemisia absinthium* L., herba. London: 30 May 2017.
53. European Medicines Agency. EMA/HMPC/137212/2005 Rev 1. Public statement on the use of herbal medicinal products containing estragole. London: 24 November 2014.
54. Hall RL, Oser BL. Recent progress in the consideration of flavoring ingredients under the Food Additives Amendment. Ill. GRAS Substances. Food Technol. 1965;19(2, Part 2):151-97.

55. Nohmi T. Thresholds of Genotoxic and Non-Genotoxic Carcinogens. *Toxicol Res.* 2018;34(4):281-90.
56. Marabini L, Galli CL, La Fauci P, Marinovich M. Effect of plant extracts on the genotoxicity of 1'-hydroxy alkenylbenzenes. *Regul Toxicol Pharm.* 2019;105:36-41.
57. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/137428/2006 Corr. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *vulgare*, fructus. London: 6 August 2007.
58. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/263293/2006 Corr. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *dulce* (Miller) Thellung, fructus. London: 6 August 2007.
59. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/263292/2006 Corr. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare* var. *vulgare*, aetheroleum. London: 5 July 2007.
60. Mihats D, Pilsbacher L, Gabernig R, Routil M, Gutternigg M, Laenger R. Levels of estragole in fennel teas marketed in Austria and assessment of dietary exposure. *Int J Food Sci Nutr.* 2016. <http://dx.doi.org/10.1080/09637486.2016.1262334>.
61. Raffo A, Nicoli S, Leclercq C. Quantification of estragole in fennel herbal teas: Implications on the assessment of dietary exposure to estragole. *Food Chem Toxicol.* 2011;49:370-5.
62. van den Berg SJPL, Restani P, Boersma MG, Delmulle L, Rietjens IMCM. Levels of Genotoxic and Carcinogenic Compounds in Plant Food Supplements and Associated Risk Assessment. *Food and Nutrition Sciences,* 2011;2:989-1010.
63. van den Berg SJPL, Alhusainy W, Restani P, Rietjens IMCM. Chemical analysis of estragole in fennel based teas and associated safety assessment using the Margin of Exposure (MOE) approach. *Food Chem Toxicol.* 2014;65:147-54.
64. Uusitalo L, Salmenhaara M, Isoniemi M, Garcia-Alvarez A, Serra-Majem L, Ribas-Barba L, Finglas P, Plumb J, Tuominen P, Savela K. Intake of selected bioactive compounds from plant food supplements containing fennel (*Foeniculum vulgare*) among Finnish consumers. *Food Chem.* 2016;194:619-25.
65. Stegmüller S, Schrenk D, Cartus AT. Formation and fate of DNA adducts of alpha- and beta-asarone in rat hepatocytes. *Food Chem Toxicol.* 2018;116:138-46.
66. Cartus AT, Stegmüller S, Simson N, Wahl A, Neef S, Kelm H, Schrenk D. Hepatic Metabolism of Carcinogenic β -Asarone. *Chem Res Toxicol.* 2015;28:1760-73.
67. European Medicines Agency. EMEA/HMPC/139215/2005. Public statement on the use of herbal medicinal products containing asarone. London: 23 November 2005.
68. European Medicines Agency. EMA/HMPC/682247/2013 Rev. 1. Public statement on prioritisation for assessment of herbal substances associated with safety concerns. London: 29 September 2015.

Safety aspects of herbal products containing compounds with a potential risk

Milica M. Drobac^{*}, Jelena S. Arsenijević, Mirjana D. Marčetić

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade

* Corresponding author: Milica Drobac, Tel. +381 11 3951 387
e-mail: milica.drobac@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

Certain herbal drugs and herbal drug preparations contain compounds with a potential risk of use, such as pyrrolizidine alkaloids (in Comfrey root, *Symphyti radix*, Coltsfoot leaf, *Farfarae folium*, Butterbur root, *Petasitidis rhizoma*), coumarin (in the Cassia bark, *Cassiae cortex*, Melilot, *Meliloti herba*), estragole (in Basil, *Basilici herba*, bitter/sweet fennel, *Foeniculi amari/dulcis fructus*, Aniseed, *Anisi fructus*), thujone (in Sage leaf, *Salviae officinalis folium*, Wormwood, *Absinthii herba*) or asarone (in Sweet flag rhizome, *Calami rhizoma*). For these ingredients and herbal drugs/herbal drug preparations which contain them, there are acceptable, limited daily intakes as well as recommendations for duration of use.

Since pharmacist plays a key role in advising patients on the use of herbal products, including those containing compounds with a potential risk, it is very important to know the characteristics and proper use of these herbal products.

Keywords: pyrrolizidine alkaloids, coumarin, thujone, estragole, asarone

UDK 615 (497.11)

ISSN 0004-1963 (Štampano izd.)
ISSN 2217-8767 (Online)

ARHIV ZA FARMACIJU

Godina 69

Broj 4 SUPLEMENT

Beograd, 2019.

ČASOPIS SAVEZA FARMACEUTSKIH UDRUŽENJA SRBIJE

Prvi simpozijum Sekcije za farmaceutske nauke SFUS

Od ideje do kliničke primene: Savremena istraživanja u farmaciji

Novi Sad, 26. septembar 2019.

First symposium of the SFUS Section for pharmaceutical sciences

From idea to clinical application: Current pharmaceutical research

Novi Sad, 26. September 2019.

4/2019

Uvodnik

U godini obeležavanja značajnih jubileja - 140 godina Saveza farmaceutskih udruženja Srbije i 80 godina studija farmacije u Srbiji, Sekcija za farmaceutske nauke Saveza farmaceutskih udruženja Srbije pokrenula je inicijativu za organizaciju naučnog simpozijuma sa međunarodnim učešćem posvećenog savremenim trendovima u farmaceutskim naukama. Prvi simpozijum, pod nazivom "Od ideje do kliničke primene: Savremena istraživanja u farmaciji", organizovan je u saradnji sa Ogrankom Srpske akademije nauka i umetnosti u Novom Sadu.

Uz učešće eminentnih predavača iz zemlje i inostranstva, kao i prezentaciju najznačajnijih rezultata naučnih istraživanja koja se sprovode u domaćim naučnoistraživačkim institucijama, učesnici imaju priliku da se upoznaju sa aktuelnim dostignućima koja se odnose na razvoj alata i dizajn novih lekova koji interaguju sa membranskim proteinima uključenim u nastanak inflamacije, imunskog odgovora i kancera; dizajn i sintezu novih analoga tiazofurina i goniofufurona kao potencijalnih antitumorskih agenasa; dizajn i karakterizaciju polimernih materijala koji omogućavaju unapređenu transmukoznu apsorpciju; mogućnost predviđanja psihijatrijskih neželjenih efekata u ranim fazama razvoja leka; pregled metoda digitalne fabrikacije koje se koriste u biomedicini i biomedicinskom inženjerstvu.

U skladu sa misijom Sekcije za farmaceutske nauke Saveza farmaceutskih udruženja Srbije, želja nam je da ovaj i budući simpozijumi doprinesu razvoju naučnoistraživačkog kadra, jačanju saradnje, promociji i unapređenju naučnoistraživačkog rada u oblasti farmaceutskih nauka u našoj zemlji.

Naučni odbor

Editorial

In the year of the important jubilees - 140th anniversary of the Pharmaceutical Association of Serbia and 80 years of pharmacy education in Serbia, the Section of pharmaceutical sciences of the Pharmaceutical Association of Serbia launched an initiative to organize scientific symposium with international participation dedicated to recent advances in pharmaceutical sciences. The First symposium entitled "From idea to clinical application: Current pharmaceutical research" has been organized in collaboration with the Branch of the Serbian academy of sciences and arts in Novi Sad.

Through participation of eminent lecturers from the country and abroad, as well as the presentation of the results of scientific research conducted at the national research institutions, participants have the opportunity to gain an insight into the recent advances related to development of tools and drugs for membrane proteins involved in inflammation, immunity and cancer; design and synthesis of new tiazofurin and goniofufurone analogues as potential antitumour agents; design and characterisation of polymeric materials which enable enhanced transmucosal absorption; prediction of psychiatric adverse effects of pharmaceuticals in the early research and development phase; overview of digital fabrication methods and their application in biomedicine and biomedical engineering.

In line with the mission of the Section of pharmaceutical sciences of the Pharmaceutical Association of Serbia, our goal is that the present, as well as the forthcoming symposia will contribute to development of scientific community, enhance cooperation, and promote the excellence in scientific research in the area of pharmaceutical sciences in Serbia.

Scientific Committee

Plenarna predavanja
Plenary Lectures

SADRŽAJ – CONTENTS

PL 1

PROGRES U RAZVOJU FARMACEUTSKIH NAUKA - JEDNA PERSPEKTIVA

PROGRESS IN PHARMACEUTICAL SCIENCES - A PERSPECTIVE

- **Danica Agbaba** S5

PL 2

DEVELOPMENT OF TOOLS AND DRUGS FOR MEMBRANE PROTEINS INVOLVED IN INFLAMMATION, IMMUNITY AND CANCER

- **Christa Müller** S7

PL 3

DIZAJN, SINTEZA I PRELIMINARNA BIOLOŠKA ISPITIVANJA POTENCIJALNIH ANTITUMORSKIH AGENASA

DESIGN, SYNTHESIS AND PRELIMINARY BIOLOGICAL EVALUATION OF POTENTIAL ANTITUMOR AGENTS

- **Velimir Popov** S9

PL 4

ADVANCES IN TRANSMUCOSAL DRUG DELIVERY

- **Vitaliy Khutoryanskiy** S13

PL 5

PSIHIJATRIJSKI NEŽELJENI EFEKTI LEKOVA: KAKO SE MOGU OBJASNITI I PREDVIDETI

PSYCHIATRIC ADVERSE EFFECTS OF PHARMACEUTICALS: HOW THEY CAN BE EXPLAINED AND PREDICTED

- **Miroslav Savić** S14

PL 6

BIO-ŠTAMPA: PRIMENA DIGITALNE FABRIKACIJE U BIOMEDICINI

BIO-PRINTING: APPLICATION OF DIGITAL FABRICATION IN BIOMEDICINE

- **Ivana Gađanski** S16

PROGRES U RAZVOJU FARMACEUTSKIH NAUKA - JEDNA PERSPEKTIVA

Danica Agbaba

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Beograd, Srbija

Razvoj farmaceutskih nauka u devetnaestom veku započinje uporedo sa razvojem prirodnih, medicinskih i tehnoloških nauka. Početak dvadesetog veka karakterišu definisanje hemoterapije ili selektivnog dejstva aktivnih principa, otkrića prvih neurotransmitera, hormona, vitamina, sintetskih lekova, kao i usvajanje prvog zakona o obeležavanju lekova. Ovaj vek je okarakterisan pronalaskom antibiotika, velikog broja sintetskih lekova iz različitih farmakoterapijskih grupa, razvojem doziranih oblika lekova sa modifikovanim oslobađanjem u cilju postizanja optimalnog farmakokinetičkog i farmakodinamskog odgovora leka. Sedamdesete godine prošlog veka su prekretnica u multidisciplinarnim farmaceutskim naukama koje karakteriše: i. razvoj novih metoda i postupaka organske hemije u sintezi lekova, ii. razvoj takozvane molekularne ili strukturne biologije i molekularne/sistemske farmakologije, iii. upotreba računara, odnosno bioinformatike kao integralnog pristupa dizajnu leka baziranog na strukturi poznatog targeta. iv. otkriće rekombinantne DNA tehnologije. Poslednju deceniju prošlog i prve decenije ovog veka karakterišu istraživanja usmerena na: (i) razumevanje uloge različitih strukturnih i funkcionalnih sastojaka ćelija i njihovu primenu u terapiji (takozvane „omics“ tehnologije); (ii) razvoj i primenu bioloških lekova i personalizovane terapije; (iii) matematičko modelovanje hemijskih, bioloških i farmaceutsko-tehnoloških sistema; (iv) primenu populacione farmakokinetike; (v) razvoj i primenu nanomaterijala, uključujući nanoterapeutike; (vi) razvoj i primenu naprednih terapijskih sistema, uključujući digitalne tehnologije; kao i (vi) savremene pristupe za obezbeđenje kvaliteta u proizvodnji lekova (QbD, PAT).

Reference:

1. Rowland M, Noe CR, Smith DA, Tucker GT, Crommelin DJ, Peck CC, Rocci Jr ML, Besançon L, Shah V. Impact of the Pharmaceutical Sciences on Health Care: A Reflection over the Past 50 Years. *J. Pharm. Sci.* 2012;101:4075-99.
2. Tucker G, DeSilva B, Dressman J, Ito M, Kumamoto T, Mager D, Mahler HC, Maitland-van der Zee AH, Pauletti GM, Sasaki H, Shah V. Current Challenges and Potential Opportunities for the Pharmaceutical Sciences to Make Global Impact: An FIP Perspective. *J. Pharm. Sci.* 2016;105:2489-97.

PROGRESS IN PHARMACEUTICAL SCIENCES - A PERSPECTIVE

Danica Agbaba

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Belgrade, Serbia

Development of pharmaceutical sciences has begun in nineteenth century, along with development of natural, medicinal and technological sciences. The beginning of twentieth century was marked by coining definitions of chemotherapy, or selective action of active substances. It is characterized with the discovery of first neurotransmitters, hormones, vitamins and synthetic drugs, and also with implementation of the first pharmaceutical law. That century was also marked with the discovery of antibiotics, of a vast number of synthetic drugs from various different pharmacotherapeutic groups and with development of modified release drug dosage forms in order to obtain an optimal pharmacokinetic and pharmacodynamic drug response. The seventies of the past century can be regarded as a turning point toward multidisciplinary pharmaceutical sciences and that decade is characterized with: i. development of new methods and procedures of organic chemistry in drug synthesis, ii. development of so-called molecular or structural biology and molecular/systems pharmacology, iii. making use of computers, or better said, of bioinformatics as an integral approach toward drug design based on structure of the discovered targets, and iv. discovery of the recombinant DNA technology. In the last decade of the past century and in the first two decades of this century, the investigations have been carried out with the goals to: (i) understand the role of various different structural and functional cell components and utilize them in the therapy (the so-called “omics” technologies); (ii) develop and apply biological drugs and personalized therapy; (iii) mathematically model chemical, biological and pharmaceutical-technological systems; (iv) apply population pharmacokinetics; (v) develop and apply nanomaterials, nanotherapeutics included; (vi) develop and apply modern therapeutic systems which include digital technologies, and last not least (vi) develop modern approaches aiming to secure the high quality production of drugs (QbD, PAT).

References:

1. Rowland M, Noe CR, Smith DA, Tucker GT, Crommelin DJ, Peck CC, Rocci Jr ML, Besançon L, Shah V. Impact of the Pharmaceutical Sciences on Health Care: A Reflection over the Past 50 Years. *J. Pharm. Sci.* 2012;101:4075-99.
2. Tucker G, DeSilva B, Dressman J, Ito M, Kumamoto T, Mager D, Mahler HC, Maitland-van der Zee AH, Pauletti GM, Sasaki H, Shah V. Current Challenges and Potential Opportunities for the Pharmaceutical Sciences to Make Global Impact: An FIP Perspective. *J. Pharm. Sci.* 2016;105:2489-97.

DEVELOPMENT OF TOOLS AND DRUGS FOR MEMBRANE PROTEINS INVOLVED IN INFLAMMATION, IMMUNITY AND CANCER

Christa E. Müller

PharmaCenter Bonn, Pharmaceutical Institute, Pharmaceutical & Medicinal Chemistry, University of Bonn, Bonn, Germany

Purine and pyrimidine derivatives, such as the nucleotides ATP, ADP, UTP, and UDP, the nucleoside adenosine and the nucleobase adenine, are important signaling molecules, which activate membrane receptors termed P0 (adenine receptors), P1 (adenosine receptors), P2Y and P2X (nucleotide receptors). P0, P1 and P2Y receptors are G protein-coupled, while P2X receptors are ATP-gated ion channels. There is a metabolic link between P1 and P2 receptor agonists since the nucleotides ATP and ADP (P2 agonists) are hydrolyzed by various ectonucleotidases producing the P1 agonist adenosine. While ATP is a danger signal mediating pro-inflammatory effects, adenosine acts as a stop signal inducing anti-inflammatory and immunosuppressive activities.

Despite decades of research, only few drugs have been approved that interact with purine receptors. Recently, new hopes and hopes have been created in the field, mainly due to the gold rush fever in immuno-oncology. Adenosine is one of the strongest immunosuppressant agents of the innate immune system. Cancer cells and tissues can release large amounts of ATP which is immediately hydrolyzed by ectonucleotidases. These ecto-enzymes, including ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (NPP1, CD203a), ectonucleoside diphosphohydrolase 1 (NTPDase1, CD39), and ecto-5'-nucleotidase (CD73), are upregulated on many cancer cells leading to the production of adenosine. The cloud of adenosine formed around cancer tissues contributes to immune escape by interacting with adenosine A2A and A2B receptor subtypes (A2AAR, A2BAR) on immune cells. In addition, activation of A2BARs by adenosine enhances cancer cell proliferation, metastasis, and angiogenesis. Blockade of A2A and A2B adenosine receptors and/or inhibition of adenosine formation by blocking ectonucleotidases are being pursued as novel principles that activate the immune system to defeat cancer.

Our group has focused (i) on the development and characterization of assays, tool compounds and drugs for P0, P1 and P2 receptors and ectonucleotidases, and (ii) on studies directed towards gaining structural information regarding protein-ligand interactions. Moreover, we have explored a series of orphan GPCRs related to purine-activated receptors. Recently, we have been developing tools for directly studying and inhibiting G proteins.

References:

1. Zhang K, Zhang J, Gao ZG, Zhang D, Zhu L, Han GW, Moss SM, Paoletta S, Kiselev E, Lu W, Fenalti G. Structure of the human P2Y12 receptor in complex with an antithrombotic drug. *Nature*. 2014; 509: 115.
2. Zhang J, Zhang K, Gao ZG, Paoletta S, Zhang D, Han GW, Li T, Ma L, Zhang W, Müller CE, Yang H. Agonist-bound structure of the human P2Y12 receptor. *Nature*. 2014, 509, 119.
3. Bhattacharai S, Freundlieb M, Pippel J, Meyer A, Abdelrahman A, Fiene A, Lee SY, Zimmermann H, Yegutkin GG, Sträter N, El-Tayeb A. α , β -Methylene-ADP (AOPCP) derivatives and analogues: development of potent and selective ecto-5'-nucleotidase (CD73) inhibitors. *J. Med. Chem.* 2015; 58(15):6248-63.
4. Köse M, Gollos S, Karcz T, Fiene A, Heisig F, Behrenswirth A, Kieć-Kononowicz K, Namasivayam V, Müller CE. Fluorescent-labeled selective adenosine A2B receptor antagonist enables competition binding assay by flow cytometry. *J. Med. Chem.* 2018;61(10):4301-16.
5. Jiang J, Seel CJ, Temirak A, Namasivayam V, Arridu A, Schabikowski J, Baqi Y, Hinz S, Hockemeyer J, Müller CE. A2B Adenosine Receptor Antagonists with Picomolar Potency. *J. Med. Chem.* 20195;62(8):4032-55.
6. Lee SY, Luo X, Namasivayam V, Geiss J, Mirza S, Pelletier J, Stephan H, Sévigny J, Müller CE. Development of a selective and highly sensitive fluorescence assay for nucleoside triphosphate diphosphohydrolase1 (NTPDase1, CD39). *Analyst*. 2018;143(22):5417-30.
7. Rafehi M, Müller CE. Tools and drugs for uracil nucleotide-activated P2Y receptors. *Pharmacol. Ther.* 2018;190:24-80.
8. Hinz S, Navarro G, Borroto-Escuela D, Seibt BF, Ammon YC, de Filippo E, Danish A, Lacher SK, Červinková B, Rafehi M, Fuxe K. Adenosine A2A receptor ligand recognition and signaling is blocked by A2B receptors. *Oncotarget*. 2018, 9(17):13593.

DIZAJN, SINTEZA I PRELIMINARNA BIOLOŠKA ISPITIVANJA POTENCIJALNIH ANTITUMORSKIH AGENASA

Velimir Popsavin^{1,2}

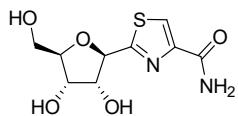
¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, Srbija

²Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd, Srbija

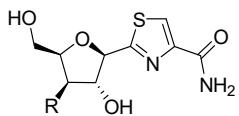
Tiazofurin (1, Slika 1) je C-nukleozid koji pokazuje snažnu antiproliferativnu aktivnost u različitim tumorskim sistemima. On je snažan inhibitor inozin 5'-monofosfat dehidrogenaze (IMPDH), ključnog enzima koji kontroliše *de novo* sintezu guaninskih nukleotida. Uprkos efikasnosti koja je potvrđena i u kliničkim ispitivanjima, nedostatak specifičnosti i povremena toksičnost tiazofurina ostaju problem u njegovoj široj kliničkoj upotrebi. U potrazi za novim i selektivnim antitumorskim agensima dizajnirali smo i sintetizovali nekoliko analoga tiazofurina sa modifikovanim šećernim segmentima (2–4). Za direktni molekulski dizajn korišćena je struktura kompleksa IMPDH sa selenazol-4-karboksamid adenin dinucleotidom (PDB 1B3O), dok je za sintezu pomenutih analoga primenjen *de novo* pristup.

Drugi deo rada je usmeren na dizajn i sintezu novih analoga goniofufurona (6–8). Goniofufuron (5) je bioaktivni stiril lakton izolovan iz tailandske biljke *Goniothalamus giganteus*. Zbog jedinstvenih strukturnih karakteristika i obećavajuće antitumorske aktivnosti, prirodni proizvod 5, kao i veliki broj odgovarajućih analoga i derivata, bili su meta brojnih sinteza. Ovde želimo da opišemo dizajn i sintezu analoga goniofufurona 6–8. Ovi analozi su dizajnirani indirektnim postupkom koji se zasnova na strukturi liganda (molekulska hibridizacija), a sintetizovani su primenom posebne metodologije zasnovane na konceptu "hiralnih templata".

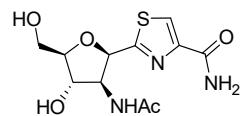
Biće prezentovani i ukratko diskutovani rezultati ispitivanja *in vitro* antiproliferativne aktivnosti sintetizovanih analoga prema nekoliko tumorskim i jednoj normalnoj ćelijskoj liniji.



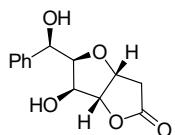
Tiazofurin (1)



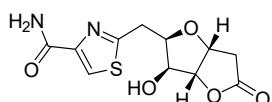
2 R = NH₂
3 R = AcNH



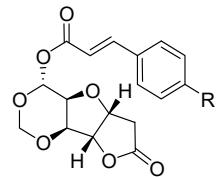
4



Goniofufuron (5)



6



7 R = H
8 R = F

Slika 1. Hemijske strukture tiazofurina (1), njegovih mimetika 2–4, goniofufurona (5) i odgovarajućih analoga 6–8.

Zahvalnica: Rad je finansiralo Ministarstvo obrazovanja, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (projekat broj OI 172006) i (delimično) Srpska akademija nauka i umetnosti (projekti broj 01-2019-F65 i F-130).

DESIGN, SYNTHESIS AND PRELIMINARY BIOLOGICAL EVALUATION OF POTENTIAL ANTITUMOUR AGENTS

Velimir Popsavini^{1,2}

¹University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection, Novi Sad, Serbia

²Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade, Serbia

Tiazofurin (1, Fig. 1) is a synthetic C-nucleoside that shows potent antiproliferative activity in a variety of tumour systems. It is a potent inhibitor of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH), a rate-limiting enzyme of the *de novo* guanine nucleotide synthesis. Despite the efficacy achieved in the clinical trials of tiazofurin, lack of specificity and occasional toxicity remain a problem in its clinical use. In the search for new and selective antitumour agents we designed and synthesized several tiazofurin analogues with modified sugar segments (2–4). A complex of IMPDH and selenazole-4-carboxamide adenine dinucleotide (PDB 1B3O) was used for structure based design, and a *de novo* approach for the synthesis of the mentioned tiazofurin analogues.

The second part of the work is directed to the design and synthesis of new goniofufurone analogues 6–8. Goniofufurone (5) is a bioactive styryl lactone that was isolated from Thailand plant *Goniothalamus giganteus*. Due to its unique structural features and promising antitumour activity, natural product 5, along with a number of its analogues and derivatives have been the targets of many syntheses. Herein we report on the design and synthesis of goniofufurone analogues 6–8. The ligand based design (molecular hybridization) and chiral pool approach were used in this part of the work.

Results related to *in vitro* antiproliferative activities of synthesized analogues against several tumour cell lines, and against a single normal cell line will be presented and briefly discussed.

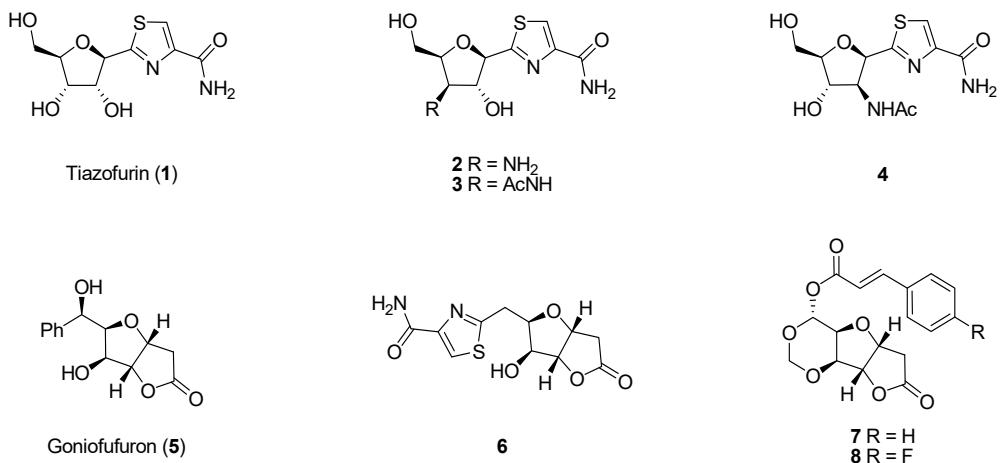


Figure 1. Chemical structures of tiazofurin (**1**), its analogues **2–4**, goniofufuron (**5**), and analogues **6–8**.

Acknowledgement: this work was supported by a research grant from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Grant No. OI 172006), and (in part) by a research project from the Serbian Academy of Sciences and Arts (Grants No. F-130 and 01-2019-F65).

ADVANCES IN TRANSMUCOSAL DRUG DELIVERY**Vitaliy Khutoryanskiy**

University of Reading, Reading School of Pharmacy,
Reading, United Kingdom

Mucosal membranes are wet surfaces lining human eye, airways, gastrointestinal and urogenital tracts. Drug delivery via mucosal surfaces offers a number of advantages including ease of therapy administration and termination, improved drug bioavailability, and possibility of targeting particular organs [1]. Dosage forms for transmucosal drug delivery should either be able to stick to mucosal surfaces and retain on them (mucoadhesion) or be able to penetrate through mucus layer to reach epithelial cells (mucopenetration). This lecture will describe the design and characterisation of polymeric materials with enhanced ability to adhere to mucosal surfaces or enhanced ability to penetrate through mucosal barriers. A range of novel mucoadhesive polymeric materials were synthesised to have special functional groups such as thiol- [2], acrylate- [3], methacrylate- [4] and maleimide-[5, 6] capable of forming covalent linkages with thiol groups present in mucins on mucosal surfaces. Mucopenetrating materials should have inert and stealthy surface chemistry [7]. We have developed mucopenetrating nanoparticles using thiolated silica decorated with poly(2-oxazoline) short chains [8, 9] and demonstrated that the nature of pendant groups strongly affects the ability of nanomaterials to penetrate. The application of these mucoadhesive and mucopenetrating polymeric systems for ocular, nasal, gastrointestinal and intravesical drug delivery will be discussed.

References:

1. Khutoryanskiy VV. Mucoadhesive Materials and Drug Delivery Systems. John Wiley and Sons. 2014, 1.
2. Cook MT, Schmidt S, Lee E, Samprasit W, Opanasopit P, Khutoryanskiy V.V. J. Mater. Chem. B. 2015; 3: 6599.
3. Brannigan RP, Khutoryanskiy VV, Colloid. Surface B. 2017; 155: 538.
4. Kolawole OM, Lau W-M, Khutoryanskiy VV. Int. J. Pharm. 2018; 550: 123.
5. Tonglairoum P, Brannigan RP, Opanasopit P, Khutoryanskiy V. J. Mater. Chem. B. 2016; 4: 6581.
6. Kaldybekov DB, Tonglairoum P, Opanasopit P, Khutoryanskiy VV. Eur. J. Pharm. Sci. 2018; 111: 83.
7. Khutoryanskiy VV. Adv. Drug Del. Rev. 2018; 124: 140.
8. Mansfield EDH, Sillence K, Hole P, Williams AC, Khutoryanskiy VV, Nanoscale. 2015; 7: 13671.
9. Mansfield EDH, de la Rosa VR, Kowalczyk RM, Grillo I, Hoogenboom R, Sillence K, Hole P, Williams AC, Khutoryanskiy VV. Biomat. Sci., 2016; 4: 1318.

PSIHJATRIJSKI NEŽELJENI EFEKTI LEKOVA: KAKO SE MOGU OBJASNITI I PREDVIDETI

Miroslav Savić

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju,
Beograd, Srbija

Neželjeni efekti farmaceutika na centralni i periferni nervni sistem javljaju se neretko tokom kliničkog razvoja i postmarketinškog praćenja. Većina njih utiče na kvalitet života, ali ne predstavlja rizik po život, dok pojedini direktno ili indirektno ugrožavaju život. Međutim, i psihijatrijski i neurološki neželjeni efekti se teško mogu predvideti korišćenjem standardnih prekliničkih testova tokom procesa istraživanja i razvoja, a zbog njihove niske osetljivosti u detektovanju „neurotoksičnih“ i „psihotoksičnih“ efekata. Ovo za posledicu ima znatnu stopu neuspeha i rasipanje budžeta inovativnih farmaceutskih kompanija.

U kliničkim uslovima, psihijatrijski neželjeni efekti farmaceutika se prepoznaju najviše u domenu promena u spoznaji i raspoloženja. Suprotno očekivanjima, psihijatrijski neželjeni efekti ne mogu biti pouzdano izbegnuti čak ni kada je izloženost mozga mala, a usled izostanka prolaska kroz krvno-moždanu barijeru. Primeri takvih farmaceutika su monoklonska antitela; nekoliko njih je bilo povezivano sa promenama u psihijatrijskim domenima, uključujući ponašanje povezano sa suicidom. Svaki napor da se uvedu nova oruđa za predikciju takvih efekata susreće se sa tri ključna izazova: niska učestalost psihijatrijskih neželjenih događaja, posebno u klinički relevantnom rasponu doza farmaceutika, i time izostanak istinski pozitivnih kontrola; slabo razumevanje mehanizma neželjenih efekata na raspoloženje i spoznaju; i poteškoće u razdvajaju varijacija normalnog u odnosu na patološke promene u ponašanju – kod ljudi i oglednih životinja.

Kombinovanje ekspertize akademskih istraživača, preduzimača u bioinformatici, i istraživača prekliničke bezbednosti iz farmaceutske industrije, NeuroDeRisk konzorcijum (Neurotoxicity De-Risking in Preclinical Drug Discovery) obezbeđuje nove validirane integrativne alatke za poboljšanje prekliničkog predviđanja neželjenih efekata farmaceutika na nervni sistem, i time olakšava da se rizik lekova-kandidata proceni u ranijim fazama istraživanja i razvoja. Referentni istraživački set od oko 20 farmaceutika, svaki iz različite farmakoterapijske grupe, biće izabran na osnovu metoda mašinskog učenja i konvencionalnih algoritama pretraživanja primenjenih na relevantne baze podataka, uključujući, ali bez ograničavanja na, FDA Adverse Event Reporting System (FAERS).

Procena spoznaje i raspoloženja, kao stanja moždane aktivnosti višeg reda, može da se sprovede samo u živim organizmima. Tako, sa aspekta cilja da se ustanove *in vivo* modeli na životinjama za poboljšanu detekciju/predviđanje psihijatrijskih uticaja farmaceutika koji se mogu javiti kod ljudi, predložili smo da se efekti u smislu promene ponašanja kod pacova procene u dve kompleksne baterije testova. *Ex vivo* profilisanje imunskih/inflamatornih medijatora, metabolita kinureninskog puta i neurotransmitera sprovodiće se u krvi, cerebrospinalnoj tečnosti i nervnom tkivu pacova prethodno izloženih produženom tretmanu izabranim farmaceuticima. Kao komplementarni pristup, transkriptomska/proteomska analiza velike propusne moći, koja uključuje *in vitro* screening ispitivanje na neuronima i glijalnim ćelijama izvedenim od humanih indukovanih pluripotentnih matičnih ćelija, ima za cilj rasvetljavanje mehanizma moguće toksičnosti odabranih farmaceutika. Krajni željeni ishod je predviđanje psihijatrijskih neželjenih efekata i obezbeđivanje novih prekliničkih alatki za ovu svrhu.

PSYCHIATRIC ADVERSE EFFECTS OF PHARMACEUTICALS: HOW THEY CAN BE EXPLAINED AND PREDICTED

Miroslav Savić

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology,
Belgrade, Serbia

Adverse effects of pharmaceuticals on the central and peripheral nervous system are not uncommon during clinical development and post-marketing surveillance. Most of them impact 'quality of life' rather than pose a 'risk to life', but some are directly or indirectly life-threatening. However, both psychiatric and neurological adverse effects are poorly predicted by standard preclinical studies during research and development process, due to their low sensitivity of detecting the 'neurotoxic' or 'psychotoxic' effects. This leads to a substantial attrition rate and a waste of budget in innovative pharmaceutical companies.

In clinical settings, psychiatric adverse effects of pharmaceuticals are recognized mainly in the scope of cognitive and mood changes. Counterintuitively, psychiatric adverse effects cannot be reliably avoided even if the brain exposure of a pharmaceutical is minor, based on its lack of blood-brain barrier penetrance. The examples of such pharmaceuticals are monoclonal antibodies; several of them have been linked with changes in psychiatric domains, including suicide-related behavior. Any efforts to invent new tools for prediction of such effects encounter three major challenges: low frequency of psychiatric adverse events, especially in the clinically relevant range of doses of pharmaceuticals, and thus lack of truly positive controls; poorly understood mechanisms of adverse effects on mood and cognition; and difficult differentiation between variations of normal vs. pathological changes in behavior- in humans and animals.

By combining the expertise of academic scientists, bioinformatics enterprisers, and preclinical safety scientists from the pharmaceutical industry, the NeuroDeRisk (Neurotoxicity De-Risking in Preclinical Drug Discovery) consortium will provide novel validated integrated tools for improving the preclinical prediction of adverse effects of pharmaceuticals on the nervous system and thus help to de-risk drug candidates earlier in the research and development phases. A reference set of about 20 pharmaceuticals, each from a different pharmacotherapeutic group, will be selected for research based on machine learning and conventional search algorithms applied to the relevant databases, including but not limited to the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS).

Assessment of cognition and mood, as higher-order states of the brain, can be performed in living organisms only. Thus, with respect to the goal to establish animal *in vivo* models for improved detection/prediction of psychiatric changes of pharmaceuticals that may occur in humans, we proposed to assess the behavioral changes in rats in two complex batteries of tests. *Ex vivo* profiling of immune/inflammatory mediators, kynurenine pathway metabolites and neurotransmitters will be performed in the blood, cerebrospinal fluid and neural tissue of rats previously subjected to protracted treatment with selected pharmaceuticals. As a complementary approach, a high-throughput transcriptome/proteomic analysis employing *in vitro* screening approach with human induced pluripotent stem cell-derived neuronal and glial cells aims to elucidate the mechanism of the possible toxicity of selected pharmaceuticals. A final goal is to predict psychiatric adverse effects and provide new preclinical tools for this purpose.

BIO-ŠTAMPA: PRIMENA DIGITALNE FABRIKACIJE U BIOMEDICINI

Ivana Gađanski

BioSense Institut, Fab Inicijativa, Novi Sad, Srbija

Digitalna fabrikacija (DF) podrazumeva prevođenje digitalnog modela u fizički oblik. Na ovaj način se mogu realizovati strukture koje je teško formirati klasičnim metodama fabrikacije.

Postoje različite metode digitalne fabrikacije koje se koriste u medicini, kao što su, na primer, 3D štampa putem topljenja filamenata, koja se često primenjuje za izradu ekonomičnih ortopedskih pomagala, preko stereolitografije i laserskog sinterovanja, kojim se mogu praviti takozvani skafoldi, odnosno nosači ćelija za primenu u tkivnom inženjerstvu, do bioštampe, gde se mogu koristiti i žive ćelije i biomaterijali za formiranje 3D kulture tkiva. Još uvek nije moguće odštampati potpuno funkcionalni organ, prvenstveno zbog problema vaskularizacije. Moguće je koristiti DF metode i za proizvodnju lekova. Različite metode CNC fabrikacije, koje takođe ulaze u okvir DF, su primenljive u medicini i medicinskom inženjerstvu. Predavanje će obuhvatiti kratak pregled pomenutih metoda, sa primerima i još uvek nerešenim tehničkim izazovima.

BIO-PRINTING: APPLICATION OF DIGITAL FABRICATION IN BIOMEDICINE

Ivana Gadjanski

BioSense Institute, Fab Initiative, Novi Sad, Serbia

Digital fabrication (DF) entails transformation of the digital model into the physical form. In this way, the structures with complex geometries can be realized.

Various methods of digital fabrication can be applied in biomedicine, such as Fused Deposition Modeling 3D printing, frequently used for low-cost orthopedic devices, stereolithography (SLA) and selective laser sintering (SLS) which can be used for scaffold manufacturing for application in tissue engineering and bioprinting, where living cells and biomaterials are used as „bioink“ to form 3D tissue culture, for example. Bioprinting of the fully functional organ is currently not yet achievable, mostly due to the vascularization problems. DF methods have been tested in drug manufacturing as well. Different Computer Numerical Control (CNC) fabrication methods can be also used for biomedical applications and in biomedical engineering. The lecture will comprise short overview of the above mentioned methods, with examples and technical challenges.

Predavanja po pozivu
Invited Lectures

SADRŽAJ – CONTENTS

Predavanja po pozivu / Invited lectures

PP 1

UTICAJ HIPERTENZIJE I DIJABETESA NA TRANSPLACETALNI TRANSFER LEKOVA U PREMEDIKACIJI KOD ELEKTIVNOG CARSKOG REZA

INFLUENCE OF HYPERTENSION AND DIABETES ON TRANSPLACENTAL TRANSFER OF PREMEDICATION DRUGS IN ELECTIVE CESAREAN SECTION

- **Mladena Lalić-Popović, Svetlana Goločorbin-Kon, Momir Mikov** **S20**

PP 2

DERIVATI BENZIMIDAZOLA KAO PIONIRI INHIBITORA DNAZE I NA BAZI SUPSTRATA

BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES AS PIONEERS OF SUBSTRATE-BASED DNASE I INHIBITORS

- **Ana Kolarević, Budimir S. Ilić, Neda Anastassova,
Anelia Ts. Mavrova, Denitsa Yancheva,
Gordana Kocić, Andrija Šmelcerović** **S24**

PP 3

PROCENA KVALITETA NANOTERAPEUTIKA: IZAZOVI I PERSPEKTIVE QUALITY ASSESSMENT OF NANOTHERAPEUTICS: CHALLENGES AND PERSPECTIVES

- **Bojan Čalija** **S28**

PP 4

FULLERENOL NANOPARTICLES AND DOXORUBICIN

FULERENOLSKE NANOČESTICE I DOKSORUBICIN

- **Branislava Srđenović, Aleksandar Đorđević, Danica Jović,
Ivana Borišev, Mariana Seke, Jasmina Mrđanović,
Danijela Petrović, Dragan Žikić, Rade Injac, Zdenko Kanački** **S32**

PP 5

IN SILICO-IN VITRO KARAKTERIZACIJA DERIVATA SUKGINIMIDA – KORAK KA SELEKCIJI KANDIDATA ZA LEK

IN SILICO-IN VITRO CHARACTERIZATION OF NEW SUCCINIMIDE DERIVATIVES – A STEP FORWARD TO DRUG CANDIDATE SELECTION

- **Nataša Milošević** **S36**

UTICAJ HIPERTENZIJE I DIJABETESA NA TRANSPLACETALNI TRANSFER LEKOVA U PREMEDIKACIJI KOD ELEKTIVNOG CARSKOG REZA

Mladena Lalić-Popović¹, Svetlana Goločorbin-Kon¹, Momir Mikov²

¹Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za farmaciju,
Novi Sad, Srbija;

²Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za farmakologiju,
toksikologiju i kliničku toksikologiju, Novi Sad, Srbija

Placenta je jedinstven organ u telu koji razdvaja majku i fetus. Prolazak lekova kroz placentu generalno može biti ograničen permeabilnošću (hidrofilni lekovi) ili protokom krvi (lipofilni lekovi). Takođe, stanja kao što su dijabetes melitus i hipertenzija mogu uticati na građu placente na celularnom nivou, što može dovesti do poremećaja kompletne morfologije placente. Pored ovoga, kod žena sa dijabetes melitusom i/ili blagom hipertenzijom javlja se smanjen protok krvi [1,2].

Izvesno je da prolazak lekova kroz placentu je uslovljen brojnim faktorima. Iako za većinu lekova nije poželjno da prolaze placentalnu barijeru, neki lekovi treba da postignu terapijski nivo u fetalnoj cirkulaciji. Da bi ostvarili kontrolu nad prolaskom leka kroz placentu, potrebno je primeniti adekvatnu tehnološku ili hemijsku manipulaciju, a na osnovu znanja stečenih iz kliničkih studija.

S ciljem da se utvrdi placentalni prolazak lekova u premedikaciji kod elektivnog carskog reza na Medicinskom fakultetu u Novom Sadu u saradnji sa Klinikom za ginekologiju i akušerstvo, Kliničkog centra Vojvodine, urađene je na malom uzorku trudnih žena klinička studija (otvorenenog tipa, nerandomizovana). Studija je dobila odobrenje od strane Etičkog komiteta (N°100-08/9-3) i izvedena je u skladu sa međunarodnim smernicama (CIOMS). U I deo studije je bilo uključeno ukupno 75 trudnih žena (diazepam, *i.m.*, 5 mg), a u II deo 60 trudnih žena (ranitidin-*i.v.*, 50 mg; cefuroksim, *i.v.*, 1500 mg; metoklopramid, *i.v.*, 10 mg). Trudnice su bile podeljene u tri grupe: kontrolnu grupu, grupu sa dijabetes melitusom i hipertenzivnu grupu. Venska plazma koncentracija lekova pre, za vreme i nakon porođaja je određivana kod majki, dok je koncentracija leka u fetalnoj arterijskoj plazmi merena za vreme porođaja. Uticaj dijabetes melitusa i hipertenzije na permeabilnost je procenjivana određivanjem odnosa koncentracija leka fetus-majka [3-5].

Dijabetes i hipertenzija dovode do povećanja placentalnog prolaska lipofilnog leka diazepama [3]. S druge strane, istraživanje nije pokazalo da postoji razlika u prolasku leka kada se porede grupe sa hipertenzijom i dijabetesom.

Istraživanje transplacentalnog prolaska ranitidina je pokazala da ranitidin veoma brzo prolazi placentalnu barijeru i već se nakon 17 minuta od davanja može

detektovati u fetalnoj plazmi. Fetalne koncentracije leka zavise od koncentracija u majčinoj cirkulaciji i to kod zdravih i hipertenzivnih žena, ali ne i kod žena sa dijabetesom. U slučaju ranitidina, hipertenzija i dijabetes nisu uticali na obim prelaska ranitidina već samo na povećanje vremena potrebnog da se postigne izjednačenje koncentracije leka sa obe strane placentalne barijere [4].

Međutim, placentalni prolazak hidrofilnog leka cefuroksima je bio smanjen kod žena sa dijabetesom i hipertenzijom [5]. Ovo je dovelo u pitanje efikasnost terapije s obzirom da se transplentalna terapija i profilaksa antibioticima baziraju na ideji da se postižu dovoljne koncentracije antibiotika u krvi majke i fetusa za borbu protiv većine patogena. U ispitivanju je pokazano da cefuroksim postiže terapijske koncentracije u fetalnoj plazmi 30 minuta od aplikacije i da se one održavaju do 2 sata nakon ispitivanja.

Prikazano istraživanje je izvedeno na malom uzorku, ali ima klinički značaj. Da bi izneli definitivni zaključak o uticaju dijabetesa i hipertenzije na transplentalni transfer navedenih lekova, potrebno je izvesti studiju na većem uzorku i uključiti i ispitivanja na perfuzovanoj ljudskoj placenti.

Reference:

1. Pacificci GM and Nottoli R. Placental transfer of drugs administreted to the mother. Clinical Pharmacokinetik, 1995; 28(3):235-269.
2. P. Bourget, C. Roulot, H. Fernandez. Models for placental transfer studies of drugs. Clinical Pharmacokinetik. 1995;28(2):161-180
3. Lalić-Popović M, Paunković J, Grujić Z, Goločorbin-Kon S, Al-Salami H and Mikov M. Diabetes and hypertension increase the placental and transcellular permeation of the lipophilic drug diazepam in pregnant women. BMC Pregnancy and Childbirth, 2013;13:88.
4. Lalić-Popović M, Paunković J, Grujić Z, Goločorbin-Kon S, Vasović V, Al-Salami H. and Mikov M. The Effect of Diabetes and Hypertension on the Placental Permeation of the Hydrophilic Drug, Ranitidine. Placenta, 2016;48:144-150
5. Lalić-Popović M, Paunković J, Grujić Z, Goločorbin-Kon S, Milašinović Lj, Al-Salami H. and Mikov M. Decreased placental and transcellular permeation of cefuroxime in pregnant women with diabetes. Journal of Diabetes, 2016;8(2):238-235.

INFLUENCE OF HYPERTENSION AND DIABETES ON TRANSPLACENTAL TRANSFER OF PREMEDICATION DRUGS IN ELECTIVE CESAREAN SECTION

Mladena Lalić-Popović¹, Svetlana Goločorbin-Kon¹, Momir Mikov²

¹ University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy,
Novi Sad, Serbia

² University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology,
Toxicology and Clinical Toxicology, Novi Sad, Serbia

Placenta is unique organ in the body that separates mother and foetus. Placental transfer can generally be referred to as either permeability-limited (hydrophilic drugs), flow-limited (lipophilic drugs), or both. Diabetes and hypertension have been suggested as conditions in which placental architecture and overall gross structure is compromised. Also local placental blood flow in even slightly hypertensive women and in diabetes mellitus is decreased [1,2].

It is clear that transplacental drug transfer is complex and could be influenced by many factors. Though most drugs should not cross placental barrier there are drugs that should reach therapeutic level in fetal circulation. In order to control transplacental transfer of drug, suitable technological or chemical manipulation is required, which should be based on knowledge from clinical studies.

In order to determine placental transfer of drugs used in premedication in Cesarean section, small population clinical study (open label, not randomised) was performed at the Faculty of Medicine in Novi Sad in cooperation with the Gynecology and Obstetric Clinic of the Clinical Centre of Vojvodina. Ethic Committee approved study under the protocol (N°100-08/9-3) and the study was conducted in accordance with international ethical guidelines (CIOMS). 75 pregnant women participated in the part I of the study (diazepam, *i.m.*, 5 mg dose) and 60 women participated in part II (ranitidine-*i.v.*, 50 mg; cefuroxime, *i.v.*, 1500 mg; metoclopramide, *i.v.*, 10 mg). Pregnant women were divided into three groups: control group, hypertension group and diabetes group. Drug concentrations were measured in maternal venous plasma before, during, and after delivery, as well as in fetal umbilical cord vein and artery plasma during delivery. The effects of diabetes and hypertension on drug placental-permeation were assessed by the feto-maternal plasma concentration ratios [3-5].

Study of diazepam permeation have shown that diabetes and hypertension increased placental permeation [3]. On the other hand, the findings do not show significant difference between diabetes and hypertension in diazepam placental-permeation.

Also findings showed that ranitidine crosses placenta rapidly after *i.v.* administration reaching therapeutic concentrations in fetal blood as early as 17 min post dose. Fetal concentrations are dependent on maternal concentrations in healthy and hypertensive women but not in diabetic women [4].

However, placental permeation of the hydrophilic drug, cefuroxime (weak acid) was reduced in the state of diabetes and increased in the state of hypertension [5], which raised concerns since transplacental antibiotic treatment and prophylaxis are based on the assumption that sufficient concentrations will reach maternal and fetal blood to combat most pathogens. Study showed that effective concentrations of cefuroxime are reached in fetal plasma 30 minutes after application and are maintained for 2 h.

This research is a small population study with clinical significance but further research with perfused placenta and with larger sample size would give more definite conclusions on the effect of diabetes and hypertension on placental transfer of drugs.

References:

1. Pacifici GM and Nottoli R. Placental transfer of drugs administered to the mother. Clinical Pharmacokinetik, 1995; 28(3):235-269.
2. P. Bourget, C. Roulot, H. Fernandez. Models for placental transfer studies of drugs. Clinical Pharmacokinetik. 1995;28(2):161-180
3. Lalić-Popović M, Paunković J, Grujić Z, Goločorbin-Kon S, Al-Salami H and Mikov M. Diabetes and hypertension increase the placental and transcellular permeation of the lipophilic drug diazepam in pregnant women. BMC Pregnancy and Childbirth, 2013;13:88.
4. Lalić-Popović M, Paunković J, Grujić Z, Goločorbin-Kon S, Vasović V, Al-Salami H. and Mikov M. The Effect of Diabetes and Hypertension on the Placental Permeation of the Hydrophilic Drug, Ranitidine. Placenta, 2016;48:144-150
5. Lalić-Popović M, Paunković J, Grujić Z, Goločorbin-Kon S, Milašinović Lj, Al-Salami H. and Mikov M. Decreased placental and transcellular permeation of cefuroxime in pregnant women with diabetes. Journal of Diabetes, 2016;8(2):238-235.

DERIVATI BENZIMIDAZOLA KAO PIONIRI INHIBITORA DNaze I NA BAZI SUPSTRATA

**Ana Kolarević¹, Budimir S. Ilić², Neda Anastassova³, Anelia Ts. Mavrova⁴,
Denitsa Yancheva³, Gordana Kocić⁵, Andrija Šmelcerović²**

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Farmacije, Niš, Srbija;

²Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Hemije, Niš, Srbija;

³Institut za organsku hemiju sa centrom za fitohemiju, Bugarska akademija
nauka, Sofija, Bugarska;

⁴Univezitet za hemijsku tehnologiju i metalurgiju, Sofija, Bugarska;

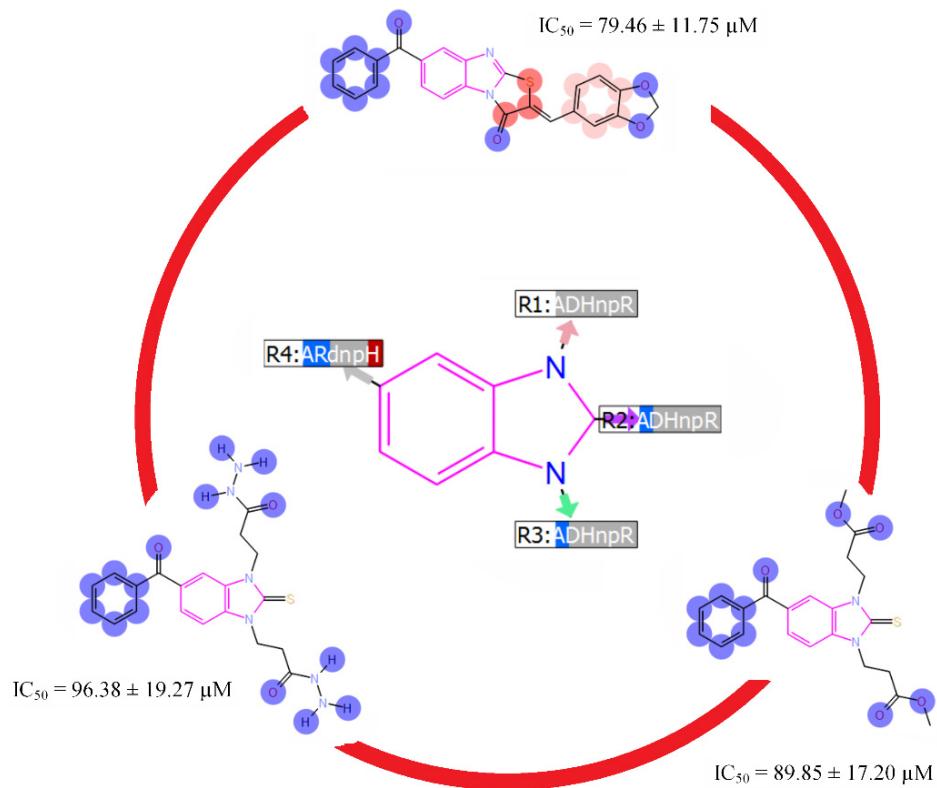
⁵Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Institut za biohemiju, Niš, Srbija

Dezoksiribonukleaza I (DNaza I) predstavlja jednu od najbolje okarakterisanih endonukleaza sisara čijom aktivnošću kao finalni proizvodi prvenstveno nastaju 5'-oligonukleotidi. Inhibicija DNaze I predstavlja značajan mehanizam zaštite DNK od prevremene degradacije tokom oštećenja ćelija. S obzirom na to da se DNaza I smatra jednom od glavnih endonukleaza odgovornih za fragmentaciju DNK tokom programirane ćelijske smrти, inhibitori ovog enzima bi mogli imati potencijalnu primenu u prevenciji i/ili terapiji različitih patoloških stanja praćenih povišenim nivoima DNaze I i prekomernom apoptozom.

Imajući u vidu strukturnu sličnost između benzimidazola i purinskih baza, ispitivana je inhibicija goveđe pankreasne DNaze I grupom od 19 derivata benzimidazola, koja obuhvata četiri derivata 1,3-tiazolo[3,2-*a*]benzimidazolona, pet derivata benzimidazol-2-imina i deset derivata benzimidazol-2-tiona. Ispitivanje je vršeno u *in vitro* uslovima, spektrofotometrijskim merenjem apsorbance nastalih oligonukleotida na 260 nm. Kao rezultat, dva jedinjenja iz grupe benzimidazol-2-tiona i jedno jedinjenje iz grupe 1,3-tiazolo[3,2-*a*]benzimidazolona inhibirala su DNazu I sa IC₅₀ vrednostima manjim od 100 μM i ujedno se pokazala boljim inhibitorima DNaze I u odnosu na pozitivnu kontrolu, kristal violet (IC₅₀ = 351,82 ± 29,41 μM).

Primenom *Pharma RQSAR* modela analizirana su inhibitorna svojstva ispitivanih benzimidazola u zavisnosti od vrste i položaja supstituenata. Predviđeno je da prisustvo akceptora vodoničnih veza u položajima R2, R3 i R4, kao i prisustvo aril supstituenta u položaju R4 doprinosi efikasnijoj inhibiciji DNaze I (Slika 1). Metodom molekulskog docking-a predviđeno je da benzimidazoli koji su inhibirali DNazu I u ispitivanim koncentracijama mogu ostvariti interakcije sa *His134* i *Glu39*, aminokiselinskim ostacima koji su od izuzetnog značaja za katalitičku aktivnost DNaze I.

Dobijeni rezultati predstavljaju dobru osnovu za dizajn novih i efikasnijih inhibitora DNaze I koji mogu imati potencijalnu terapijsku primenu. S obzirom na činjenicu da ne postoji inhibitor DNaze I definisan kao „zlatni“ standard, ove strukture mogu predstavljati i nove standarde u budućim ispitivanjima.



Slika 1. Pharma RQSAR model ispitivanih benzimidazola

BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES AS PIONEERS OF SUBSTRATE-BASED DNase I INHIBITORS

Ana Kolarević¹, Budimir S. Ilić², Neda Anastassova³, Anelia Ts. Mavrova⁴, Denitsa Yancheva³, Gordana Kocić⁵, Andrija Šmelcerović²

¹University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Niš, Serbia;

²University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Chemistry, Niš, Serbia;

³Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria;

⁴University of Chemical Technology and Metallurgy, Sofia, Bulgaria;

⁵University of Niš, Faculty of Medicine, Institute of Biochemistry, Niš, Serbia

Deoxyribonuclease I (DNase I) is one of the best characterized mammalian endonucleases whose activity primarily results in the formation of 5'-oligonucleotides. DNase I inhibition represents an important mechanism for DNA protection from premature degradation during cell damage. Because DNase I is considered one of the major endonucleases responsible for DNA fragmentation during programmed cell death, inhibitors of this enzyme may have potential applications in the prevention and/or therapy of various pathological conditions accompanied by elevated DNase I levels and excessive apoptosis.

Considering the structural similarity between benzimidazole heterocycle and purine bases, inhibition of bovine pancreatic DNase I was evaluated by a group of 19 benzimidazole derivatives, including four 1,3-thiazolo[3,2-*a*]benzimidazolones, five benzimidazole-2-imines and ten benzimidazole-2-thiones. The assay was performed under *in vitro* conditions, by spectrophotometric measurement of the absorbance of formed oligonucleotides at 260 nm. As a result, two compounds from the benzimidazole-2-thione group and one compound from the 1,3-thiazolo[3,2-*a*]benzimidazolone group inhibited DNase I with IC₅₀ values below 100 µM, being simultaneously more active than crystal violet used as a positive control (IC₅₀ = 351.82 ± 29.41 µM).

Pharma RQSAR model analyzed DNase I inhibitory properties of the studied benzimidazoles as a function of the groups at various attachment points. The presence of hydrogen-bond acceptor substituents at R2, R3 and R4 positions, as well as the presence of aryl substituents at R4 position of the studied benzimidazoles, have substantial increased DNase I inhibition (Figure 1). Using molecular docking study, it was predicted that benzimidazoles that inhibited DNase I within the investigated concentrations could interact with His134 and Glu39, amino acid residues essential for DNase I catalytic activity.

The obtained results provide a good starting point for the design of novel and more effective DNase I inhibitors that may have potential therapeutical applications. As there is no DNase I inhibitor defined as the "gold" standard, these structures may also represent new ones in future research.

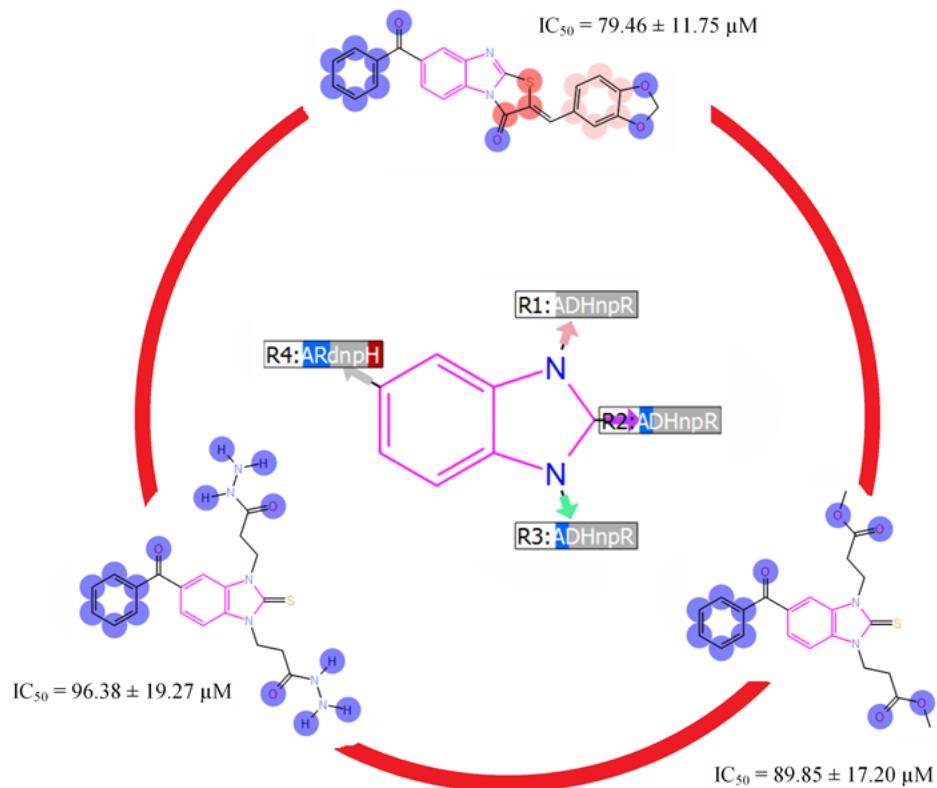


Figure 1. The Pharma RQSAR model of the studied benzimidazoles

PROCENA KVALITETA NANOTERAPEUTIKA: IZAZOVI I PERSPEKTIVE

Bojan Čalija

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Beograd, Srbija

Od 1990. godine, kada je u Evropi odobren prvi liposomski nanolek AmBisome®, globalno tržište nanoterapeutika se neprestano menja i raste. Okosnicu ovog tržišta čine lekovi na bazi liposoma, nanokristala, nanoemulzija, nanokompleksa, micela, lek-polimer konjugata i polimernih nanočestica. Ovi lekovi su razvijeni u cilju poboljšanja bioraspoloživosti i efikasnosti i/ili smanjenja toksičnosti aktivnih supstanci putem modifikovanog oslobođanja, zaštite od degradacije *in vitro/in vivo*, povećanja rastvorljivosti, poboljšane distribucije i transporta kroz biološke barijere.

Terapijska efikasnost nanoterapeutika zavisi od složenih fizičkohemijskih, farmakodinamskih i/ili imunoloških svojstava, te procena njihovog kvaliteta, bezbednosti i efikasnosti predstavlja veliki izazov za farmaceutsku industriju i regulatorna tela [1]. Inicijalni korak u proceni kvaliteta ovih lekova je identifikacija kritičnih atributa kvaliteta nanomaterijala kao nosača aktivnih supstanci i procena njihovog uticaja na ponašanje leka *in vivo*. Kritične attribute nanomaterijala treba identifikovati u odnosu na njihovu namenu i potencijalni uticaj na efikasnost i bezbednost leka. U radnoj verziji vodiča za industriju „*Lekovi, uključujući i biološke lekove, koji sadrže nanomaterijale*“ FDA ističe da je hemijski sastav, prosečnu veličinu čestica i distribuciju čestica po veličini, morfološke karakteristike, fizičku i hemijsku stabilnost neophodno detaljno ispitati i opisati kao kritične attribute kvaliteta za svaki nanomaterijal [2]. Navedeni atributi kvaliteta mogu, između ostalog, uticati na toksičnost, biodegradabilnost, opsonizaciju, klirens, biodistribuciju, čelijsko preuzimanje, akumulaciju, oslobođanje i ciljano delovanje [3]. U zavisnosti od puta primene, indikacije i ciljne populacije, kritičnim se mogu smatrati i drugi atributi kvaliteta, poput sadržaja i distribucije aktivne supstance, strukturnih funkcionalnih atributa, površinskih svojstava i svojstava omotača, poroziteta, koncentracije čestica, brzine oslobođanja aktivne supstance *in vitro*, kristalnog oblika, prisustva nečistoća, sterilnosti i sadržaja endotoksina [2]. Značaj navedenih atributa kvaliteta prepoznat je i u vodičima EMA-e za pripremu registracione dokumentacije novih nanoterapeutika i nanosimilara [4-7]. Pri izboru metoda za procenu i kontrolu atributa kvaliteta potrebno je razmotriti njihovu pogodnost, komplementarnost, način uzorkovanja i pripremu uzorka [2]. Kvalitet ekscipijenasa koji ulaze u sastav nanoterapeutika je takođe kritičan za efikasnost i bezbednost finalnog proizvoda, te je neophodno identifikovati, ispitati i kontrolisati funkcionalne karakteristike ekscipijenasa [2]. Proizvodnja nanoterapeutika je složena, transfer proizvodnog procesa sa laboratorijskog na industrijski nivo

izazovan, a ponašanje nanoterapeutika *in vivo* je u većini slučajeva podložno uticaju uslova u proizvodnji i veličine serije. Stoga je značajno identifikovati i kritične procesne parametre, ispitati njihov uticaj na kvalitet leka i uspostaviti robusne kontrolne strategije [2, 8]. Proizvodnja nanoterapeutika se mora odvijati u skladu sa principima važeće Dobre proizvođačke prakse (cGMP). Posebnu pažnju prilikom razvoja nanoterapeutika treba posvetiti njihovoj stabilnosti, što podrazumeva izbor adekvatne ambalaže, definisanje adekvatnih uslova čuvanja i roka upotrebe pre i nakon prvog otvaranja. Nestabilnost nanomaterijala se obično dovodi u vezu sa promenom kritičnih atributa kvaliteta poput veličine čestica i polidisperznosti, morfoloških karakteristika, brzine oslobođanja aktivne supstance, površinskog nanelektrovanja, čvrstog stanja i pogodnosti za rekonstituciju, kao i sa curenjem aktivne supstance iz nosača, samoasociranjem i degradacijom [2].

Regulatorna tela podržavaju razvoj nanoterapeutika, ali se regulativa još uvek prilagođava kompleksnosti i raznovrsnosti ovih lekova. Najveći izazovi za regulatorna tela trenutno su priprema smerница za procenu bioekvivalentnosti nanosimilara i globalna harmonizacija zahteva za kvalitet, bezbednost i efikasnost nanoterapeutika.

Reference:

1. Hafner A, Lovric J, Lakos G.P., Pepic I. Nanotherapy in the EU: An overview on current state and future directions, *Int. J. Nanomedicine*. 2014; 9:1005–23.
2. FDA. Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials (draft guidance). Rockville, 2017.
3. Lin PC, Lin S, Wang PC, Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology advances*. 2014; 32(4):711-26.
4. EMA. Joint MHLW/EMA Reflection Paper on the Development of Block Copolymer Micelle Medicinal Products, EMA, London, 2013.
5. EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product, EMA, London, 2013.
6. EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product, EMA, London, 2015.
7. EMA. Reflection paper on surface coatings: general issues for consideration regarding parenteral administration of coated nanomedicine products, EMA, London, 2013.
8. Bastogne T. Quality-by-design of nanopharmaceuticals – a state of the art. *Nanomed-Nanotechnol*. 2017; 13:2151–7.

QUALITY ASSESSMENT OF NANOTHERAPEUTICS: CHALLENGES AND PERSPECTIVES

Bojan Čalija

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Belgrade, Serbia

Starting from 1990, when the first liposomal nanomedicine AmBisome® was approved in Europe, a global market of nanotherapeutics is continuously growing and evolving. There is a number of products based on liposome, nanocrystal, nanoemulsion, nanocomplex, micelle, API-polymer conjugate and polymeric nanoparticle drug carriers. These medicines are developed to improve bioavailability, efficacy and/or reduce toxicity of APIs by means of modified release, protection from *in vitro/in vivo* degradation, increased solubility, improved transport across biological barriers and distribution within the body.

Therapeutic efficacy of nanotherapeutics depends on complex physicochemical, pharmacodynamic and/or immunological properties [1]. Therefore, assessment of quality, safety and efficacy of these medicinal products is a major challenge for both pharmaceutical industry and regulatory bodies. The initial step in quality assessment of these complex drugs is determination of critical quality attributes (CQAs) of drug-carrying nanomaterials and assessment of their impact on nanotherapeutic performance *in vivo*. CQAs should be determined with respect to the intended use of nanomaterials and their potential influence on efficacy and safety. In draft guidance for industry "*Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials*" FDA highlights chemical composition, average particle size and particle size distribution, general shape and morphology, physical and chemical stability as CQAs for any nanomaterial that have to be thoroughly assessed and described [2]. These properties are related but not limited to toxicity, biodegradation, opsonisation, clearance, biodistribution, cellular uptake, accumulation, drug release and targeting [3]. Depending on the intended route of administration, indication and target population additional attributes may be recognized as critical, such as: assay and distribution of APIs associated with the nanomaterial, structural functionality-related attributes, surface and coating properties, porosity, particle concentration, *in vitro* release, crystal form, impurities, sterility and endotoxin levels [2]. The importance of the above mentioned quality attributes has been also recognized in the EMA reflection papers [4-7]. These papers serve as guidance documents for the preparation of marketing authorization applications for both new and follow-on nanotherapeutics. Methods used for the assessment and control of the quality attributes should be carefully selected with respect to suitability, complementarity, sampling procedure and sample preparation [2]. Quality of excipients incorporated into nanotherapeutics is also considered as critical both for efficacy and safety of the final product, therefore, their functionality related characteristics should be identified and fully characterized [2].

Nanotherapeutics manufacture is complex, scale up is challenging and *in vivo* performance of nanotherapeutics is, in most cases, highly sensitive to manufacturing conditions and production scales. Therefore, it is of great importance to identify critical process parameters (CPP), investigate their influence on product quality, and establish robust control strategies [2, 8]. Manufacturing of nanotherapeutics must comply with current Good Manufacturing Practice (cGMP). Special consideration during development should be devoted to stability of nanotherapeutics. This includes choice of suitable container closure system and storage conditions, shelf-life and determination of in-use stability. Instability of nanomaterials is usually associated with changes in particle size, polydispersity, morphology, dissolution rate, surface charge, solid state and suitability for reconstitution, and API leakage, self-association, and degradation [2].

Development of nanotherapeutics is supported by regulatory authorities, but the regulations are still being adjusted to the complexity and versatility of these medicines. At present, the biggest challenge for regulatory bodies is development of guidances for bioequivalence assessment of nanosimilars and global harmonization of quality, safety and efficacy requirements for nanotherapeutics.

References:

1. Hafner A, Lovric J, Lakos G.P., Pepic I. Nanotherapeutics in the EU: An overview on current state and future directions, *Int. J. Nanomedicine*. 2014; 9:1005–23.
2. FDA. Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials (draft guidance). Rockville, 2017.
3. Lin PC, Lin S, Wang PC, Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology advances*. 2014; 32(4):711-26.
4. EMA. Joint MHLW/EMA Reflection Paper on the Development of Block Copolymer Micelle Medicinal Products, EMA, London, 2013.
5. EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product, EMA, London, 2013.
6. EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product, EMA, London, 2015.
7. EMA. Reflection paper on surface coatings: general issues for consideration regarding parenteral administration of coated nanomedicine products, EMA, London, 2013.
8. Bastogne T. Quality-by-design of nanopharmaceuticals – a state of the art. *Nanomed-Nanotechnol*. 2017; 13:2151–7.

FULERENOLSKE NANOČESTICE I DOKSORUBICIN

Branislava Srđenović¹, Aleksandar Đorđević², Danica Jović²,
Ivana Borišev², Mariana Seke³, Jasmina Mrđanović⁴, Danijela Petrović⁵,
Dragan Žikić⁶, Rade Injac⁷, Zdenko Kanački⁶

¹Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za farmaciju,
Novi Sad, Srbija;

²Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Beograd, Srbija;

⁴Univerzitet u Novom Sadu, Institut za onkologiju Vojvodine,
Sremska Kamenica, Srbija;

⁵Univerzitet u Novom Sadu, Pedagoški fakultet, Sombor, Srbija;

⁶Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Srbija;

⁷Head Launches LatAm Sandoz, Florida

Razvoj nanofarmaceutika je rezultat različitih strategija: površinske modifikacije nanomaterijala sa ciljem poboljšanja transporta kroz biološke barijere, povećanja rastvorljivosti, smanjenja eliminacije, ciljane isporuke ili kontrolisanog oslobođanja lekovite supstance, kao i njena inkorporacija u nanomaterijal sa ciljem zaštite u toku distribucije do mesta delovanja. Krajnji cilj je povećanje terapijske efikasnosti, kao i smanjenje neželjenih dejstava lekovitih supstanci. Kontrolisano oslobođanje leka se može postići kontinuiranim ili podstaknutim otpuštanjem, pod dejstvom različitih fizioloških uslova (pH, enzimska aktivnost, prisustvo specifičnih jona/molekula) ili nekim spoljašnjim podsticajem, kao što su temperatura, magnetno ili električno polje, ultrazvuk ili svetlost [1].

Iako je jedan od najefikasnijih antineoplastičnih lekova, primena doksorubicina je ograničena zbog neželjenih efekata koje izaziva. Jedan od najizraženijih, koji i ograničava kliničku primenu, je dozno-zavisna kardiotoksičnost, kao i mijelosupresija. Neke od strategija koje se primenjuju u cilju smanjenja sistemske toksičnosti doksorubicina su: sinteza hemijskih analoga, primena antioksidanasa i helatora gvožđa kao kardioprotektora (Cardioxan®) i razvoj novih nanoformulacija (Doxil®) [1].

Protektivni efekat fulerenolskih nanočestica na doksorubicinom-izazvanu toksičnost ispitana je na *in vivo* modelima zdravih pacova, pacova kojima su hemijski indukovani karcinomi i svinja [2, 3]. Patohistološkim pretragama i biohemijskim testovima je utvrđen protektivni efekat fulerenola na srce, jetru i ostale organe smanjenjem doksorubicinom izazvanog oksidativnog stresa [4-7].

Fulerenolske nanočestice su korišćene za razvoj novog nekovalentnog nanokompozita fulerenol/doksorubicin. Nanokompozit je, u poređenju sa samim

doksorubicinom u ekvivalentnim koncentracijama, značajno smanjio vijabilnost dva tipa tumorskih ćelija. Biološka ispitivanja na *in vivo* modelu zebrica pokazala su smanjenje toksičnosti, primarno kardiotoksičnosti, kao i veću bezbednost nanokompozita u odnosu na sam doksorubicin [8].

Reference:

1. Borisev I, Mrdanovic J, Petrovic D, Seke M, Jovic D, Srdenovic B, et al. Nanoformulations of doxorubicin: how far have we come and where do we go from here? *Nanotechnology*. 2018;29(33):332002.
2. Borovic ML, Icevic I, Kanacki Z, Zikic D, Seke M, Injac R, et al. Effects of fullerol C₆₀(OH)24 nanoparticles on a single-dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in pigs: an ultrastructural study. *Ultrastructural pathology*. 2014;38(2):150-63.
3. Injac R, Radic N, Govedarica B, Perse M, Cerar A, Djordjevic A, et al. Acute doxorubicin pulmotoxicity in rats with malignant neoplasm is effectively treated with fullerol C₆₀(OH)24 through inhibition of oxidative stress. *Pharmacological reports: PR*. 2009;61(2):335-42.
4. Injac R, Perse M, Obermajer N, Djordjevic-Milic V, Prijatelj M, Djordjevic A, et al. Potential hepatoprotective effects of fullerol C₆₀(OH)₂₄ in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas. *Biomaterials*. 2008;29(24-25):3451-60.
5. Jacevic V, Djordjevic A, Srdjenovic B, Milic-Tores V, Segrt Z, Dragojevic-Simic V, et al. Fullerol nanoparticles prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity in rats. *Experimental and Molecular Pathology*. 2017;102(2):360-9.
6. Srdjenovic B, Milic-Torres V, Grujic N, Stankov K, Djordjevic A, Vasovic V. Antioxidant properties of fullerol C₆₀(OH)24 in rat kidneys, testes, and lungs treated with doxorubicin. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2010;20(6):298-305.
7. Torres VM, Srdjenovic B, Jacevic V, Simic VD, Djordjevic A, Simplicio AL. Fullerol C₆₀(OH)24 prevents doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Pharmacological reports : PR*. 2010;62(4):707-18.
8. Jovic D, Seke M, Djordjevic A, Mrđanović J, D Aleksic L, Bogdanovic G, et al. Fullerol nanoparticles as a new delivery system for doxorubicin. *RSC Adv*. 2016; (6): 38563-38578
9. Knezevic N, Mrđanović J, Borišev I, Milenkovic S, Janackovic D, Cunin F, et al. Hydroxylated Fullerene-Capped, Vinblastine-Loaded Folic Acid-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Targeted Anticancer Therapy. *RSC Adv*. 2016; (6): 7061-7065

FULLERENOL NANOPARTICLES AND DOXORUBICIN

Branislava Srđenović^{1*}, Aleksandar Đorđević², Danica Jović²,
Ivana Borišev², Mariana Seke³, Jasmina Mrđanović⁴, Danijela Petrović⁵,
Dragan Žikić⁶, Rade Injac⁷, Zdenko Kanački⁶

¹University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy,
Novi Sad, Serbia;

²University of Novi Sad, Faculty of Science, Novi Sad, Serbia

³University of Belgrade, Institute of Nuclear Research VINCA, Belgrade, Serbia;

⁴University of Novi Sad, Oncology Institute of Vojvodina,
Sremska Kamenica, Serbia;

⁵University of Novi Sad, Faculty of Education, Sombor, Serbia;

⁶University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia

⁷Head Launches LatAm Sandoz, Florida

Development of innovative nanopharmaceuticals is a result of different strategies: surface modifications of nanomaterials aimed to improve transport across different biological barriers, improved solubility, diminished elimination pathway/velocity, targeted delivery and controlled drug-release features of a native drug, loading of a pharmacologically active substance within nanomaterial in order to preserve it on its way to the desired site of action. The main goal is to improve the therapeutic efficacy, as well as to reduce adverse side effects of the active substance. Controlled release can be achieved via sustained release and stimuli-responsive release, where stimuli can be induced either internally via changing pH value, enzymatic activity, concentrations of specific ions/molecules or externally with physical stimuli such as temperature, magnetic or electric field, ultrasound, or light [1].

Doxorubicin belongs to the anthracycline group of antibiotics and is one of the most effective cytotoxic drugs applied as a chemotherapeutic agent for numerous types of cancer. Its use is sometimes limited because of the classical dose-limiting adverse effects of this class of drugs: acute myelosuppression and cumulative dose-related cardiotoxicity. Some of the ways to reduce the doxorubicin-induced toxicity are synthesis of analogues, the use of antioxidants and iron chelators as cardioprotectors (Cardioxane®) or loading this antibiotic into nanocarriers (Doxil®) [1].

Extensive *in vivo* studies on the protective effects of fullerenol nanoparticles against DOX induced toxicity were performed in healthy rats, rats with chemically induced carcinomas and pigs [2, 3]. Histopathological and biochemical evaluation of protective effect of fullerenol on tissue oxidative injury mediated by doxorubicin confirmed protective role of fullerenol on the heart, liver and other tissues [4-7].

Fullerenol nanoparticles were used for preparation of self-assembling nanoparticles of fullerenol/doxorubicin nanocomposite. The nanocomposite, compared to the free doxorubicin at equivalent concentrations, significantly decreased the

viability of two types of cancer cells. Results of the zebrafish embryotoxicity assay showed a decreased overall toxicity, particularly cardiotoxicity and increased safety of the nanocomposite in comparison to doxorubicin alone [8].

References:

1. Borisev I, Mrdanovic J, Petrovic D, Seke M, Jovic D, Srdenovic B, et al. Nanoformulations of doxorubicin: how far have we come and where do we go from here? *Nanotechnology*. 2018;29(33):332002.
2. Borovic ML, Icevic I, Kanacki Z, Zikic D, Seke M, Injac R, et al. Effects of fullerol C₆₀(OH)24 nanoparticles on a single-dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in pigs: an ultrastructural study. *Ultrastructural pathology*. 2014;38(2):150-63.
3. Injac R, Radic N, Govedarica B, Perse M, Cerar A, Djordjevic A, et al. Acute doxorubicin pulmotoxicity in rats with malignant neoplasm is effectively treated with fullerol C₆₀(OH)24 through inhibition of oxidative stress. *Pharmacological reports: PR*. 2009;61(2):335-42.
4. Injac R, Perse M, Obermajer N, Djordjevic-Milic V, Prijatelj M, Djordjevic A, et al. Potential hepatoprotective effects of fullerol C₆₀(OH)₂₄ in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas. *Biomaterials*. 2008;29(24-25):3451-60.
5. Jacevic V, Djordjevic A, Srdjenovic B, Milic-Tores V, Segrt Z, Dragojevic-Simic V, et al. Fullerol nanoparticles prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity in rats. *Experimental and Molecular Pathology*. 2017;102(2):360-9.
6. Srdjenovic B, Milic-Torres V, Grujic N, Stankov K, Djordjevic A, Vasovic V. Antioxidant properties of fullerol C₆₀(OH)24 in rat kidneys, testes, and lungs treated with doxorubicin. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2010;20(6):298-305.
7. Torres VM, Srdjenovic B, Jacevic V, Simic VD, Djordjevic A, Simplicio AL. Fullerol C₆₀(OH)24 prevents doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Pharmacological reports : PR*. 2010;62(4):707-18.
8. Jovic D, Seke M, Djordjevic A, Mrđanović J, D Aleksic L, Bogdanovic G, et al. Fullerol nanoparticles as a new delivery system for doxorubicin. *RSC Adv*. 2016; (6): 38563-38578
9. Knezevic N, Mrđanović J, Borišev I, Milenkovic S, Janackovic D, Cunin F, et al. Hydroxylated Fullerene-Capped, Vinblastine-Loaded Folic Acid-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Targeted Anticancer Therapy. *RSC Adv*. 2016; (6): 7061-7065

IN SILICO-IN VITRO KARAKTERIZACIJA DERIVATA SUKGINIMIDA – KORAK KA SELEKCIJI KANDIDATA ZA LEK

Nataša Milošević

Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za farmaciju,
Novi Sad, Srbija

Sukcinimidi su jedinjenja sa višestrukim farmakološkim delovanjem: antikonvulzivno, antimuskarinsko, analgetsko, citostatsko, antipsihotično i antibakterijsko. Specifična farmakofora: petočlani heterociklični sistem sa azotom kao heteroatomom, najmanje jedna karbonilna grupa i lipofilni alkil ili fenil supstituent pripojen heterocikličnom prstenu (dva hidrofobna i dva regionala bogata elektronima) obezbeđuje raznovrsnu farmakološku aktivnost. Osim zadovoljavajuće biološke aktivnosti, neophodno je da jedinjenje - kandidat za lek bude bezbedan za primenu [1]. Kandidat za lek treba da poseduje i optimalna farmakokinetska svojstva koja će omogućiti da molekul sa mesta aplikacije dospe do mesta delovanja u efektivnoj koncentraciji i da kroz interakciju sa odgovarajućim receptorom ostvari farmakološko dejstvo [2]. Uticaj hemijske strukture na farmakokinetska, farmakološka i toksikološka svojstva molekula doveo je do razvoja matematičkih modela koji sa velikom tačnošću predviđaju biološka svojstva jedinjenja na osnovu hemijske strukture i kvantificuju vezu između strukture i aktivnosti (*QSAR-Quantitive Structure-Activity Relationship*), strukture i svojstava (*QSPR-Quantitive Structure-Property Relationship*), strukture i toksičnosti (*QSTR-Quantitive Structure-Toxicity Relationship*) [3]. Skoro 50% novosintetisanih kandidata za lek odbaci se zbog nezadovoljavajućih farmakokinetskih karakteristika (mala bioraspoloživost zbog slabe intestinalne apsorpcije; nepoželjna metabolička labilnost itd.), dok se oko 40% kandidata za lek odbaci zbog potencijalne toksičnosti i upitne bezbednosti [2, 3]. Istraživanja koja obuhvataju i fizičko-hemijsku i biološku karakterizaciju jedinjenja – kandidata za lek omogućavaju selekciju aktivnih jedinjenja sa najboljim karakteristikama u ranim fazama istraživanja.

Na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu u toku prethodnih deset godina sintetisano je preko 60 derivata sukcinimida. Do sada, na Katedri za farmaciju, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu za 59 novosintetisanih derivata sukcinimida urađena je eksperimentalno i primenom računarskih (*in silico*) programa: fizičko-hemijska, farmakokinetska i toksikološka karakterizacija. Ispitivana jedinjenja na osnovu eksperimentalnih i računarskih podataka poseduju i) zadovoljavajuća fizičko-hemijska svojstva koja garantuju dobru permeabilnost i umerenu rastvorljivost; ii) imaju poželjne farmakokinetske parametre i iii) poseduju nisku predviđenu toksičnost na glodarima [4-7]. Eksperimentalno određena lipofilnost svih 59 jedinjenja korelira upravo srazmerno sa predviđenim koeficijentom distribucije ($\log D$), i obrnuto srazmerno sa rastvorljivošću ($\log S$) ispitivanih jedinjenja. Na osnovu *in silico* dobijenih podataka urađena je preselekcija

molekula sa najboljim karakteristikama i na kulturama ćelija (*in vitro*) ispitana je antiproliferativna aktivnost za 17 jedinjenja. *In silico* predviđena niska toksičnost na glodarima i veoma visoke vrednosti srednje letalne doze, LD₅₀, odgovaraju podacima dobijenim *in vitro* jer ispitivana jedinjenja ne remete proliferaciju zdravih ćelija fibroblasta pluća, MRC-5. Osam od 17 jedinjenja pokazala su antirpoliferativnu aktivnost na kulturama ćelija estrogen receptor pozitivnog (ER+) adenokarcinoma dojke, MCF-7. *In silico* afinitet za estrogene receptore izražen kao logRBA (*receptor binding affinity*) korelira sa *in vitro* dobijenim podacima srednje inhibitorne koncentracije, IC₅₀ dobijenim na ER+ ćelijama adenokarcinoma dojke i veza se može opisati paraboličnom funkcijom.

Dalja ispitivanja različitih farmaceutskih formulacija odabranih sukcinimida na eksperimentalnim životinjama su neophodan korak u procesu selekcije kandidata za lek.

Reference:

1. Fhid ONR, Zeglam TH, Saad SEA, Abuskhuna SM, Alglad RM, Gamberlou HM, Masoud NB. Synthesis and pharmacological activity of N-substituted succinimide analogs. *Int J. Pharm. Tech.* Res. 2015;8:434-9.
2. Mao F, Ni W, Xu X, Wang H, Wang J, Ji M, Li J. Chemical structure-related drug-like criteria of global approved drugs. *Molecules*. 2016;21(1):75.
3. Yu W, MacKerell AD Jr. Computer-Aided Drug Design Methods. *Methods Mol. Biol.* 2017;1520:85-106.
4. Milosevic NP, Dimova VB, Perisic-Janjic NU. RP TLC data in correlation studies with *in silico* pharmacokinetic properties of benzimidazole and benztriazole derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013;49:10-7.
5. Milosevic N, Kojic V, Curcic J, Jakimov D, Milic N, Banjac N, Uscumlic G, Kaliszan R. Evaluation of *in silico* pharmacokinetic properties and *in vitro* cytotoxic activity of selected newly synthesized N-succinimide derivatives. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017;137:252-7.
6. Perisic-Janjic N, Kaliszan R, Milosevic N, Uscumlic G, Banjac N. Chromatographic retention parameters in correlation analysis with *in silico* biological descriptors of a novel series of N-phenyl-3-methyl succinimide derivatives. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013; 72:65-73.
7. Perisic Janjic N, Kaliszan R, Wiczling P, Milosevic N, Uscumlic G, Banjac N. Reversed-phase TLC and HPLC tetention data in correlation studies with *in silico* molecular descriptors and druglikness properties of newly synthesized anticonvulsant succinimide derivatives. *Mol. Pharm.* 2011;8(2):555-63.

***IN SILICO-IN VITRO* CHARACTERIZATION OF NEW SUCCINIMIDE DERIVATIVES – A STEP FORWARD TO DRUG CANDIDATE SELECTION**

Nataša Milošević

University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy,
Novi Sad, Serbia

Succinimides are compounds with various pharmacological activities: anticonvulsive, antimuscarinic, analgetic, antipsychotic and antibacterial. Specific pharmacophore: five-member heterocyclic system with nitrogen as heteroatom, at least one carbonyl group and lipophilic alkyl or phenyl substituent attached to heterocyclic ring (two hydrophobic and two electron rich regions) provides diverse pharmacological activity. Besides satisfactory biological activity, it is necessary for the compound - the drug candidate to be safe [1]. The drug candidate should also have optimal pharmacokinetic properties which will provide transport of the molecule from the application site to the site of action within effective concentration, as well as pharmacological action through interaction with the adequate receptor [2]. The influence of the chemical structure on the pharmacokinetic, pharmacological and toxicological properties of the molecule led to the development of mathematical models which predict with high accuracy the biological properties of the compound based on its chemical structure and quantify the relationship between the structure and the activity (QSAR-Quantitive Structure-Activity Relationship), structure and the properties (QSPR-Quantitive Structure-Property Relationship), structure and the toxicity (QSTR-Quantitive Structure-Toxicity Relationship) [3]. Almost 50% newly synthesized drug candidates are rejected for owing undesirable pharmacokinetic properties (low bioavailability because of the small intestinal absorption rate; undesirable metabolic lability etc.) while 40% of the drug candidates are eliminated due to potential toxicity and questionable safety [2, 3]. The studies which include physico-chemical and biological characterization of the compounds-drug candidates allow a selection of active compounds with the best properties in the early research stages.

In the past 10 years, in the Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade over 60 succinimide derivatives have been synthesized. Up-to-date, on the Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, 59 newly synthesized succinimide derivatives have been experimentally and by the application of computer-aided programs (*in silico*) characterized for: physico-chemical, pharmacokinetic and toxicological properties. The investigated compounds based on the experimental and computer aided data have: i) satisfactory physico-chemical properties which guarantee high permeability and moderate solubility; ii) desirable pharmacokinetic parameters and iii) low predicted toxicity on rodents [4-7]. Experimentally determined lipophilicity of all 59 compounds correlates positively with the predicted distribution coefficient ($\log D$), and negatively with the solubility ($\log S$) of the observed compounds. Based on the *in silico* obtained data, preselection of molecules with the most desirable properties and the antiproliferative activity was determined for 17 compounds. *In silico* expected low toxicity on rodents and very high medium lethal doses, LD_{50} correspond to the *in vitro* results since the examined

compounds do not interfere with the proliferation of healthy lung fibroblasts, MRC-5. Eight out of 17 compounds have antiproliferative activity toward estrogen receptor positive (ER+) breast adenoma carcinoma cells, MCF-7. *In silico* affinity for estrogen receptors binding expressed as logRBA (*receptor binding affinity*) is associated with the *in vitro* data of medium inhibition concentration IC₅₀ obtained on ER+ adenocarcinoma breast cancer cells and the correlation may be described with parabolic function.

Further investigation of different pharmaceutical formulations for selected succinimides on experimental animals is the required step toward the selection process for the drug candidates.

References:

1. Phid ONR, Zeglam TH, Saad SEA, Abuskhuna SM, Alglad RM, Gamberlou HM, Masoud NB. Synthesis and pharmacological activity of N-substituted succinimide analogs. *Int. J. Pharm. Tech. Res.* 2015;8:434-9.
2. Mao F, Ni W, Xu X, Wang H, Wang J, Ji M, Li J. Chemical structure-related drug-like criteria of global approved drugs. *Molecules*. 2016;21(1):75.
3. Yu W, MacKerell AD Jr. Computer-Aided Drug Design Methods. *Methods Mol. Biol.* 2017;1520:85-106.
4. Milosevic NP, Dimova VB, Perisic-Janjic NU.RP TLC data in correlation studies with in silico pharmacokinetic properties of benzimidazole and benztriazole derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013;49:10-7.
5. Milosevic N, Kojic V, Curcic J, Jakimov D, Milic N, Banjac N, Uscumlic G, Kaliszan R. Evaluation of in silico pharmacokinetic properties and in vitro cytotoxic activity of selected newly synthesized N-succinimide derivatives. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017;137:252-7.
6. Perisic-Janjic N, Kaliszan R, Milosevic N, Uscumlic G, Banjac N. Chromatographic retention parameters in correlation analysis with in silico biological descriptors of a novel series of N-phenyl-3-methyl succinimide derivatives. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013; 72:65-73.
7. Perisic Janjic N, Kaliszan R, Wiczling P, Milosevic N, Uscumlic G, Banjac N. Reversed-phase TLC and HPLC tetention data in correlation studies with in silico molecular descriptors and druglikness properties of newly synthesized anticonvulsant succinimide derivatives. *Mol. Pharm.* 2011;8(2):555-63.



Poster prezentacije
Poster presentations



SADRŽAJ – CONTENTS

Poster prezentacije / Poster presentations

P1

PREVAZILAŽENJE PROBLEMA U ORALNOJ ISPORUCI LEKOVA: OD AMORFNIH ČVRSTIH DISPERZIJA DO 3D ŠTAMPE

OVERCOMING CHALLENGES IN ORAL DRUG DELIVERY: FROM AMORPHOUS DISPERSIONS TO 3D PRINTING

- **Dorđe Medarević, Jelena Đuriš, Sandra Cvijić, Ivana Aleksić, Ljiljana Đekić, Dragana Vasiljević, Jelena Parojević, Svetlana Ibrić** S45

P2

NANO- I MIKRONOSAČI SA NANOSTRUKTUROM – *IN VITRO I IN VIVO* SUDBINA LEKOVITIH I KOZMETIČKI AKTIVNIH SUPSTANCI: UPOREDNI PREGLED ODABRANIH AKTUELNIH STUDIJA

NANOCARRIERS AND NANOSTRUCTURED MICROCARRIERS – *IN VITRO AND IN VIVO* FATE OF ACTIVE PHARMACEUTICAL AND COSMETIC INGREDIENTS: A COMPARATIVE OVERVIEW OF SELECTED ONGOING STUDIES

- **Snežana Savić, Danina Krajišnik, Bojan Čalija, Ivana Pantelić, Milica Lukić** S49

P3

ISPITIVANJE MEHANIZAMA DEJSTVA, INTERAKCIJA I TOKSIČNIH EFEKATA ADJUVANTNIH ANALGETIKA

EXAMINATION OF MECHANISMS OF ACTION, TOXICITY AND INTERACTIONS OF ADJUVANT ANALGESICS

- **Radica Stepanović-Petrović, Maja Tomić, Ana Micov, Uroš Pečikoza, Milja Vuković** S53

P4

INTERAKTIVNA ULOGA DISLIPIDEMIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I INFILAMACIJE U ATEROSKLEROZI I DRUGIM BOLESTIMA: GENETIČKI I BIOHEMIJSKI MARKERI

INTERACTIVE ROLE OF DYSLIPIDAEMIA, OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATION IN ATHEROSCLEROSIS AND OTHER DISEASES: GENETIC AND BIOCHEMICAL MARKERS

- **Jasmina Ivanišević, Miron Sopić, Vesna Spasojević-Kalimanovska** S57

P5

**SINTEZA, KVANTITATIVNI ODNOS IZMEĐU STRUKTURE I DEJSTVA,
FIZIČKO-HEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I ANALIZA FARMAKOLOŠKI
AKTIVNIH SUPSTANCI**

**SYNTHESIS, QUANTITATIVE RELATIONS BETWEEN STRUCTURE AND
EFFECT, PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION AND
ANALYSIS OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

- [Danica Agbaba](#)

[S61](#)

P6

**ISPITIVANJE LEKOVITOG POTENCIJALA BILJAKA: MORFOLOŠKA,
HEMIJSKA I FARMAKOLOŠKA KARAKTERIZACIJA**

**INVESTIGATION ON MEDICINAL POTENTIAL OF PLANTS:
MORPHOLOGICAL, CHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL
CHARACTERISATION**

- [Nada Kovačević](#)

[S63](#)

P7

**MOLEKULI SA ANTIINFLAMATORnim I KARDIOPROTEKTIVnim
DEJSTVOM – DIZAJNIRANje, SINTEZA, FIZIČKO-HEMIJSKA,
BIOFARMACEUTSKA I BIOLOŠKA ISPITIVANJA**

**MOLECULES WITH ANTI-INFLAMMATORY AND CARDIOPROTECTIVE
ACTIVITY – DESIGN, SYNTHESIS, PHYSICOCHEMICAL,
BIOPHARMACEUTICAL AND BIOLOGICAL INVESTIGATIONS**

- [Vladimir Dobričić, Bojan Marković, Jelena Savić,
Branka Ivković, Milkica Crevar Sakač, Olivera Čudina,
Sote Vladimirov, Jasmina Brborač, Zorica Vujić](#)

[S65](#)

P8

**POVEZANOST VREDNOSTI TIREOSTIMULIŠUĆEG HORMONA I
SLOBODNIH TIREOIDNIH HORMONA ODREĐENIH NA ABBOTT
ARCHITECT CI8200 INTEGRISANOM SISTEMU I ZAVISNOST OD POLA
I GODINA STAROSTI**

**RELATIONSHIP BETWEEN THYROID STIMULATING HORMONE AND
FREE THYROID HORMONE VALUES DETERMINED ON THE ABBOTT
ARCHITECT CI8200 INTEGRATED SYSTEM, AND GENDER AND AGE
DEPENDENCE**

- [Neda Milinković, Svetlana Ignjatović](#)

[S69](#)

P9

**SINTEZA I ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ESTERSKIH DERIVATA
PRIRODNIH FENOLNIH JEDINJENJA: UPOREDNA STUDIJA**

**SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESTER DERIVATIVES
OF NATURAL PHENOL COMPOUNDS: A COMPARATIVE STUDY**

- [Jelena Lazarević, Ana Kolarević, Aleksandra Đorđević,
Gordana Stojanović, Andrija Šmelcerović](#)

S73

P10

**GLP-1 ZAVISNI/NEZAVISNI EFEKTI DPP-4 INHIBITORA U
PATOBIOLOGIJI VASKULARNOG OŠTEĆENJA U PLUĆIMA**

**GLP-1 DEPENDENT/INDEPENDENT EFFECTS OF DPP-4 INHIBITORS
IN THE PATHOBIOLOGY OF LUNG VASCULAR INJURY**

- [Katarina Tomović, Gordana Kocić, Andrija Šmelcerović](#)

S77

P11

**ANTIHIPERGLIKEMIJSKI POTENCIJAL VRSTA RODA *HYPERICUM*
THE ANTIHYPERGLYCEMIC POTENTIAL OF *HYPERICUM* SPECIES**

- [Nebojša Kladar, Branislava Srđenović Čonić, Neda Gavarić,
Katarina Jeremić, Nebojša Salaj, Goran Anačkov, Biljana Božin](#)

S79

P12

**ANTIINFLAMATORNA AKTIVNOST VRSTA RODA *PLANTAGO* L.:
UTICAJ EKSTRAKATA NA EKSPRESIJU GENA ENZIMA COX-1/2**

**ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *PLANTAGO* L. SPECIES:
EXTRACTS MODULATE GENE EXPRESSION OF COX-1/2 ENZYMES**

- [Tatjana Majkić, Kristina Bekvalac, Marija Lesjak,
Goran Anačkov, Neda Mimica-Dukić, Ivana Beara](#)

S81

P13

**ŠTAVELJ (*RUMEX CRISPUS* L.) KAO POTENCIJALNI TERAPEUTIK U
BORBI PROTIV MULTIPLO REZISTENTNIH SOJEVA *ACINETOBACTER
BAUMANNII***

**CURLED DOCK (*RUMEX CRISPUS* L.) AS A POTENTIAL THERAPEUTIC
AGENT AGAINST MDR *ACINETOBACTER BAUMANNII***

- [Verica Aleksić Sabo, Emilia Svirčev, Dejan Orčić,
Jelena Narančić, Neda Mimica-Dukić, Petar Knežević](#)

S85

P14

**KOMPARATIVNA ANALIZA SADRŽAJA POLIFENOLA I VOĆNIH
KISELINA I ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI 45% I 80% PROPILEN-
GLIKOLNIH EKSTRAKATA PLODA DIVLJE JABUKE**

**COMPARATIVE ANALYSIS OF POLYPHENOLS AND FRUIT ACIDS
CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 45% AND 80%
PROPYLENE-GLYCOL EXTRACTS OF WILD APPLE FRUIT**

- [Dragana Stojiljković, Ivana Nešić, Vanja Tadić](#)

S89

P15

**ŽUČNE KISELINE KAO NOVI FARMAKOLOŠKI AGENSI U TERAPIJI
INFLAMATORNIH I MALIGNIH BOLESTI**

**BILE ACIDS AS NOVEL PHARMACOLOGICAL AGENTS IN THE
TREATMENT OF INFLAMMATORY AND MALIGNANT DISEASES**

- [Nebojša Pavlović, Karmen Stankov, Momir Mikov](#)

S93

P16

**POUZDANA HRONMATOGRAFSKA METODA ZA ANALIZU
CIPROFLOKSACINA I MOKSIFLOKSACINA U HUMANOM SERUMU**

**A RELIABLE CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR THE ANALYSIS OF
CIPROFLOXACIN AND MOXIFLOXACIN IN HUMAN SERUM**

- [Predrag Džodić, Radmila Veličković-Radovanović,
Maja Koraćević, Aleksandra Catić-Đorđević, Tatjana Cvetković](#)

S97

PREVAZILAŽENJE PROBLEMA U ORALNOJ ISPORUCI LEKOVA: OD AMORFNIH ČVRSTIH DISPERZIJA DO 3D ŠTAMPE

**Dorđe Medarević, Jelena Đuriš, Sandra Cvijić, Ivana Aleksić, Ljiljana Đekić,
Dragana Vasiljević, Jelena Parožić, Svetlana Ibrić**

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku
tehnologiju i kozmetologiju, Beograd, Srbija

Razvoj sistema za isporuku lekova koji će obezbediti bezbednu i efikasnu terapiju prilagođenu individualnim karakteristikama i potrebama pacijenta predstavlja danas imperativ za farmaceutsku industriju. Iako je oralni put primene leka najprihvatljiviji za većinu pacijenata, niska biološka raspoloživost (BR) velikog broja lekovitih supstanci ograničena njihovom niskom brzinom rastvaranja, umnogome ograničava ovakav način primene leka. Primena čvrstih disperzija u kojima je lekovita supstanca rastvorena ili dispergovana u polimernom matriksu predstavlja jedan od najefikasnijih pristupa za povećanje brzine rastvaranja i biološke raspoloživosti teško rastvorljivih lekovitih supstanci. Povećanje brzine rastvaranja lekovite supstance primenom čvrstih disperzija objašnjava se kombinacijom različitih mehanizama, kao što su nastanak amorfног oblika, poboljšano kvašenje i solubilizacija i smanjenje veličine čestica lekovite supstance. U okviru istraživanja vezanih za formulaciju čvrstih disperzija, razvijeni su sistemi sa hidrofilnim polimerima (poloksameri, Soluplus®, povidon, hipromeloza, polimetakrilati) čijom primenom je postignuto značajno povećanje brzine rastvaranja ispitivanih model supstanci [1-3]. Pored binarnih lek-polimer čvrstih disperzija, razvijani su i ternarni sistemi, koji su sadržali dva polimera ili kombinaciju polimera i adsorpcionog nosača velike specifične površine [1, 4]. Primenom superkritičnog ugljen-dioksida, koji omogućava rad pri nižim temperaturama i bez primene organskih rastvarača, dobijene su čvrste disperzije karvedilola sa hipromelozom i povidonom, sa značajnim povećanjem brzine rastvaranja karvedilola i pogodnim karakteristikama za izradu tableta [2]. Pošto je krajnji cilj primene čvrstih disperzija povećanje BR lekovitih supstanci, razvijeni su fiziološki zasnovani *in silico* modeli koji omogućavaju predviđanje apsorpcije lekovite supstance nakon oralne primene ovih sistema. Jedan od razvijenih modela pokazao je da se primenom čvrstih disperzija valsartana povećava njegova biološka raspoloživost, do vrednosti koja se postiže primenom oralnog rastvora ove supstance [3]. Primenom tehnike vlažnog mlevenja omogućeno je dobijanje nanosupenzije teško rastvorljive lekovite supstance karvedilola, koja je daljim sušenjem raspršivanjem prevedena u stabilan čvrsti oblik, pogodan za primenu i dalju formulaciju u pogodan farmaceutski oblik. Vlažno mlevenje je moguće primeniti i na supstance koje nije moguće formulisati u čvrste disperzije, a kao proizvod dobija se stabilna kristalna suspenzija, za razliku od čvrstih disperzija, koje su često amorfne prirode [5].

Nova saznanja u oblasti farmakologije, farmakogenomike i farmakokinetike dovela su do novog pristupa u terapiji, koji podrazumeva prilagođavanje doze leka individualnom pacijentu, kako bi se postigao optimalni terapijski efekat i izbegli

neželjeni efekti. Primenom tehnika 3D štampe omogućeno je dobijanje prethodno dizajniranih objekata različite veličine, oblika i strukture, što sve čini ovu tehniku pogodnom za dobijanje lekova prilagođenih individualnom pacijentu [6]. Prednosti 3D štampe, u poređenju sa konvencionalnim metodama proizvodnje lekova predstavljaju: mogućnost prilagođavanja doze i načina oslobođanja lekovite supstance, precizno doziranje, prilagođavanje izgleda farmaceutskog oblika željama pacijenata, čime se poboljšava adherenca, kao i brza izrada leka za pacijenta prema receptu lekara na mestu pružanja zdravstvene zaštite. U okviru ispitivanja mogućnosti primene 3D štampe u izradi tableta, pokazano je da je primenom stereolitografije moguće dobiti tablete koje sadrže polietilenglikol diakrilat kao polimer koji uz dodatak fotoinicijatora podleže fotopolimerizaciji i iz kojih se postiže produženo oslobođanje ibuprofena i paracetamola [7, 8]. Promenom oblika tableta i dodatkom hidrofilnih pomoćnih supstanci omogućeno je podešavanje brzine oslobođanja lekovite supstance i prevazilaženje problema sporog i nepotpunog oslobođanja lekovite supstance iz polimernog matriksa [8].

Reference:

1. Medarević DP, Kleinebudde P, Djuriš J, Djurić Z, Ibrić S. Combined application of mixture experimental design and artificial neural networks in the solid dispersion development. *Drug Dev Ind Pharm.* 2016;42(3):389-402.
2. Djuris J, Milovanovic S, Medarevic D, Dobricic V, Dapčević A, Ibric S. Selection of the suitable polymer for supercritical fluid assisted preparation of carvedilol solid dispersions. *Int J Pharm.* 2019;554:190-200.
3. Medarević D, Cvijić S, Dobričić V, Mitrić M, Djuriš J, Ibrić S. Assessing the potential of solid dispersions to improve dissolution rate and bioavailability of valsartan: In vitro-in silico approach. *Eur J Pharm Sci.* 2018;124:188-198.
4. Vojinović T, Medarević D, Vranić E, Potpara Z, Krstić M, Djuriš J, Ibrić S. Development of ternary solid dispersions with hydrophilic polymer and surface adsorbent for improving dissolution rate of carbamazepine. *Saudi Pharm J.* 2018;26(5):725-32.
5. Medarević D, Djuriš J, Ibrić S, Mitrić M, Kachrimanis K. Optimization of formulation and process parameters for the production of carvedilol nanosuspension by wet media milling. *Int J Pharm.* 2018;540(1-2):150-161.
6. Norman J, Madurawe RD, Moore CM, Khan MA, Khairuzzaman A. A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug products. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;108:39-50.
7. Madžarević M, Medarević Đ, Vulović A, Šusterić T, Đuriš J, Filipović N, Ibrić S. Optimization and prediction of ibuprofen release from 3D DLP printlets using artificial neural network, *Pharmaceutics*, under review
8. Krkobabić M, Medarević Đ, Cvijić S, Grujić B, Ibrić S, Hydrophilic excipients in digital light processing (DLP) printing of sustained release tablets: impact on internal structure and drug dissolution rate *Int J Pharm.*, under review

Zahvalnica: Projekat TR 34007 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Svetlana Ibrić

OVERCOMING CHALLENGES IN ORAL DRUG DELIVERY: FROM AMORPHOUS DISPERSIONS TO 3D PRINTING

**Dorđe Medarević, Jelena Đuriš, Sandra Cvijić, Ivana Aleksić, Ljiljana Đekić,
Dragana Vasiljević, Jelena Paročić, Svetlana Ibrić**

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical
Technology and Cosmetology, Belgrade, Serbia

Development of drug delivery systems, which should ensure safe and efficient therapy adjusted to individual patient characteristics and patients' needs, is imperative for the pharmaceutical industry today. Although the oral route of drug administration is preferable for most patients, low drug bioavailability, limited by its low dissolution rate, greatly hinders drug administration by this route. Application of solid dispersions in which a drug is dissolved or dispersed in a polymeric matrix represents one of the most effective approaches to increase the dissolution rate and bioavailability of poorly soluble drugs. The increase in drug dissolution rate from solid dispersions can be explained by a combination of various mechanisms, such as formation of an amorphous form, improved wetting and solubilization, and reduction of drug particle size. Within the research related to the formulation of solid dispersions, systems with hydrophilic polymers (poloxamers, Soluplus®, povidone, hypromellose, polymethacrylates) were developed, which significantly increased the dissolution rate of poorly soluble drugs [1-3]. In addition to binary solid dispersions, ternary systems were developed which contained two polymers, or polymer and adsorption carrier with high specific surface area [1, 4]. Use of supercritical carbon dioxide which enables processing at lower temperatures and without organic solvents, enabled preparation of carvedilol solid dispersions with hypromellose and povidone, with significantly improved carvedilol dissolution rate and suitable tabletting properties [2]. As the ultimate goal of these formulation approaches is to increase drug bioavailability, physiologically based *in silico* models have been developed to enable prediction of drug absorption after oral administration of these systems. One of such models has shown that valsartan solid dispersions increase drug bioavailability, up to the value achieved with the oral solution of this substance [3]. Using wet media milling technique, it was possible to obtain a nanosuspension of poorly soluble drug carvedilol, which, by further spray drying, was converted into a stable solid form, suitable for use and further formulation into a suitable pharmaceutical form. Wet media milling can be applied for substances that cannot be formulated as solid dispersions, and the product of this process is stable crystalline nanosuspension in contrast to solid dispersions, which are often amorphous in nature [5].

Novel discoveries in pharmacology, pharmacogenomics and pharmacokinetics led to the new approach in drug therapy that include the adjustment in drug dose to the individual patient, in order to achieve the optimal therapeutic effect and avoid side effects. With the use of 3D printing techniques, it is possible to obtain pre-designed objects of different size, shape and structure, which make this technique suitable for obtaining drug products tailored to the individual patient. The advantages of 3D

printing over conventional drug production methods include the ability to adjust drug dose and release pattern, precise dosing, adjusting of dosage form visual appearance to the patient preferences, thereby improving patient adherence, rapid preparation of the drug according to the doctor's prescription at the point of healthcare [6]. In the investigations regarding possibilities of using 3D printing for tablets preparation, it has been shown that stereolithography enabled production of tablets containing polyethylene glycol diacrylate as a polymer which undergoes photopolymerisation upon the addition of photoinitiator and from which sustained release of ibuprofen and paracetamol is achieved [7, 8]. With variations in tablet shape and addition of hydrophilic excipients, it was possible to adjusted drug release rate and to overcome the problem of slow and incomplete drug release from the polymeric matrix [8].

References:

1. Medarević DP, Kleinebudde P, Djuriš J, Djurić Z, Ibrić S. Combined application of mixture experimental design and artificial neural networks in the solid dispersion development. *Drug Dev Ind Pharm.* 2016;42(3):389-402.
2. Djuris J, Milovanovic S, Medarevic D, Dobricic V, Dapčević A, Ibric S. Selection of the suitable polymer for supercritical fluid assisted preparation of carvedilol solid dispersions. *Int J Pharm.* 2019;554:190-200.
3. Medarević D, Cvijić S, Dobričić V, Mitić M, Djuriš J, Ibrić S. Assessing the potential of solid dispersions to improve dissolution rate and bioavailability of valsartan: In vitro-in silico approach. *Eur J Pharm Sci.* 2018;124:188-198.
4. Vojinović T, Medarević D, Vranić E, Potpara Z, Krstić M, Djuriš J, Ibrić S. Development of ternary solid dispersions with hydrophilic polymer and surface adsorbent for improving dissolution rate of carbamazepine. *Saudi Pharm J.* 2018;26(5):725-32.
5. Medarević D, Djuriš J, Ibrić S, Mitić M, Kachrimanis K. Optimization of formulation and process parameters for the production of carvedilol nanosuspension by wet media milling. *Int J Pharm.* 2018;540(1-2):150-161.
6. Norman J, Madurawe RD, Moore CM, Khan MA, Khairuzzaman A. A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug products. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;108:39-50.
7. Madžarević M, Medarević Đ, Vulović A, Šusterić T, Đuriš J, Filipović N, Ibrić S. Optimization and prediction of ibuprofen release from 3D DLP printlets using artificial neural network, *Pharmaceutics, under review*
8. Krkobabić M, Medarević Đ, Cvijić S, Grujić B, Ibrić S, Hydrophilic excipients in digital light processing (DLP) printing of sustained release tablets: impact on internal structure and drug dissolution rate *Int J Pharm, under review*

Acknowledgement: Project TR34007 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Svetlana Ibrić

NANO- I MIKRONOSAČI SA NANOSTRUKTUROM – IN VITRO I IN VIVO SUDBINA LEKOVITIH I KOZMETIČKI AKTIVNIH SUPSTANCI: UPOREDNI PREGLED ODABRANIH AKTUELNIH STUDIJA

Snežana Savić, Danina Krajšnik, Bojan Čalija, Ivana Pantelić, Milica Lukić

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Beograd, Srbija

Savremeni terapijski pristupi sa jedne, a očekivanja pacijenata sa druge strane, usmeravaju formulaciona istraživanja lekova ka sve složenijim strukturama nanometarskih veličina. Nakon razvoja stabilnih formulacija tipa mikroemulzija, visoko- i niskoenergetskih nanoemulzija, mikročestica, disperzija lipidnih nanočestica i nanosuspenzija/disperzija nanokristala, inkorporirana je paleta model aktivnih supstanci (aceklofenak, adapalen, sertakonazol-nitrat, kurkumin, naproxen, diazepam, risperidon, takrolimus i dr., ali i nove, patentno-zaštićene neuroaktivne supstance/ligandi iz grupe deuterisanih pirazolohinolinona, kao kandidata za terapiju depresije, neuropsihijatrijskih oboljenja, migrene i trigeminalnog bola (patent WO2016196961, 2016) uz simultanu optimizaciju postupaka pripreme i metoda karakterizacije. Prilikom odabira eksipijenasa vodilo se računa o trendu biokompatibilnih, ali funkcionalnih materijala (npr. biosurfaktanti, biopolimeri).

Od nano- i mikronosača sa nanostrukturu očekuje se unapređena isporuka aktivnih supstanci, što se mora proceniti pogodnim in vitro i in vivo metodama. Diverzifikacija primenjenih materijala, formulacija i aktivnih supstanci, zahtevala je dodatno angažovanje po pitanju razvoja i optimizacije metoda ispitivanja, imajući u vidu činjenicu da je razvoj formulacija obuhvatio (trans)dermalni, (per)oralni i parenteralni put primene. Dodatno, osim farmaceutskih formulacija, istraživanjem je obuhvaćeno i polje kozmetičkih proizvoda. Kao važan rezultat rada na projektu proistekao je impozantan portfolio robusnih model formulacija koje, na zahtev, mogu biti dostupne i odgovoriti na različite potrebe. Od posebnog značaja je i razvoj, optimizacija i validacija većeg broja in vitro/in vivo metoda. Reč je prevashodno o metodama za pouzdaniju procenu biološke raspoloživosti farmaceutskih, odnosno efikasnosti i bezbednosti razvijenih kozmetičkih formulacija.

Kada je reč o formulacijama namenjenim za (trans)dermalnu isporuku (npr. mikroemulzije adapalena, visokoenergetske nanoemulzije aceklofenaka, niskoenergetske/spontanoemulgajuće nanoemulzije kurkumina i dr.), prepoznata je potreba za optimizacijom procene penetracije/permeacije leka u/kroz kožu. Uporednom analizom rezultata in vitro ispitivanja brzine/stepena oslobađanja kroz sintetske membrane, in vitro ispitivanja permeacije kroz kožu uha svinje i in vivo penetracije u kožu dobrovoljaca, nije zanemaren ni potencijalni folikularni put prolaska leka. Ipak, zaključeno je da se procena dermalne raspoloživosti lekova iz nosača sa nanostrukturu mora bazirati na konceptu praćenja kritičnih atributa kvaliteta.

Rad na razvoju i karakterizaciji parenteralnih formulacija podrazumevao je i niz aktivnosti koje se tiču aspekta sterilizacije razvijenih formulacija uz očuvanje fizičko-

hemiske stabilnosti. Pored *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja uz definisanje pogodnog kinetičkog modela, posebnu vrednost istraživanju dali su rezultati *in vivo* ispitivanja farmakokinetičkih parametara, farmakodinamskih pokazatela i pitanja precizne dispozicije lekovitih supstanci u tkivu, koji su za pojedine formulacije ukazali i na prođeno oslobađanje model lekova.

Razvoj i karakterizacija nanostrukturiranih formulacija stabilizovanih funkcionalnim biomaterijalima kao prospективnih nosača za lekovite ili kozmetički aktivne supstance, ukazala je na njihov relativno visok kapacitet opterećenja lekom, pružanje zaštite za nestabilne aktivne supstance, pogodnost za različite puteve primene, a u nekim slučajevima i prođeno ili pak kontrolisano oslobađanje aktivne supstance.

Tabela I Uporedni prikaz odabranih studija slučaja razvoja i *in vitro/in vivo* karakterizacije nanostrukturiranih nosača/sistema za isporuku: (trans)dermalni, (per)oralni i parenteralni put.

Tip nosača/ sistema za isporku	Model aktivna supstanca	Anticipirani put primene	In vitro metodologija karakterizacije	In vivo metodologija karakterizacije
Nanoemulzije, spontano-emulgajuće/ niskoenergetske	Kurkumin	(Trans) dermalni	Kinetika oslobađanja (vertikalne Franz-ove difuzione ćelije); Antioksidantna aktivnost (EPR spektroskopija, DPPH i FRAP testovi); Ispitivanje biološke aktivnosti na normalnim i izmenjenim ćelijskim linijama; Procena geno-toksičnosti i anti-genotoksičnosti	Dermalna raspoloživost (<i>tape stripping</i> kao dermofarmakokinetički pristup); Irritacioni potencijal (praćenjem odabranih biofizičkih parametara kože)
Nanoemulzije, spontano-emulgajuće/ niskoenergetske	Ulje semena maline; Ekstrakt ploda maline; Ekstrakt ploda francuskog hrasta	Dermalni/ kozmetička primena	Antioksidantna aktivnost (ABTS i DPPH testovi i EPR spektroskopija)	Ispitivanje efikasnosti i bezbednosti praćenjem odabranih biofizičkih parametara kože
PEG-ilovane nanoemulzije, visokoenergetske	Kurkumin	Parenteralni	Brzina oslobađanja (reverzna metoda sa dijaliznim vrećicama)	Farmakokinetička studija na pacovima, sa osrvtom na biodistribuciju/dispoziciju leka
Nanosuspenzije/ Disperzije nanokristala/tečne i liofilizovane	Patentno štićeni deuterizovani pirazolokvinolinoni (ligandi GABA _A receptora)	Parenteralni	Brzina rastvaranja (reverzna metoda sa dijaliznim vrećicama)	Farmakokinetička studija na miševima, sa osrvtom na biodistribuciju/dispoziciju leka; Bihevioralna karakterizacija (SLA test)
Nanostrukturirani lipidni nosači (NLC)	Patentno štićeni deuterizovani pirazolokvinolinoni (ligandi GABA _A receptora)	Parenteralni	Brzina oslobađanja (reverzna metoda sa dijaliznim vrećicama)	Farmakokinetička studija na miševima, sa osrvtom na biodistribuciju/dispoziciju leka; Bihevioralna karakterizacija (SLA test)

Zahvalnica: Projekat TR 34031 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Snežana Savić

NANOCARRIERS AND NANOSTRUCTURED MICROCARRIERS – *IN VITRO* AND *IN VIVO* FATE OF ACTIVE PHARMACEUTICAL AND COSMETIC INGREDIENTS: A COMPARATIVE OVERVIEW OF SELECTED ONGOING STUDIES

Snežana Savić, Danina Krajišnik, Bojan Čalija, Ivana Pantelić, Milica Lukić

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Belgrade, Serbia

Contemporary therapeutic approaches, but also high patients' expectations, direct formulation research towards nanonization, i.e. more and more complex nanometric structures. After successful development of stable microemulsions, high- and low-energy nanoemulsions, microparticles, dispersions of lipid nanoparticles and nanosuspensions/dispersions of nanocrystals, an eclectic palette of model active substances was incorporated (aceclofenac, adapalene, sertaconazole-nitrate, curcumin, naproxen, diazepam, risperidone, tacrolimus, etc., but also novel, patent-protected neuroactive substances/ligands from the group of deuterated pyrazoloquinolinones, as prospective candidates for the therapy of depression, neuropsychiatric conditions, migraines and trigeminal pain (patent WO2016196961, 2016) along with the simultaneous optimization of preparation processes and characterization methods. It is important to stress that during excipient selection, biocompatible and functional materials were used whenever possible (e.g. biosurfactants, biopolymers).

Nanocarriers and nanostructured microcarriers are expected to provide enhanced delivery of active substances, which needs to be assessed with suitable *in vitro* and *in vivo* methods. Diversity of the applied materials, developed formulation types and incorporated actives, demanded additional effort in development and optimization of appropriate evaluation methods, especially considering the fact that formulation development encompassed (trans)dermal, (per)oral and parenteral routes of application/administration. Additionally, along with pharmaceutical formulations, the research also included the field of cosmetic products. As an important project outcome, a substantial portfolio of robust model formulations was developed, which may be available on demand and fulfil various needs and purposes. The added value lies in the development, optimization and validation of a number of *in vitro/in vivo* characterization methods, offering more reliable evaluation of drug bioavailability and/or efficacy and safety of cosmetic formulations.

Formulations for (trans)dermal delivery (e.g. adapalene microemulsions, aceclofenac high-energy nanoemulsions, curcumin low-energy nanoemulsions, etc.), required tailored optimization of skin penetration/permeation assessment. Comparative analysis of the results provided by *in vitro* drug release study through synthetic membranes, *in vitro* pig ear skin permeation study and *in vivo* penetration study in the skin of human volunteers, did not neglect the potential follicular pathway. Still, it was concluded that evaluation of dermal drug availability from nanostructured carriers needs to rely on the concept of critical quality attributes (CQA).

Development and characterization of parenteral formulations also included a range of activities dealing with attaining sterility of the samples without compromising their physico-chemical stability. Apart from *in vitro* release testing followed with

release kinetics modelling, special value of the research was provided by *in vivo* studies of pharmacokinetic parameters, pharmacodynamic indicators and precise drug disposition in tissues, which indicated prolonged release of model drugs from certain formulations.

Development and characterization of nanostructured formulations stabilized with functional biomaterials as prospective carriers for drugs or cosmetic actives, revealed their relatively high drug loading capacity, protection of unstable components, convenience for several administration routes, and in some cases, prolonged or even controlled drug release.

Table I Comparative overview of selected case-studies dealing with *in vitro/in vivo* characterization of nanostructured carriers/delivery systems: (trans)dermal, (per)oral and parenteral route of application/administration

Carrier/ delivery system type	Model active substance	Anticipated route	In vitro methods	In vivo methods
Nanoemulsions, low-energy	Curcumin	(Trans)dermal	Release kinetics (vertical Franz diffusion cells); Antioxidant activity (EPR Spectroscopy, DPPH and FRAP tests); Biological activity (normal and modified cell cultures)	Dermal availability (tape stripping as a dermatopharmacokinetic approach); Irritation potential (via selected biophysical skin parameters)
Nanoemulsions, low-energy	Raspberry seed oil; Raspberry fruit extract; French Oak fruit extract	Dermal/ Cosmetic application	Antioxidant activity (EPR Spectroscopy, ABTS and DPPH tests)	Efficacy and safety assessment (via selected biophysical skin parameters)
PEGylated nanoemulsions, high-energy	Curcumin	Parenteral	Release study (reverse dialysis bag method)	Pharmacokinetic study in rats, with emphasis on drug biodistribution/disposition
Nanosuspensions /Nanocrystals dispersions/Liquid and lyophilized	Patent-protected deuterated pyrazoloquinolinones (ligands of GABA _A receptors)	Parenteral	Dissolution study (reverse dialysis bag method)	Pharmacokinetic study in mice, with emphasis on drug biodistribution/disposition; Behavioral characterization (SLA test)
Nanostructured lipid carriers (NLC)	Patent-protected deuterated pyrazoloquinolinones (ligands of GABA _A receptors)	Parenteral	Release study (reverse dialysis bag method)	Pharmacokinetic study in mice, with emphasis on drug biodistribution/disposition; Behavioral characterization (SLA test)

Acknowledgement: Project TR34031 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Snežana Savić

ISPITIVANJE MEHANIZAMA DEJSTVA, INTERAKCIJA I TOKSIČNIH EFEKATA ADJUVANTNIH ANALGETIKA

**Radica Stepanović-Petrović, Maja Tomić, Ana Micov,
Uroš Pecikoza, Milja Vuković**

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakologiju,
Beograd, Srbija

Tema istraživanja zasnovana je na činjenici da standardni analgetici (opiodni i neopiodni) pokazuju ograničenu efikasnost i/ili bezbednost u terapiji mnogih akutnih, a posebno hroničnih bolnih stanja, što značajno narušava kvalitet života obolelih i povećava troškove lečenja. Primena alternativnih/adjuvantnih analgetika, kombinacija analgetika i modifikovanih formulacija standardnih analgetika moguća su terapijska rešenja za navedene probleme. U vezi s tim, istraživanja u okviru Projekta OI 175045 imaju sledeće ciljeve:

- 1) ispitivanje efikasnosti i mehanizama dejstva alternativnih analgetika, pre svega novijih antiepileptika i antidepresiva, kao i drugih potencijalnih adjuvantnih analgetika (određenih antibiotika i antidijabetika) nakon sistemskе i lokalne periferne primene u modelima inflamatornog i/ili neuropatskog bola;
- 2) ispitivanje efekata kombinovane primene novih alternativnih analgetika (antiepileptika, antidepresiva, antibiotika i antidijabetika) i postojećih standardnih/alternativnih analgetika u različitim modelima inflamatornog i neuropatskog bola, kao i utvrđivanje vrste interakcije između njih;
- 3) ispitivanje neželjenih/toksičnih efekata novih alternativnih analgetika, kao i njihovih dvokomponentnih kombinacija sa postojećim standardnim/alternativnim analgeticima;
- 4) ispitivanje analgetičke/antiedematozne aktivnosti različitih proizvoda biljnog porekla (ekstrakata i etarskih ulja) i drugih prirodnih proizvoda (egzopolisaharida iz probiotskih bakterija) u odabranim modelima inflamatornog bola;
- 5) ispitivanje analgetičke/antiedematozne aktivnosti novih formulacija (za peroralnu i topikalnu primenu) analgetika iz grupe nesteroidnih antiinflamatornih lekova u odabranim modelima inflamatornog bola.

Metodologija navedenih istraživanja podrazumeva primenu različitih modela inflamatornog (somatski, trigeminalni i visceralni) i neuropatskog (dijabetesna i citostaticima-izazvana neuropatija) bola koji u izvesnoj meri oponašaju patofiziologiju različitih bolnih stanja u ljudskoj populaciji. Odgovarajućim nociceptivnim testom (test pritiska na šapu pacova, test izmicanja repa pod uticajem topolute, von Frey i aceton test) moguće je utvrditi da li tretman može da umanji bolnu preosetljivost

eksperimentalne životinje i ispolji analgetičku efikasnost. Mehanizmi dejstva novih alternativnih analgetika ispituju se korišćenjem farmakološkog pristupa, tj. praćenjem uticaja različitih antagonista (opiodnih, serotonergičkih, adrenergičkih, GABAergičkih, holinergičkih, adenzinskih i kanabinoidnih) receptora. Poznato je da navedeni receptori učestvuju u sistemu prenošenja i modulacije bolnih signala. Primenom analgetika i antagonista receptora različitim putevima primene (sistemske i lokalne), moguće je odrediti na kom nivou bolnog puta (centralnom i/ili perifernom) alternativni analgetici stupaju u interakciju sa odgovarajućim receptorskим sistemom i proizvode analgetički efekat.

Ostvareni rezultati bi mogli da posluže kao osnov za potencijalnu terapijsku primenu novoispitanih alternativnih analgetika u lečenju različitih inflamatornih i neuropatskih bolnih stanja kod ljudi. Nalazi o sinergizmu ili aditivnosti između različitih alternativnih i standardnih analgetika takođe mogu imati klinički značaj u terapiji inflamatornog/neuropatskog bola, jer se značajnom redukcijom doza pri kombinovanoj primeni mogu umanjiti neželjeni efekti uz postizanje optimalne analgezije, što je u skladu sa savremenim pristupom terapije bola koji zagovara kombinovanu primenu analgetika. Za farmaceutsku industriju, istraživanja koja se bave pronalaženjem novih terapijskih opcija/formulacija za lečenje bola, imaju poseban značaj.

Zahvalnica: Projekat OI 175045 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Radica Stepanović-Petrović

EXAMINATION OF MECHANISMS OF ACTION, TOXICITY AND INTERACTIONS OF ADJUVANT ANALGESICS

**Radica Stepanović-Petrović, Maja Tomić, Ana Micov,
Uroš Pecikoza, Milja Vuković**

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology,
Belgrade, Serbia

The research topic is based on fact that standard analgesics (opioid and non-opioid) exert limited efficacy and/or safety in the treatment of acute and especially chronic pain states, which significantly impair the quality of life and increase the treatment costs. Alternative/adjuvant analgesics, analgesic combinations as well as modified standard analgesic formulations could be possible therapeutic solutions. In this regard, the main objectives of the Project no. 175045 are:

- 1) to examine the efficacy and mechanisms of action of alternative analgesics, especially antiepileptic drugs and antidepressants, as well as other potential adjuvant analgesics (certain antibiotic and antidiabetic drugs) following systemic and local peripheral administration, in selected models of inflammatory and/or neuropathic pain;
- 2) to examine the efficacy of combinations of potential new alternative analgesics (antiepileptic drugs, antidepressants, antibiotic and antidiabetic drugs) and existing standard/alternative analgesics in various models of inflammatory and/or neuropathic pain and to determine the type of interaction between these drugs;
- 3) to examine the adverse/toxic effects of novel alternative analgesics, as well as their combinations with existing standard/alternative analgesics;
- 4) to examine the analgesic and/or antiedematous activity of different herbal products (extracts and essential oils), as well as the analgesic and antiedematous efficacy of other natural products (exopolysaccharides produced by probiotic bacterial strains) in selected models of inflammatory pain;
- 5) to examine the analgesic and/or antiedematous activity of new formulations (for oral and topical application) of existing analgesics, from the group of non-steroidal anti-inflammatory drugs in selected models of inflammatory pain.

The research methodology involves different inflammatory (somatic, trigeminal and visceral) and neuropathic (diabetic and chemotherapy-induced neuropathy) pain models, which to some extent mimic certain human pain pathology. Using appropriate nociceptive test (paw pressure, tail flick, von Frey and acetone tests), the ability of examined treatments to reduce the development of hyperalgesia and consequently to produce analgesic effect could be determined. The mechanisms of action of novel alternative analgesics are examined by using a pharmacological approach, i.e. by examining the influence of different receptor (opioid, serotonergic, adrenergic, GABAergic, cholinergic, adenosin and/or cannabinoid) antagonists. These receptor

systems are implicated in pain transmission and modulation. To determine the level of nociceptive pathways (central and/or peripheral) where alternative analgesics interact with receptors to reduce pain, different routes of administration for treatments and antagonists (systemic and/or local) are used.

Obtained results may serve as a basis for potential clinical use of novel alternative analgesics in the treatment of various inflammatory and neuropathic pain conditions in humans. Synergistic or additive interactions between alternative and standard analgesics may also be of clinical relevance in inflammatory/neuropathic pain management, since multifold reduction of doses of single drugs could lower incidence and/or intensity of adverse effects while achieving optimal analgesia, consistent with the current approach to pain therapy which advocates the combined use of analgesics. Investigations into novel therapeutic options/formulations for pain management are of particular value for global pharmaceutical industry.

Acknowledgement: Project OI 175045 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Radica Stepanović-Petrović

INTERAKTIVNA ULOGA DISLIPIDE MIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I INFLAMACIJE U ATEROSKLEROZI I DRUGIM BOLESTIMA: GENETIČKI I BIOHEMIJSKI MARKERI

Jasmina Ivanišević, Miron Sopić, Vesna Spasojević-Kalimanovska

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju, Beograd, Srbija

Cilj našeg projekta je ispitivanje različitih biomolekula uključenih u metabolizam lipoproteina, oksidativni-stresni status i inflamaciju u aterosklerozi i drugim bolestima. Naša istraživanja obuhvataju ispitivanja specifičnih lipidnih parametara: profila lipoproteinskih subfrakcija niske i visoke gustine, zatim određivanje markera sinteze (dezmosterol, latosterol) i apsorpcije holesterola (kampesterol, sitosterol), lecitin-holesterol aciltransferaza i holesterol-estar transferni protein. U analizu su uključeni i različiti parametri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite među kojima poseban značaj ima enzim paraoksonaza 1, ali i superoksid dizmutaza, totalni antioksidantni status, sulfhidrilne grupe. Takođe, našim istraživanjem obuhvaćeni su različiti markeri inflamacije. Pored navedenih biohemijских markera, deo projekta posvećen je analizi različitih genetičkih markera. Fokus ovih istraživanja stavljen je na analizu gena koji su uključeni u procese inflamacije, oksidativnog stresa i preuzimanja modifikovanih LDL čestica. Kako bi stekli detaljniji uvid u povezanost pojedinih genetičkih markera sa određenim biohemijskim markerima i patološkim stanjima vršena je analiza genotipa za određene SNP. U cilju ispitivanja povezanosti oksidativnog stresa sa brzinom ćelijskog starenja, razvijena je kvantitativna PCR metoda za kvantifikaciju relativne dužine telomera i određivanje aktivnosti telomeraze.

Navedeni parametri su analizirani u većem broju različitih patoloških stanja – kod pacijenata sa koronarnom srčanom bolešću, infarktom miokarda, kod pacijenata sa hroničnim bolestima bubrega, sarkoidozom i hroničnom opstruktivnom bolešću pluća, kao i kod zdravih ispitanika, trudnica, profesionalnih sportista, gojazne dece.

Ovakav pristup olakšava razjašnjavanje uloga ispitivanih biomolekula u metabolizmu lipida, oksidativnom stresu i inflamaciji. Bolje poznavanje mehanizama koji učestvuju u složenoj etiopatogenezi ispitivanih bolesti može da omogući ne samo raniju dijagnozu i praćenje toka bolesti, već i razvoj lekova koji bi mogli da se primene pre nego što dođe do irreverzibilnih promena.

Ispitivanje kliničke tačnosti lipidnih, oksidativnih i inflamatornih markera ROC-analizom omogućuje realnu procenu njihovih sposobnosti da diskriminišu između alternativnih stanja zdravlja, kao i međusobno poređenje performansi različitih markera. Konačno, pored dobrih kliničkih performansi, potrebno je da primena novih biomarkera bude i ekonomski isplativa. Na osnovu rezultata dobijenih cost-

effectiveness analizom (CEA), moguće je definisati profile biohemih i genetičkih testova koji mogu da obezbede klinički relevantne informacije uz racionalan trošak.

Integrativnim pristupom otkrili smo nove interakcije između biomarkera dislipidemije, oksidativnog stresa i inflamacije, njihovu povezanost sa tradicionalnim i faktorima sredine, kao i njihov zajednički uticaj na ekspresiju gena u mononuklearnim ćelijama periferne krvi. Rezultati naših istraživanja su dodatno rasvetlili ulogu različitih biomolekula, uključenih u metabolizam lipida i procese oksidativnog stresa i inflamacije, u kompleksnim mehanizmima koji leže u osnovi razvoja i progresije bolesti povezanih sa aterosklerozom, bubrežnih i plućnih oboljenja. Pored toga, naša istraživanja su identifikovala nove genetičke, inflamatorne i markere dislipidemije (markeri sinteze i apsorpcije holesterola, subfrakcije lipoproteina) koji mogu biti od koristiti za praćenje terapije statinima. Tokom naših istraživanja ustanovili smo i validirali panel analiza oksidativnog stresa/antioksidativne zaštite za praćenje antioksidativnih efekata nutriceutika i komponenata funkcionalne hrane.

Zahvalnica: Projekat OI 175035 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Vesna Spasojević Kalimanovska

INTERACTIVE ROLE OF DYSLIPIDAEMIA, OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATION IN ATHEROSCLEROSIS AND OTHER DISEASES: GENETIC AND BIOCHEMICAL MARKERS

Jasmina Ivanišević, Miron Sopić, Vesna Spasojević Kalimanovska

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Medical biochemistry, Belgrade, Serbia

The main goal of the project was to investigate different biomolecules involved in lipoprotein metabolism, oxidative stress status and inflammation in atherosclerosis-related and other diseases. Our research includes analysis of specific lipid parameters: low- and high-density lipoprotein subfraction profiles, determination of cholesterol markers of synthesis (desmosterol, latosterol) and absorption (campesterol, sitosterol), lecithin-cholesterol acyltransferase and cholesterol-ester transfer protein. Various parameters of oxidative stress and antioxidant protection are also included in the analysis, such as superoxide dismutase, total antioxidant status, sulphydryl groups and paraoxonase 1, which is of particular importance. Additionally, several inflammatory markers are also covered with our research. In addition to aforementioned biochemical markers, our project includes analysis of different genetic markers. Focus of this research is put on analysis of genes related to inflammation, oxidative stress and modified LDL uptake. To get deeper insight into associations of generic markers with different biochemical markers and diseases, genotypes for particular SNPs were analysed. In order to explore association of oxidative stress with cellular ageing we developed and optimized qPCR method for relative quantification of telomere length and telomerase activity.

These markers were analyzed in various pathological conditions - in patients with coronary heart disease, myocardial infarction, in patients with chronic kidney disease, sarcoidosis and chronic obstructive pulmonary disease, as well as in healthy subjects, pregnant women, and professional athletes. Our results showed that altered lipoprotein, inflammatory and oxidative-stress status were present in these conditions, which could indicate an increased risk of atherosclerosis development and / or fatal cardiovascular event.

This comprehensive approach elucidates role of explored biomolecules in lipid metabolism, oxidative stress and inflammation. Deeper insights into etiopathological mechanisms of different diseases could enable not only earlier diagnosis, disease and therapy monitoring, but also development of new drugs that would be used in prevention of irreversible disease progression.

ROC-curve analysis gives an insight into the clinical usefulness of lipid, oxidative stress and inflammatory markers and their abilities to discriminate between alternative states of health and enable comparisons of clinical performances of different markers. Finally, it is not enough for a novel biomarker to be clinically useful; it also has to be cost-effective. Therefore, economic evaluation of novel markers was also one of the goals of our investigations. The results of the cost-effectiveness analysis (CEA) could be

used as a basis for designing profiles of biochemical and genetic tests that can give sufficient and clinically relevant information at a rational cost.

Using an integrative approach, we identified novel interactions between biomarkers of dyslipidemia, oxidative stress and inflammation, their associations with traditional and environmental factors, as well as their mutual impact on gene expression in peripheral blood mononuclear cells. Results of our studies add further insight on the role of various biomolecules, involved in lipid metabolism, oxidative stress, and inflammation, within the complex mechanisms underlying development and progression of atherosclerosis related, renal, and pulmonary diseases. Furthermore, our investigations identified novel genetic, inflammatory and markers of dyslipidemia (cholesterol synthesis and absorption markers and lipoprotein subclasses) that could be used to guide statin therapy. During our investigations, we established and validated a panel of oxidative stress/antioxidative protection markers for monitoring of antioxidative effects of nutraceuticals and components of functional food.

Acknowledgement: Project OI 175035 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Vesna Spasojević-Kalimanovska.

**SINTEZA, KVANTITATIVNI ODNOS IZMEĐU STRUKTURE I
DEJSTVA, FIZIČKO-HEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I ANALIZA
FARMAKOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCI**

Danica Agbaba

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Beograd, Srbija

Projekat obuhvata razvijanje *in silico* metoda, kao što su 3D-QSAR (3D-Quantitative Structure Activity Relationship), LB-VS (Ligand Based-Virtual Screening), SB-VS (Structure Based-Virtual Screening), VD (virtual docking), *in silico* ADMET (Absorption-Distribution-Metabolism-Excretion-Toxicity) i QSPR (Quantitative Structure Property Relationship), za dizajn i selekciju novih potencijalnih lekova sa optimalnim farmakološkim, fizičko-hemijskim i farmakokinetičkim osobinama. Strukturno i farmakološki srodne grupe jedinjenja, model molekula (lead) i potencijalnih lekova su analizirane pomoću HPTLC (High Performance Thin-Layer Chromatography), HPLC (High Performance Liquid Chromatography), UHPLC (Ultra-High Performance Liquid Chromatography) i LC-MS/MS (Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry). Razvoj i optimizacija hromatografskih i drugih analitičkih sistema, *in vitro* određivanja ADMET parametara, kao i određivanje kiselo-bazne ravnoteže, rastvorljivosti, bioraspoloživosti i hidrofobnosti liganada se koriste za simulaciju i razjašnjavanje farmakokinetičkih procesa jedinjenja kao i za procenu fizičko- hemijskih i biofarmaceutskih osobina potencijalnih lekova. Razvoj i validacija svih novih hromatografskih i analitičkih metoda za ispitivanje analiziranih jedinjenja se bazira na dizajnu eksperimenta i hemometrijskim podržanim postupcima. Grupe *in silico* dizajniranih jedinjenja, koja deluju na jedno ili više ciljnih mesta dejstva, su sintetisana i ispitana *in vitro* u cilju njihove primene u terapiji karcinoma, bolesti centralnog nervnog sistema i hipertenzije.

Zahvalnica: Projekat OI 172033 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Danica Agbaba

SYNTHESIS, QUANTITATIVE RELATIONS BETWEEN STRUCTURE AND EFFECT, PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANALYSIS OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Danica Agbaba

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Belgrade, Serbia

This project, includes several design approaches, such as 3D-QSAR (3D-Quantitative Structure Activity Relationship), LB-VS (Ligand Based-Virtual Screening), SB-VS (Structure Based-Virtual Screening), VD (virtual docking), *in silico* ADMET (Absorption-Distribution-Metabolism-Excretion-Toxicity), and QSPR (Quantitative Structure Property Relationship) for the design and selection of novel drug candidates with optimal pharmacological, physicochemical and pharmacokinetic properties. Structurally and pharmacologically related data sets of the drugs, the lead compounds, and the drug candidates is investigated by HPTLC (High Performance Thin-Layer Chromatography), HPLC (High Performance Liquid Chromatography), UHPLC (Ultra-High Performance Liquid Chromatography), and LC-MS/MS (Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry). Development and optimization of chromatographic and the other analytical systems, the *in vitro* ADMET assays, as well as determination of the acid-base equilibria, solubility, permeability and hydrophobicity of the ligands is used to mimic and explain pharmacokinetic processes of the compounds and to evaluate physicochemical and biopharmaceutical properties of the drug. Development and validation of new chromatographic and analytical methods for studying the examined ligands are founded on experimental design and the other chemometric approaches. A group *in silico* designed ligands acting on a single target or on multiple targets is synthesized and *in vitro* examined for assessing their future therapeutic usage in cancer, the CNS diseases, and hypertension.

Acknowledgement: Project OI 172033 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Danica Agbaba

ISPITIVANJE LEKOVITOГ POTENCIJALA BILJAKA: MORFOLOŠKA, HEMIJSKA I FAMAKOLOŠKA KARAKTERIZACIJA

Nada Kovačević

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmakognoziju,
Beograd, Srbija

Suštinski ciljevi projekta "Ispitivanje lekovitog potencija biljaka: morfološka, hemijska i farmakološka karakterizacija" jesu istraživanje genetičke, metaboličke i morfološke raznovrsnosti, uglavnom, biljnih vrsta zastupljenih u flori Balkanskog poluostrva. Ovakva istraživanja rade se u cilju sagledavanja različitih nivoa diverziteta u prirodnim populacijama poznatih i potvrđenih lekovitih i aromatičnih biljaka, njihove biološke istorije, današnje distribucije i uvida u pretpostavljene filogenetske veze. Sličan pristup se primenjuje i za istraživanje nedovoljno proučenih i manje poznatih lekovitih biljaka u cilju potpunijeg sagledavanja opravdanosti njihove primene. Takođe, koristi se i za proučavanje retkih, endemičnih i ugroženih vrsta radi sagledavanje njihovog lekovitog potencijala, mogućnosti racionalnog i održivog korišćenja. Metodologija ovakvih istraživanja obuhvata upotrebu različitih molekularnih markera (genoma jedra i plastida), određivanje profila metabolita, farmakološki skrining i metode mikro i makromorfologije. Ispitivanje omogućava otkrivanje polimorfizma i regulatornih mehanizama adaptacije u prirodnim populacijama i sagledavanje povezanosti ovih fenomena sa produkcijom određenih sekundarnih metabolita i intenzitetom farmakološke aktivnosti. Sagledavanje diverziteta ima i praktični značaj u stvaranju osnove za selekciju usmerenu ka biljkama željenih karakteristika, ali i za preuzimanje mera monitoringa i zaštite samoniklih populacija. Hemijska i farmakološka istraživanja mogu dovesti do definisanja aktivnosti, povezanosti hemijska struktura/aktivnost i potencijalnog predloga terapijske primene. To može biti osnov za razvoj tehnologije proizvodnje farmaceutski aktivnih supstanci, novih bioloških materijala i lekova za primenu u prevenciji i terapiji određenih stanja i oboljenja, a na osnovu svega ovog predstavlja jedan segment i mogućnost za strateški razvoj Srbije.

Zahvalnica: Projekat OI 173021 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Nada Kovačević

INVESTIGATION ON MEDICINAL POTENTIAL OF PLANTS: MORPHOLOGICAL, CHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL CHARACTERISATION

Nada Kovačević

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,
Belgrade, Serbia

The main objectives of the project "Investigation on medicinal potential of plants: morphological, chemical and pharmacological characterization" are the research of genetic, metabolic and morphological diversity, mainly of plant species represented in the flora of the Balkan Peninsula. Such research is performed in order to examine different levels of diversity in natural populations of known and confirmed medicinal and aromatic plants, their biological history, today's distribution and insights into presumed phylogenetic connections. In addition, a similar approach would apply to the study of under-studied and less well-known herbs in order to fully understand and justify their application. It also can be applied to the study of rare, endemic and endangered species in order to examine their medicinal potential and possibilities for rational and sustainable use. The methodology of this research involves the use of different molecular markers (nuclear and plastid genome), determination of the metabolites profile, pharmacological screening and methods of micro and macro-morphology. This kind of research can bring the data about polymorphism and about regulatory adaptation mechanisms in natural populations and give the possibilities for consideration of the connection of these phenomena with the production of certain secondary metabolites and the intensity of pharmacological activity. Considering diversity also has practical significance in creating the basis for selection directed towards the plants of the desired characteristics, but also for taking measures of monitoring and protection of the wild growing populations. Chemical and pharmacological research can lead to the definition of activity, the connection between the chemical structure/activity and the potential proposal for therapeutic application. This can be the basis for the development of the technology for the production of pharmaceutically active substances, new biological materials and drugs for the application in the prevention and treatment of certain conditions and diseases, and based on this, represents a segment of the possibilities for strategic development of Serbia.

Acknowledgement: Project OI 173021 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Nada Kovačević

MOLEKULI SA ANTIINFLAMATORNIM I KARDIOPROTEKTIVNIM DEJSTVOM – DIZAINIRANIE, SINTEZA, FIZIČKO-HEMIJSKA, BIOFARMACEUTSKA I BIOLOŠKA ISPITIVANJA

Vladimir Dobričić, Bojan Marković, Jelena Savić, Branka Ivković,
Milkica Crevar Sakač, Olivera Čudina, Sote Vladimirov,
Jasmina Brborač, Zorica Vujić

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku
hemiju, Beograd, Srbija

Sintetisana su 23 soft i 25 prodrug glukokortikoida. Lipofilnost soft glukokortikoida je ispitana primenom tradicionalne *shake-flask* metode i hromatografskih tehnika (RP-TLC i RP-HPLC), a permeabilnost i retencija u koži obe grupe jedinjenja su procenjeni primenom PAMPA testa. Izvršene su *Quantitative Structure Permeability Relationships* (QSPR) i *Quantitative Structure Retention Relationships* (QSRR) analize, izdvojeni su najvažniji deskriptori koji utiču na lipofilnost, permeabilnost i retenciju u koži i izvršen je dizajn novih soft glukokortikoida. Ispitana je lokalna antiinflamatorna aktivnost obe grupe jedinjenja primenom testa inhibicije edema izazvanog krotonskim uljem na uhu pacova i izdvojeni su derivati sa najboljom aktivnošću. Izvršene su *Quantitative Structure - Activity Relationships* (QSAR) analiza i analiza vezivanja za glukokortikoidini receptor primenom molekulskog docking-a, na osnovu čega su dizajnirani novi soft glukokortikoidi od kojih se očekuje bolja biološka aktivnost. Izvršeno je ispitivanje procesa solvolize prodrug glukokortikoida, kao modela aktivacije ovih jedinjenja, na seriji derivata fluocinolonacetonida. Napravljen je i model za procenu lokalne antiinflamatorne aktivnosti u zavisnosti od konstante brzine solvolize.

Nova jedinjenja iz grupe β-hidroksi-β-arylalkanskih kiselina su sintetisana modifikovanom Reformatski reakcijom i ispitana je njihova antiinflamatorna aktivnost. U docking studijama je ispitana uticaj različitih supsttuenata na inhibiciju enzima COX-1, kao i na selektivnost prema COX-2 izoformi. *In vitro* procena gastrointestinalne apsorpcije je izvršena primenom PAMPA testa i biopartitione micelarne hromatografije. Izvršene su QSPR i QSRR analize i formirani su odgovarajući modeli, na osnovu kojih su dizajnirana jedinjenja koja bi trebalo da imaju veću gastrointestinalnu apsorpciju od sintetisanih. Antiinflamatorna aktivnost kiselina je utvrđena *in vivo* testom edema šape pacova. Određeni su biohemski parametri oksidativnog stresa (MDA, GSH, TAS, TOS) i parametri funkcije jetre (ALP, AST, ALT). Inhibicija COX enzima (IC₅₀), kao i selektivnost prema inhibiciji izoforme COX-2 za odabrana jedinjenja su ispitani *in vitro* na komercijalnom COX kitu.

Sintetisano je šest halkonskih intermedijera kao prekursora za sintezu šest novih aminoalkoksi derivata fenilpropofenona i flavanona. Vazorelaksantna aktivnost

propafenona i novosintetisanih derivata ispitana je na izolovanoj aorti pacova sa i bez endotela. Svih šest sintetisanih derivata, uključujući i propafenon, pokazali su dozno-zavisni vazorelaksantni efekat za koji je eksperimentalno potvrđeno da nije endotel-zavisan. Primenom akonitinskog testa, u *in vivo* eksperimentima na pacovima u dubokoj anesteziji, ispitivan je antiaritmski potencijal halogenovanih derivata propafenona. Proaritmogeni efekat, koji je kod propafenona dozno-zavisan, registrovan je samo kod 5OF derivata. Antiproliferativna aktivnost derivata propafenona i halkona ispitana je MTT testom na šest humanih malignih ćelijskih linija (HeLa, Fem-X, LS174, K562, PC3 i MCF-7). Ispitivana jedinjenja iz grupe halkona, kao i sintetisani derivati propafenona, pokazuju antiproliferativnu aktivnost na svih šest malignih ćelijskih linija. QSAR analizom napravljeni su modeli koji omogućuju dizajn novih jedinjenja sa boljom aktivnošću.

Ispitan je uticaj vodeno-etanolnog ekstrakta lista artičoke (*Tinctura Cynarae*) na metabolizam atorvastatina i opravdanost istovremene primene atorvastatina i navedenog biljnog ekstrakta. Korišćene su komercijalne biljne kapi na bazi artičoke u kojima je kvantifikovan sadržaj cinarina i hlorogenske kiseline primenom HPLC metode. Praćene su promene koncentracije metabolita atorvastatina u uzorcima plazme eksperimentalnih životinja koje su bile na aterogenoj ishrani i koje su primale atorvastatin kao monoterapiju ili zajedno sa ekstraktom lista artičoke. Praćenje efekta relativno male doze atorvastatina na osnovne biohemiske i lipidne parametre, parametre oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite je pokazalo neophodnost duže terapije statinima. Ekstrakt lista artičoke je ispoljio značajan antioksidativni efekat, čime su potvrđeni rezultati drugih autora. Rezultati dobijeni u uzorcima pacova koji su primali kombinovanu terapiju atorvastatinom i ekstraktom lista artičoke pokazuju manji antioksidativni efekat u odnosu na efekat biljnog ekstrakta. Sadržaj atorvastatina i njegovih metabolita u plazmi pacova koji su primali atorvastatin (kao monoterapiju ili u kombinaciji sa ekstraktom lista artičoke) ukazuje da biljni ekstrakt ubrzava metabolizam atorvastatina i pomera ravnotežu između kiselinskog i laktorskog oblika ka neaktivnom laktonu.

Zahvalnica: Projekat OI 172041 finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije – rukovodilac prof. dr Zorica Vujić

MOLECULES WITH ANTI-INFLAMMATORY AND CARDIOPROTECTIVE ACTIVITY – DESIGN, SYNTHESIS, PHYSICOCHEMICAL, BIOPHARMACEUTICAL AND BIOLOGICAL INVESTIGATIONS

**Vladimir Dobričić, Bojan Marković, Jelena Savić, Branka Ivković,
Milkica Crevar Sakač, Olivera Čudina, Sote Vladimirov,
Jasmina Brborač, Zorica Vujić**

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry

Twenty-three soft and twenty-five prodrug glucocorticoids were synthesized. Lipophilicity of soft glucocorticoids was investigated using traditional *shake-flask* method and chromatography techniques (RP-TLC and RP-HPLC), while skin permeability and retention of both groups of compounds were evaluated using PAMPA test. Quantitative Structure Permeability Relationships (QSPR) and Quantitative Structure Retention Relationships (QSRR) analyses were performed, descriptors with the highest influence on lipophilicity, skin permeability and retention were underlined and new soft glucocorticoids were designed. Local anti-inflammatory activity of both groups of compounds was evaluated using croton oil induced ear edema inhibition test and derivatives with the best activity were underlined. Quantitative Structure - Activity Relationships (QSAR) analysis and molecular docking analysis of binding to glucocorticoid receptor were performed and used for the design of new soft glucocorticoids with better biological activity. Solvolysis, as a mean of activation of prodrug glucocorticoids, was investigated for fluocinolonacetonide derivatives. A model for the prediction of local anti-inflammatory activity on the basis of solvolysis rate constant was created.

New compounds belonging to the group of β -hydroxy- β -arylalkanoic acids were synthetized using modified Reformatsky reaction and their anti-inflammatory activity was examined. The impact of different substituents on COX-1 inhibition, as well as on selectivity towards COX-2 was examined using docking studies. Gastrointestinal absorption was assessed using PAMPA test and biopartitioning micellar chromatography. QSPR and QSRR analyses were performed, corresponding models were created and used for the design of new compounds with higher expected gastrointestinal absorption. Anti-inflammatory activity of synthetized compounds was determined *in vivo* using rat paw edema test. Biochemical parameters of oxidative stress (MDA, GSH, TAS, TOS) and liver function (ALP, AST, ALT) were determined. Inhibition of COX enzyme (IC₅₀) and selectivity towards inhibition of COX-2 isoform for selected compounds were determined on commercial COX kit.

Six chalcone intermediates as precursors for synthesis of six new aminoalcoxy phenylpropiophenone and flavanone derivatives. Vasorelaxant potency of propafenone and novel derivatives was investigated on isolated rat aorta (with and without endothelium). All synthesized derivatives and propafenone showed dose-dependent,

endothelium-independent vasorelaxant effect. The antiarrhythmic effect of propafenone halogenated derivatives were investigated on rats in deep anesthesia using test with aconitine. Proarrhythmogenic dose-dependent effect of propafenone was registered only with 5OF derivative. Antiproliferative activity of propafenone derivatives and halkones was tested on six human cancer cell lines (HeLa, Fem-X, LS174, K562, PC3 and MCF-7). Tested compounds belonging to the chalcone group, as well as synthesized propafenone derivatives showed antiproliferative activity in all six cancer cell lines. Using QSAR analysis, models enabling design of new compounds with better activity were created.

Effect of aqueous-ethanolic extract of artichoke (*Tinctura Cynarae*) on the metabolism of atorvastatin and justification of co-administration of atorvastatin and herbal extract mentioned above were investigated. Experiments were conducted using commercial artichoke preparation and the contents of chlorogenic acid and cynarin were quantified by means of the HPLC method. Changes in the concentrations of atorvastatin metabolites in the plasma samples of experimental animals fed with atherogenic diet and treated with atorvastatin (alone or in combination with artichoke leaf extract) were monitored. Monitoring the effect of relatively small doses of atorvastatin on basic biochemical and lipid parameters, the parameters of oxidative stress and antioxidant protection proved the necessity of longer treatment with statins. Artichoke leaf extract has demonstrated significant antioxidative effects, which were confirmed by the results of other authors. Results obtained from the samples of rats treated with the combination of atorvastatin and artichoke extract showed lower antioxidative effects in comparison with the samples obtained from animals treated with the herbal extract alone. The content of atorvastatin and its metabolites in the plasma of rats treated with atorvastatin (alone or in combination with artichoke leaf extract) indicated that the herbal extract accelerates atorvastatin metabolism and favors the formation of the inactive lactone in comparison to the active acid form.

Acknowledgement: Project OI 172041 is funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia – Project coordinator Prof. Dr Zorica Vujić

POVEZANOST VREDNOSTI TIREOSTIMULIŠUĆEG HORMONA I SLOBODNIH TIREOIDNIH HORMONA ODREĐENIH NA ABBOTT ARCHITECT Ci8200 INTEGRISANOM SISTEMU I ZAVISNOST OD POLA I GODINA STAROSTI

Neda Milinković¹, Svetlana Ignjatović^{1,2}

¹Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra medicinsku biohemiju,
Beograd, Srbija

²Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Osnovne alatke koje se koriste u proceni dijagnoze, praćenju efikasnosti terapije i prognozi oboljenja tireoidne žlezde su laboratorijski testovi određivanja parametara tireoidnog statusa, što zahteva kvalitetan laboratorijski servis. Poboljšanje specifičnosti i osjetljivosti biohemijских tireoidnih testova u prethodnih nekoliko decenija je značajno uticalo na kliničke strategije u detekciji i tretmanu tireoidnih oboljenja. Najznačajniji tiroidni test koji se inicijalno određuje je tireostimulišući hormon (TSH). Mada se dodatno rutinski određuju koncentracije ukupnih tireoidnih hormona, oko 95% je vezano za tireoid vezujuće proteine. Svega 5% "slobodnih" tireoidnih hormona (slobodni tiroksin, ft4 i slobodni trijodtironin, ft3) je metabolički aktivno u cirkulaciji. S obzirom da su klinički znaci i simptomi u slučaju povećanja ili deficijencije tireoidnih hormona nejasni i nespecifični, pri interpretaciji rezultata tireoidnih testova neophodno je razumevanje normalnog odnosa između nivoa TSH i ft4. Mada većina preanalitičkih faktora ne utiče na određivanje TSH u serumu, preanalitičke varijable i interferirajuće supstance koje se nalaze u uzorku mogu da utiču na vezivanje tireoidnih hormona za proteine i time smanje dijagnostičku tačnost određivanja slobodnih i ukupnih tireoidnih hormona. Varijable kao što su godine, pol, rasa, godišnje doba, faza menstrualnog ciklusa, pušenje, vežbanje, uzimanje uzorka na tašte ili staza u toku flebotomije imaju minimalne uticaje na referentne intervale tireoidnih testova kod ambulantnih pacijenata. S obzirom da su razlike u ovim fiziološkim varijablama manje od razlika koje postoje od metode do metode, smatra se da nemaju značaja u kliničkoj praksi.

Cilj ove studije bio je retrospektivno analiziranje vrednosti TSH, ft4 i ft3 određenih na Abbot Architect Ci8200 integrisanom sistemu (Abbott Diagnostics, USA), kao i analiziranje povezanosti TSH, ft4 i ft3 u odnosu na pol i godine starosti.

U radu su analizirani rezultati određivanja TSH, ft4 i ft3, koji se čuvaju u laboratorijskom informacionom sistemu (LIS, LabOnline Middleware, Omnilab, Milano, Italija) centralne laboratorije Poliklinike, Centra za medicinsku biohemiju, Kliničkog Centra Srbije, Beograd. Laboratorija je akreditovana prema ISO standardu 15189 i ISO standardu 17025 i ima sertifikat ISO 9001:2000. Period sakupljanja je bio od 01.07.2008. do 01.11.2011. godine. Ukupan broj pacijenata koji su uključeni u studiju bio je 66842 pacijenta. U studiji su uzete u obzir vrednosti pacijenata koji su stariji od 18 godina i koji nisu imali povišene vrednosti antitela na tireoidnu peroksidazu i tireoglobulin (granične vrednosti su bile 50 IU/mL i 100 IU/mL, redom). Obradene su samo vrednosti parametara koje su prvi put određivane kod pacijenata i analizirana populacija nije sadržala vrednosti trudnica. Samo uzorci kod kojih su analizirana sva tri parametra (TSH, ft4 i ft3) statistički su obrađeni (odbačeno je 56651 uzorak uglavnom zbog nedostatka vrednosti ft3

i fT4) (N=10191). Koncentracije TSH, fT4 i fT3 određene su upotrebom imunoesej tehnologije koja koristi hemiluminiscentne mikropartikule (CMIA). Raspodela podataka, značajnost korelacije ispitivanih tireoidnih parametara i uticaj pola i starosti bio je ispitivan upotrebom statističkih softvera MedCalc® Ver. 16.4.3 (MedCalc software, Mariakerke, Belgium) i SPSS for Windows 21.0 (Chicago, IL, USA).

Raspodela podataka za TSH u celokupnoj ispitivanoj populaciji i u odnosu na pol, pokazivala je skretanje u levo, sa dužim desnim krakom, tj. bila je log-normalna, dok su raspodele podataka za fT4, fT3 i fT3/fT4 nakon transformacije bile približne Gauss-ovoj raspodeli. U celokupnoj populaciji, kao i nakon podele prema polu pacijenata, dobijene su statistički značajne korelacije vrednosti TSH, fT4 i fT3/fT4 ($P<0,05$). Nije dobijena korelacija između vrednosti TSH i fT3. Kod pacijenata starijih od 60 godina uočava se statistički značajan porast vrednosti TSH, dok se vrednosti fT4, fT3 i fT3/fT4 ne menjaju značajno sa starenjem (Tabela I). Statistički značajna pozitivna korelacija dobijena je između vrednosti TSH i fT3/fT4 ($P<0,01$), a negativna korelacija između vrednosti TSH i fT4 ($P<0,01$), kod osoba mlađih od 30 i starijih od 70 godina života.

Tabela I Vrednosti analiziranih tireoidnih parametara u različitim dekadama života (I <30, II 31–40, III 41–50, IV 51–60, V 61–70, VI >70) nakon podele prema polu pacijenata

Dekade života i pol pacijenata		Analizirani tireoidni parametri			
		TSH, mIU/L	fT4, pmol/L	fT3, pmol/L	fT3/fT4 indeks
Žene	I (N = 865)	1,79±1,489	14,3±2,41	4,41±0,731	0,32±0,067
	II (N = 1540)	1,69±1,315	14,4±2,51	4,36±0,737	0,31±0,068
	III (N = 1596)	1,80±1,179	14,4±2,36	4,56±0,659	0,32±0,064
	IV (N = 1662)	1,70±1,287	14,2±2,41	4,43±0,731	0,32±0,068
	V (N = 1017)	2,04±1,982	14,1±2,37	4,46±0,732	0,32±0,068
	VI (N = 761)	2,07±1,691	14,1±2,35	4,44±0,710	0,32±0,066
Muškarci	I (N = 315)	1,74±1,390	14,4±2,61	4,41±0,778	0,31±0,069
	II (N = 453)	1,66±1,337	14,5±2,58	4,37±0,804	0,31±0,069
	III (N = 523)	1,78±1,077	14,2±2,39	4,54±0,648	0,33±0,063
	IV (N = 618)	1,67±1,219	14,2±2,44	4,43±0,680	0,32±0,667
	V (N = 485)	2,06±2,059	14,1±2,47	4,45±0,747	0,32±0,069
	VI (N = 356)	1,98±1,585	14,3±2,44	4,39±0,697	0,32±0,066

Odnos TSH i tireoidnih hormona, je relativno kompleksan, i u literaturi ne postoji apsolutno slaganje o tome da li je taj odnos linearan ili logaritamski. Takođe, različiti zaključci ispitivanja su posledica različitih metoda kojima se mere tireoidni parametri i različitih matematičkih modela i statističkih procedura kojima se ispituju podaci. Na osnovu rezultata ove studije može da se zaključi da poređenje TSH i slobodnih tireoidnih hormona treba posmatrati uzimajući u obzir efekat faktora, kao što su pol i starost pacijenata, koji imaju značajnog uticaja na kompleksan odnos ispitivanih tireoidnih parametara.

Zahvalnica: Ova studija je finansijski podržana sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Projekat broj 175036).

RELATIONSHIP BETWEEN THYROID STIMULATING HORMONE AND FREE THYROID HORMONE VALUES DETERMINED ON THE ABBOTT ARCHITECT CI8200 INTEGRATED SYSTEM, AND GENDER AND AGE DEPENDENCE

Neda Milinković¹, Svetlana Ignjatović^{1,2}

¹University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Medical Biochemistry, Belgrade, Serbia

²Center for Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

Basic tools used in the evaluation of diagnosis, monitoring of therapy effectiveness and prognosis of thyroid disease are laboratory tests for the determination of thyroid status parameters, which requires quality laboratory service. Improvements in the specificity and sensitivity of biochemical thyroid tests in the past few decades have significantly influenced clinical strategies in the detection and treatment of thyroid diseases. The most significant thyroid test to be initially determined is thyroid stimulating hormone (TSH). Although concentrations of total thyroid hormones are additionally routinely determined, about 95% are bound to thyroid binding proteins. Only 5% of "free" thyroid hormones (free thyroxine, fT4 and free triiodothyronine, fT3) are metabolically active in circulation. Given that the clinical signs and symptoms of thyroid hormone elevation or deficiency are unclear and non-specific, an understanding of the normal relationship between TSH and fT4 levels is required when interpreting thyroid test results. Although most preanalytical factors do not affect the determination of serum TSH, preanalytical variables and interfering substances contained in the sample can influence the binding of thyroid hormones to proteins and thus reduce the diagnostic accuracy of the determination of free and total thyroid hormones. Variables such as age, gender, race, season, menstrual cycle, smoking, exercise, fasting, or stasis during phlebotomy have minimal effects on the reference intervals of thyroid tests in outpatients. Given that the differences in these physiological variables are smaller than the differences that exist from method to method, they are considered to be irrelevant in clinical practice.

The aim of this study was to retrospectively analyze the TSH, fT4, and fT3 values determined on the Abbot Architect Ci8200 Integrated System (Abbott Diagnostics, USA), as well as to analyze the association of TSH, fT4, and fT3 with respect to gender and age.

This study analyzes the results of the TSH, fT4 and fT3 stored in the laboratory information system (LIS, LabOnline Middleware, Omnilab, Milan, Italy) of the Central Laboratory, Center for Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia, Belgrade. The laboratory is accredited to ISO standard 15189 and ISO standard 17025 and is certified ISO 9001:2000. The collection period was from 01. July 2008. to 11. January 2011. The total number of patients included in the study was 66842. The study considered the values of patients over 18 years of age who did not have elevated antibodies to thyroid peroxidase and thyroglobulin (limit values were 50 IU/mL and 100 IU/mL, respectively). Only values that were first determined in patients were analyzed and values for pregnant women were excluded. Only the samples where all three parameters (TSH, fT4 and fT3) were analyzed were statistically processed (56651 samples were rejected mainly due to lack of fT3 and fT4 values) ($N = 10191$). The concentrations of TSH, fT4 and fT3 were determined using chemiluminescent microparticles immunoassay (CMIA). Data distribution, significance of the correlation of the thyroid parameters studied, and the influence

of gender and age were examined using the statistical software MedCalc® Ver. 16.4.3 (MedCalc software, Mariakerke, Belgium) and SPSS for Windows 21.0 (Chicago, IL, USA).

The distribution of data for TSH in the whole study population and in relation to gender, showed a leftward turn, with a longer right arm, ie. was log-normal, while the data distributions for fT4, fT3, and fT3/fT4 after transformation were approximate to the Gaussian distribution. Statistically significant correlations of TSH, fT4 and fT3/fT4 ($P<0.05$) were obtained in the whole population, as well as after the division based on gender. No correlation was found between TSH and fT3 values. A statistically significant increase in TSH was observed in patients over 60 years of age, while fT4, fT3, and fT3/fT4 did not change significantly with aging (Table I). A statistically significant positive correlation was obtained between TSH and fT3/fT4 ($P<0.01$), and a negative correlation between TSH and fT4 ($P<0.01$), in individuals younger than 30 and older than 70 years of age.

Table I Values of the analyzed thyroid parameters in different decades of life (I <30, II 31–40, III 41–50, IV 51–60, V 61–70, VI> 70) after the division based on gender

Decades of life and gender of patients		Thyroid parameters analyzed			
		TSH, mIU/L	fT4, pmol/L	fT3, pmol/L	fT3/fT4 index
Women	I (N = 865)	1,79±1,489	14,3±2,41	4,41±0,731	0,32±0,067
	II (N = 1540)	1,69±1,315	14,4±2,51	4,36±0,737	0,31±0,068
	III (N = 1596)	1,80±1,179	14,4±2,36	4,56±0,659	0,32±0,064
	IV (N = 1662)	1,70±1,287	14,2±2,41	4,43±0,731	0,32±0,068
	V (N = 1017)	2,04±1,982	14,1±2,37	4,46±0,732	0,32±0,068
	VI (N = 761)	2,07±1,691	14,1±2,35	4,44±0,710	0,32±0,066
Men	I (N = 315)	1,74±1,390	14,4±2,61	4,41±0,778	0,31±0,069
	II (N = 453)	1,66±1,337	14,5±2,58	4,37±0,804	0,31±0,069
	III (N = 523)	1,78±1,077	14,2±2,39	4,54±0,648	0,33±0,063
	IV (N = 618)	1,67±1,219	14,2±2,44	4,43±0,680	0,32±0,667
	V (N = 485)	2,06±2,059	14,1±2,47	4,45±0,747	0,32±0,069
	VI (N = 356)	1,98±1,585	14,3±2,44	4,39±0,697	0,32±0,066

The relationship between TSH and thyroid hormones is relatively complex, and there is no absolute agreement in the literature on whether this relationship is linear or logarithmic. Also, different conclusions are the result of different methods that measure thyroid parameters and different mathematical models and statistical procedures that test the data. Based on the results of this study, it can be concluded that a comparison of TSH and free thyroid hormones should be considered taking into account the effect of factors such as gender and age of patients, which have a significant influence on the complex relationship of the thyroid parameters studied.

Acknowledgement: This study was financially supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project no. 175036).

SINTEZA I ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ESTERSKIH DERIVATA PRIRODNIH FENOLNIH JEDINJENJA: UPOREDNA STUDIJA

Jelena Lazarević¹, Ana Kolarević², Aleksandra Đorđević³,
Gordana Stojanović³, Andrija Šmelcerović^{1,2}

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra hemije, Niš, Srbija

²Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra farmacije, Niš, Srbija

³Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, Niš,
Srbija

Prirodni proizvodi, naročito biljni derivati, predstavljaju odličan izvor novih bioaktivnih jedinjenja. Hemiska modifikacija za posledicu može imati poboljšanje biološke aktivnosti u odnosu na polazno jedinjenje. Fenoli koji se javljaju u prirodi su biološki aktivna jedinjenja, sa istaknutom ulogom u biljkama cvetnicama u borbi protiv štetočina, i sa dugom tradicijom primene u očuvanju hrane i upotrebi u tradicionalnoj medicini [1].

Imajući u vidu farmakološku aktivnost prirodnih fenolnih jedinjenja timola i eugenola, i preliminarne rezultate bioaktivnosti njihovih poznatih, do sada sintetisanih derivata, usmerili smo naše istraživanje na jednostavnu modifikaciju fenolne funkcionalnosti, i dobili seriju od 39 estara koje smo ispitivali u testu *in vitro* antimikrobne aktivnosti.

Sva jedinjenja sintetisana su u skladu sa standardnom metodologijom [2-4] i prečišćena hromatografijom na koloni. Strukture sintetisanih jedinjenja potvrđene su ¹H-NMR eksperimentom u CDCl₃ (rastvor obogaćen izotopom, 99,95%) na 25 °C na aparatu Bruker AVANCE 500 (500.13 MHz za ¹H, 125.76 MHz za ¹³C).

In vitro antimikrobna aktivnost sintetisanih jedinjenja testirana je laboratorijski kontrolisanim sojevima American Type Culture Collection Maryland, USA. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) estara određena je na osnovu mikrodilucione metode [3-6]. Analizirani uzorci su bili manje efikasni od antibiotika/antimikotika koji se koriste kao referentni standard, a kada je postojala, aktivnost nikada nije bila veća od vrednosti dobijene za polazno fenolno jedinjenje (eugenol i timol).

Izvršena je sinteza, hromatografsko prečišćavanje, strukturalna karakterizacija i *in vitro* antimikrobno testiranje biblioteke od 39 estara. Važan doprinos našeg istraživanja su sinteza 14 novih jedinjenja (četiri derivata eugenola i deset timola) i rezultati dobijeni ispitivanjem antimikrobne aktivnosti. Većina dobijenih rezultata predstavlja prve ikada dobijene rezultate biološke analize. Ispitivanjem antimikrobne aktivnosti smo utvrdili da su niži predstavnici sintetisane homologe serije estara, po antimikrobnom delovanju uporedivi sa eugenolom i timolom, te da se i oni mogu smatrati nosiocima aktivnosti.

Reference:

1. T. Koeduka, E. Fridman, D. R. Gang, D. G. Vassão, B. L. Jackson, C. M. Kish, I. Orlova, S. M. Spassova, N. G. Lewis, J. P. Noel, T. J. Baiga, N. Dudareva, E. Pichersky, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006, **103**, 10128–10133.
2. J. Paolini, A. Muselli, A. F. Bernardini, A. Bighelli, J. Casanova, J. Costa, *Flavour Fragr. J.* 2007, **22**, 479–487.
3. J. Lazarević, A. Kolarević, A. Đorđević, G. Stojanović, A. Šmelcerović, P. Ciuffreda, E. Santaniello, *Acta Chim. Slov.* 2017, **64**, 603–612.
4. J. Lazarević, A. Kolarević, G. Stojanović, A. Šmelcerović, P. Ciuffreda, E. Santaniello, *Acta Chim. Slov.* 2018, **65**, 801–810.
5. NCCLS, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eleventh Informational Supplement, M100-S11. 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
6. S. A. Sarker, L. Nahar, Y. Kumarasamy, *Methods* 2007, **42**, 321–324.

Zahvalnica: Na finansijskoj podršci, autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (projekti 451-03-821/2012-14 i 172044) i Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu (interni projekat broj 4).

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESTER DERIVATIVES OF NATURAL PHENOL COMPOUNDS: A COMPARATIVE STUDY

**Jelena Lazarević¹, Ana Kolarević², Aleksandra Đorđević³,
Gordana Stojanović³, Andrija Šmelcerović^{1,2}**

¹University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Chemistry, Niš, Serbia;

²University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Niš, Serbia;

³University of Niš, Faculty of Science and Mathematics, Department of Chemistry, Niš, Serbia

Natural products, especially plant derived ones, represent an excellent source of new bioactive compounds. Chemical modification of these compounds has often reported to result in enhancement of biological activities when compared to parent compounds. Naturally occurring phenols are potent compounds, with important role in flowering plants and conspicuous biological activity against various pests and are having long tradition in food preserving or as medicinal agents [1].

Keeping in view diverse pharmacological activities of thymol and eugenol and preliminary results on bioactivity of their known by now derivatives we have aimed our study to a single modification of a phenolic functionality and have obtained a series of 39 esters subjected further to *in vitro* antimicrobial testing.

All compounds were synthesized according to the standard methodology [2-4] and purified by column chromatography. The structures were confirmed by the ¹H-NMR experiment recorded in CDCl₃ (isotopic enrichment 99.95%) solutions at 25 °C using a Bruker AVANCE 500 instrument (500.13 MHz for ¹H, 125.76 MHz for ¹³C) using 5 mm inverse detection broadband probes and deuterium lock.

The *in vitro* antimicrobial activity was tested against a panel of laboratory control strains belonging to the American Type Culture Collection Maryland, USA. The minimal inhibitory concentration (MIC) was determined based on a broth microdilution method in 96-well microtitre plates [3-6]. The assayed samples were less effective than antibiotic/antimycotic used as referent standard, and if present, the activity was never greater than the values obtained for the parent compounds.

We have performed synthesis, chromatographic purification, structural characterization and *in vitro* antimicrobial testing of small library of 39 esters. The important contribution of our study is the synthesis of 14 new compounds: four eugenol and ten thymol derivatives, followed by results obtained in an antimicrobial assay. Most of the results represent the first ever obtained results in antimicrobial bioassay.

We have found that lower representatives of the synthesized ester homologous are antimicrobials comparable to eugenol or to thymol, and can be considered too as activity key holders.

References:

1. T. Koedula, E. Fridman, D. R. Gang, D. G. Vassão, B. L. Jackson, C. M. Kish, I. Orlova, S. M. Spassova, N. G. Lewis, J. P. Noel, T. J. Baiga, N. Dudareva, E. Pichersky, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006, **103**, 10128–10133.
2. J. Paolini, A. Muselli, A. F. Bernardini, A. Bighelli, J. Casanova, J. Costa, *Flavour Fragr. J.* 2007, **22**, 479–487.
3. J. Lazarević, A. Kolarević, A. Đorđević, G. Stojanović, A. Šmelcerović, P. Ciuffreda, E. Santaniello, *Acta Chim. Slov.* 2017, **64**, 603–612.
4. J. Lazarević, A. Kolarević, G. Stojanović, A. Šmelcerović, P. Ciuffreda, E. Santaniello, *Acta Chim. Slov.* 2018, **65**, 801–810.
5. NCCLS, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eleventh Informational Supplement, M100-S11. 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
6. S. A. Sarker, L. Nahar, Y. Kumarasamy, *Methods* 2007, **42**, 321–324.

Acknowledgement: The authors acknowledge the Ministry of Science and Technological Development of Serbia for financial support (project 451-03-821/2012-14 and 172044) as well as internal project of Faculty of Medicine, University of Niš (project no. 4).

GLP-1 ZAVISNI/NEZAVISNI EFEKTI DPP-4 INHIBITORA U PATOBIOLOGIJI VASKULARNOG OŠTEĆENJA U PLUĆIMA

Katarina Tomović¹, Gordana Kocić², Andrija Šmelcerović³

¹ Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Farmacije, Niš, Srbija

² Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Biohemija, Niš, Srbija

³ Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Hemija, Niš, Srbija

Disfunkcija mnoštva signalnih puteva uzrokuje strukturna i funkcionalna vaskularna oštećenja u plućima, uključujući potenciranje proliferacije endotelnih i glatko-mišićnih ćelija, infiltraciju ćelija imunološkog sistema i remodelovanje ekstracelularnog matriksa. Perzistentno oštećenje i inflamacija vode pro-fibrogenim procesima. Dipeptidil peptidaza-4 (DPP-4) je serin proteaza konstitutivno eksprimirana na aktiviranim limfocitima i u parenhimu pluća, sa širokim opsegom bioloških funkcija. DPP-4 učestvuje u aktivaciji pro-inflamatornih i pro-oksidativnih puteva, stimuliše proliferaciju glatko-mišićnih ćelija i fibroblasta u plućima. Ova proteaza je i marker migrirajućih fibroblasta. Inhibicija DPP-4 pokazuje povoljne efekte u reverzibilnim i ireverzibilnim fazama vaskularne disfunkcije u plućima [1]. Glukagonu sličan peptid-1 (GLP-1) je značajan medijator vaskularnih protektivnih efekata DPP-4 inhibitora u plućima, uključujući povoljan uticaj na endotelnu disfunkciju, inflamaciju, endotelno-mezenhimsku tranziciju, vazodilataciju posredovanu azot oksidom, supresiju produkcije reaktivnih kiseoničnih vrsta i proliferacije glatko-mišićnih ćelija. Pored GLP-1, supstrat DPP-4 značajan u patobiologiji vaskularnog oštećenja u plućima je i vazooaktivni intestinalni peptid, sa anti-oksidativnim i anti-inflamatornim aktivnostima. Inhibicijom DPP-4 bivaju potencirani i hemotaktični efekti signalnog puta faktor-1 stromalnih ćelija/CXC hemokin receptor 4, što doprinosi obnavljanju vaskularnog integriteta i poboljšanju nakon ishemija/reperfuzija oštećenja u plućima [2]. Višestruki aspekti povoljnog uticaja inhibicije DPP-4 na vaskularno oštećenje u plućima obuhvataju direktne i indirektne efekte ove proteaze posredovane supstratima, GLP-1 ili drugim.

Reference:

1. Anderluh M, Kocic G, Tomovic K, Kocic H, Smelcerovic A. DPP-4 inhibition: A novel therapeutic approach to the treatment of pulmonary hypertension? Pharmacol. Therapeut; 2019; 201:1-7.
2. Beckers PA, Gielis JF, Van Schil PE, Adriaensen D. Lung ischemia reperfusion injury: the therapeutic role of dipeptidyl peptidase 4 inhibition. Ann. Transl. Med. 2017; 5(6): 129(1-7).

GLP-1 DEPENDENT/INDEPENDENT EFFECTS OF DPP-4 INHIBITORS IN THE PATHOBIOLOGY OF LUNG VASCULAR INJURY

Katarina Tomović,¹ Gordana Kocić,² Andrija Šmelcerović³

¹University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Niš, Serbia

²University of Niš, Faculty of Medicine, Institute of Biochemistry, Niš, Serbia

³University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Chemistry, Niš, Serbia

Dysfunction in a multitude overlapping signalling pathways promotes alterations of pulmonary vascular structure and function, in terms of potentiated proliferation of endothelial and smooth muscle cells, infiltration of immune cells and extracellular matrix remodelling. Persistent injury and inflammatory response lead to pro-fibrogenic processes. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) is a serine protease, constitutively expressed on activated lymphocytes and in pulmonary parenchyma, with a wide range of biological functions. DPP-4 appears to activate pro-inflammatory and pro-oxidative pathways, stimulate the proliferation of lung smooth muscle cells and fibroblasts. It is a marker of migrating fibroblasts. Inhibition of DPP-4 improves the reversible and irreversible phases of vascular dysfunction in the lungs [1]. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is important downstream mediator of vascular protective effects of DPP-4 inhibitors in the lungs, which may be attributed to attenuated endothelial dysfunction, pro-inflammatory response and endothelial to mesenchymal transition, to nitric oxide mediated vasodilation, suppression of the production of reactive oxygen species and proliferation of smooth muscle cells. Besides GLP-1, substrate of DPP-4 significant in the pathobiology of lung vascular injury is also vasoactive intestinal peptide with free-radical scavenging and anti-inflammatory actions. Additionally, targeting the stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine receptor 4 axis through DPP-4 inhibition enhances the chemoattractive response contributing to the reparation of vascular integrity and recovery from lung ischaemia-reperfusion injury [2]. Multifaceted aspects of DPP-4 inhibition leading to improvement of lung vascular injury involve direct actions of this protease and indirect ones mediated by its substrates, GLP-1 or some others.

References:

1. Anderluh M, Kocic G, Tomovic K, Kocic H, Smelcerovic A. DPP-4 inhibition: A novel therapeutic approach to the treatment of pulmonary hypertension? *Pharmacol. Therapeut*; 2019; 201:1-7.
2. Beckers PA, Gielis JF, Van Schil PE, Adriaensen D. Lung ischemia reperfusion injury: the therapeutic role of dipeptidyl peptidase 4 inhibition. *Ann. Transl. Med.* 2017; 5(6): 129(1-7).

ANTIHIPERGLIKEMIJSKI POTENCIJAL VRSTA RODA *HYPERICUM*

Nebojša Kladar^{1,2}, Branislava Srđenović Čonić^{1,2}, Neda Gavarić^{1,2},
Katarina Jeremić¹, Nebojša Salaj¹, Goran Anačkov³, Biljana Božin^{1,2}

¹Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Zavod za farmaciju,
Novi Sad, Srbija;

²Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Centar za medicinska i
farmaceutska istraživanja i kontrolu kvaliteta, Novi Sad, Srbija

³Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za
biologiju i ekologiju, Novi Sad, Srbija

Uzimajući u obzir porast incidence dijabetesa tip 2 na svetskom nivou, od izuzetne važnosti je potraga za novim agensima koji pokazuju sposobnost da utiču na postprandijalnu hiperglikemiju.

Različiti proizvodi prirodnog porekla, koji sadrže fenole i flavonoide kao sekundarne metabolite, pokazali su određenu sposobnost inhibicije α -amilaze i α -glukozidaze, tj. enzima uključenih u prve korake razgradnje ugljenih hidrata u ljudskom oragnizmu. Stoga, cilj ovog istraživanja bilo je *in vitro* ispitivanje antiamilaznog i antiglukozidaznog potencijala vodeno-alkoholnih ekstrakata različitih vrsta roda *Hypericum*. Konkretno, tokom perioda 2011-2016. godine na teritoriji centralnog dela Balkanskog poluostrva prikupljeno je ukupno 117 uzoraka, predstavnika 29 različitih taksona roda *Hypericum*. Sposobnost inhibicije odabranih enzima od strane vodeno-alkoholnih ekstrakta je ispitana spektrofotometrijski uz primenu „starch azure®” i p-nitrofenil- α -D-glukozida kao supstrata za α -amilazu i α -glukozidazu. Akarboza je upotrebljena kao pozitivna kontrola u oba test-sistema. Dobijeni rezultati su pokazali da ispitani ekstrakti pokazuju manju sposobnost inhibicije α -amilaze u odnosu na α -glukozidazu. Tačnije, više od 80% ispitanih ekstrakta je pokazalo veću sposobnost inhibicije α -glukozidaze u odnosu na akarbozu, dok su se kao naročiti inhibitori ovog enzima pokazali ekstrakti *H. androsaemum*, *H. calycinum*, *H. umbellatum* i *H. triquetrifolium* ($IC_{50} \leq 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$).

Zahvalnica: Istraživanje je sprovedeno u okviru Projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (OI 172058) „Biološki aktivni prirodni proizvodi kao potencijalni izvori novih lekova i dijetetskih suplemenata”.

THE ANTIHYPERGLYCEMIC POTENTIAL OF *HYPERICUM* SPECIES

**Nebojša Kladar^{1,2}, Branislava Srđenović Čonić^{1,2}, Neda Gavarić^{1,2},
Katarina Jeremić¹, Nebojša Salaj¹, Goran Anačkov³, Biljana Božin^{1,2}**

¹University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy,
Novi Sad, Serbia;

²University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Center for Medical and
Pharmaceutical Investigations and Quality Control, Novi Sad, Serbia;

³University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology,
Novi Sad, Serbia

Considering the rising incidence of diabetes type 2 on global level, of paramount importance is screening for agents which have the ability to affect the postprandial hyperglycemia. Different products of natural origin, containing phenolics and flavonoids as secondary metabolites, have showed certain potential to inhibit α -amylase and α -glucosidase, enzymes included in the first steps of carbohydrates digestion in human body. Therefore, the aim of this study was to evaluate *in vitro* anti-amylase and anti-glucosidase potential of water-alcoholic extracts of different *Hypericum* species. Specifically, during the period 2011-2016, total of 117 samples representing 29 *Hypericum* taxa were collected at the territory of central part of Balkan Peninsula. The potential of prepared extracts to inhibit selected enzymes was evaluated spectrophotometrically by use of Starch azure® and p-nitrophenyl- α -D-glucoside as substrates for α -amylase and α -glucosidase, respectively. Also, acarbose was used as positive control in both assays. The obtained results showed that the tested *Hypericum* extracts were generally stronger inhibitors of α -glucosidase than α -amylase. Specifically, more than 80% of the examined extracts showed greater inhibitory potential of α -glucosidase than acarbose, while the most promising effect was recorded in extracts prepared from *H. androsaemum*, *H. calycinum*, *H. umbellatum* i *H. triquetrifolium* ($IC_{50} \leq 10 \mu\text{g/mL}$).

Acknowledgements: Project of the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia (Grant No 172058) „The biologically active natural products as potential sources of new medicines and dietary supplements“ supported this research.

ANTIINFLAMATORNA AKTIVNOST VRSTA RODA *PLANTAGO* L.: UTICAJ EKSTRAKATA NA EKSPRESIJU GENA ENZIMA COX-1/2

Tatjana Majkić¹, Kristina Bekvalac¹, Marija Lesjak¹,
Goran Anačkov², Neda Mimica-Dukić¹, Ivana Beara¹

¹ Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, Srbija

² Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Novi Sad, Srbija

Vrste roda *Plantago* L. (bokvice) su u tradicionalnoj medicini poznate po svom antiinflamatornom, antimikrobnom, ekspektorantnom, diuretičkom, adstringentnom i demulcentnom delovanju [1]. Mnoga naučna istraživanja svedoče o njihovom biološkom potencijalu, a posebno o izuzetnoj antiinflamatornoj aktivnosti [2, 3]. Imajući u vidu da je hronična upala uključena u patogenezu niza bolesti, kao što su na primer ateroskleroza, alergije, kancer, dijabetes, neurodegenerativne i autoimune bolesti, intenzivno se traga za novim antiinflamatornim lekovima [4]. Jedan od pristupa je razvijanje novih nesteroidnih antiinflamatornih lekova, a koji mogu da utiču na metabolizam arahidonske kiseline i produkciju potentnih medijatora inflamacije - eikosanoida. Grupa ovih lekova, kojoj pripada na primer i aspirin, inhibira ciklooksigenazu (COX), prvi enzim ciklooksigenaznog puta metabolizma arahidonske kiseline. Postoje dve izoforme COX enzima: COX-1, konstitutivno ekspresovan i odgovoran za proizvodnju prostanoidea u homeostazi, i inducibilni COX-2, koji je jedan od ključnih proinflamatornih enzima [5].

Cilj ove studije bilo je ispitivanje uticaja metanolnih ekstrakata vrsta *P. major* L., *P. media* L. i *P. altissima* L. na ekspresiju gena enzima COX-1/2. Nakon tretmana humanih U937 monocita metanolnim ekstraktima navedenih vrsta, inflamacija je indukovana dodatkom bakterijskog lipopolisaharida (LPS), a ekspresija gena je određena primenom kvantitativne lančane reakcije polimeraze (qPCR). Pored toga, u cilju detaljne analize polifenolnog profila ekstrakata, izvršena je kvantitativifikacija 47 polifenola primenom LC-MS/MS tehnike [6].

Ispitivani ekstrakti nisu imali statistički značajan efekat na ekspresiju COX-1 enzima, ali su svi ekstrakti inhibirali ekspresiju COX-2: *P. major* za 12%, *P. media* za 44% i *P. altissima* za 88%. Zanimljivo je da su slabo istražene vrste, *P. media* i *P. altissima*, imale bolju aktivnost od dobro poznate vrste *P. major*. Karakterizacija polifenolnog profila pokazala je da je ursolina kiselina dominantno jedinjenje u ekstraktima *P. major* i *P. media*, dok *P. altissima* ima najveći sadržaj hlorogenske kiseline. Među flavonoidima i njihovim glikozidima, luteolin-7-O-glukozid bio je najzastupljeniji u svim ekstraktima.

Dobijeni rezultati predstavljaju nove i vredne podatke o mehanizmu antinflamatornog delovanja i polifenolnom profilu vrsta roda *Plantago*, posebno nedovoljno istraženih *P. media* i *P. altissima*. Takođe, navedeni rezultati podržavaju dalja istraživanja hemijskog sastava i bioloških aktivnosti u cilju utvrđivanja potencijalne upotrebe ovih vrsta u farmaceutskoj industriji.

Reference:

1. Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of ethnopharmacology*. 71: 1-21.
2. Beara, I. N., Orčić, D. Z., Lesjak, M. M., Mimica-Dukić, N. M., Peković, B. A., Popović, M. R. (2010). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry study of anti-inflammatory activity of Plantain (*Plantago* L.) species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 52: 701-706.
3. Türel, I., Özbek, H., Erten, R., Öner, A. C., Cengiz, N., Yilmaz, O. (2009). Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. *Indian journal of pharmacology*. 41:120.
4. Pahwa, R., Jialal, I. (2018). Chronic inflammation. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
5. Rouzer, C. A., Marnett, L. J. (2009). Cyclooxygenases: structural and functional insights. *Journal of lipid research*. 50(Supplement): S29-S34.
6. Orčić, D., Francišković, M., Bekvalac, K., Svirčev, E., Beara, I., Lesjak, M., Mimica-Dukić, N. (2014). Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food chemistry*. 143: 48-53.

Zahvalnica: rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS (OI 172058).

ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *PLANTAGO* L. SPECIES: EXTRACTS MODULATE GENE EXPRESSION OF COX-1/2 ENZYMES

**Tatjana Majkić¹, Kristina Bekvalac¹, Marija Lesjak¹,
Goran Anačkov², Neda Mimica-Dukić¹, Ivana Beara¹**

¹University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Chemistry,
Biochemistry and Environmental Protection, Novi Sad, Serbia

²University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology,
Novi Sad, Serbia

Plantago L. species are very popular in traditional medicine due to their anti-inflammatory, antimicrobial, expectorant, diuretic, astringent and demulcent effect [1]. Many scientific studies testify about their biological potential, particularly notable anti-inflammatory activity [2, 3]. Having in mind that chronic inflammation is involved in the pathogenesis of many diseases, such as atherosclerosis, allergy, cancer, diabetes, neurodegenerative and autoimmune diseases, there is strong need to develop new anti-inflammatory drugs [4]. One of the approaches is development of new nonsteroidal anti-inflammatory drugs, which could modulate metabolism of the arachidonic acid and production of potent mediators of inflammation - eicosanoids. A group of these drugs, including, for example, aspirin, inhibits cyclooxygenase (COX), a first enzyme in cyclooxygenase pathway of arachidonic acid metabolism. There are two isoforms of COX enzymes: COX-1, constitutively expressed and responsible for prostanoids production in homeostasis, and inducible COX-2 which is one of key enzymes in inflammation [5].

The aim of this study was to examine the effect of methanolic extracts of *P. major* L., *P. media* L. and *P. altissima* L. on gene expression of COX-1/2 enzymes. In human U937 monocytes inflammation was induced by LPS after pretreatment with methanolic extracts of *Plantago* species and gene expression was measured by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Moreover, in order to thoroughly examine polyphenolic profile of extracts, quantitative analysis of 47 polyphenolics was performed using the LC-MS/MS technique [6].

Examined extracts did not have a statistically significant effect on COX-1 expression, but all extracts downregulated COX-2 expression: *P. major* by 12%, *P. media* by 44% and *P. altissima* by 88%. It is interesting that poorly investigated species, *P. media* and *P. altissima*, had better activity than well known *P. major*. Polyphenolic profile characterization showed that ursolic acid was a dominant compound in *P. major* and *P. media* extracts, while *P. altissima* had the highest content of chlorogenic acid. Among flavonoids and their glycosides, luteolin-7-O-glucoside was the most abundant in all extracts.

Obtained results present novel and valuable data on the mechanism of anti-inflammatory activity and polyphenolic profile of *Plantago* species, particularly *P.*

media and *P. altissima*. Moreover, the presented results support further investigation of chemical composition and biological activities in order to determine the potential use of these species in the pharmaceutical industry.

References:

1. Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of ethnopharmacology*. 71: 1-21.
2. Beara, I. N., Orčić, D. Z., Lesjak, M. M., Mimica-Dukić, N. M., Peković, B. A., Popović, M. R. (2010). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry study of anti-inflammatory activity of Plantain (*Plantago* L.) species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 52: 701-706.
3. Türel, I., Özbeş, H., Erten, R., Öner, A. C., Cengiz, N., Yilmaz, O. (2009). Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. *Indian journal of pharmacology*. 41:120.
4. Pahwa, R., Jialal, I. (2018). Chronic inflammation. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
5. Rouzer, C. A., Marnett, L. J. (2009). Cyclooxygenases: structural and functional insights. *Journal of lipid research*. 50(Supplement): S29-S34.
6. Orčić, D., Francišković, M., Bekvalac, K., Svirčev, E., Beara, I., Lesjak, M., Mimica-Dukić, N. (2014). Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food chemistry*. 143: 48-53.

Acknowledgement: This study was supported by The Ministry of Education, Sciences and Technological Development of the Republic of Serbia (OI 172058).

**ŠTAVELJ (*RUMEX CRISPUS L.*) KAO POTENCIJALNI TERAPEUTIK U
BORBI PROTIV MULTIPLO REZISTENTNIH SOJEVA
*ACINETOBACTER BAUMANNII***

**Verica Aleksić Sabo¹, Emilija Svirčev², Dejan Orčić²,
Jelena Narančić¹, Neda Mimica-Dukić², Petar Knežević¹**

¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Novi Sad, Srbija

²Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, Srbija

Acinetobacter baumannii je patogena bakterija rezistentna na konvencionalne antimikrobne lekove. Infekcije ovom bakterijom često se javljaju u bolnicama u toku hospitalizacije pacijenata. Biljke i biljni ekstrakti predstavljaju značajan resurs potencijalnih antibiotskih supstanci na koje bakterije nisu razvile rezistentnost. Štavelj (*Rumex crispus L.*) je biljka koja se tradicionalno koristila kao melem za zarastanje rana, u tretmanu opeketotina, čireva i apsesa [1]. U našim prethodnim istraživanjima sirovi ekskakti herbe ove biljke ispoljio je značajnu inhibitornu aktivnost na rast bakterije *A. baumannii* [2]. Cilj ovog rada bio je identifikacija aktivnih komponenata u ekskaktu *R.crispum*, primenom kombinovane HPTLC-bioautografije i LC-DAD-MS tehnike.

Ekstrakti su pripremljeni maceracijom osušenog biljnog materijala herbe u 80% etanolu (10 ml po 1 g droge), a potom prečišćeni petroletom (tečno-tečna ekstrakcija).

Ekskakt (10 µL, 100 mg/mL) je razdvojen na sloju silikagela (HPTLC ploče, silika obogaćen fluorescentnim indikatorom F254), razvijen u sistemu (v/v) etilacetat:toluen:mravlja kiselina:voda (80:10:5:5), a potom su osušene ploče prskane smešom reagensa (NR + PEG 400) uz detekciju promene boje zona na 365 nm [3].

Anti-mikrobna aktivnost frakcija ekstrakata je ispitana potapanjem razvijene HPTLC ploče u medijum [4] sa zasejanim multiplo rezistentnim *Acinetobacter baumannii* sojem [5].

Hemijska analiza odabranih frakcija ekstrakata urađena je na hromatografu Agilent Technologies 1200 Series sa DAD detektorom, kuplovanim sa Agilent Technologies 6410A Triple-Quad tandemskim masenim detektorom sa elektrosprej jonskim izvorom (ESI); detaljan opis metode u [6].

Razdvajanjem etanolnog ekstrakta *R. crispus* na tankom sloju silikagela (HPTLC) dobijeno je osam jasno odvojenih zona, F1-F8. Samo frakcije F6 i F8, nisu ispoljile antibakterijsku aktivnost. Analizom hemijskog sastava biološki aktivnih frakcija, utvrđeno je da su prisutni derivati kvercetina: kvercetin-3-O-glukuronid (F2), kvercetin-3-O-glukozid (izokvercitrin) (F2 i F3), kvercetin-3-O-ramnozide (kvercitrin)

(u zoni F3 i F4), kvercetin-3-O-galaktozid (hiperozid) (F2 i F3); zatim kemferol-3-O-glukozid (zone F3 i F4), emodin-8-O-glukozid (F4 i F5), emodin-8-O-malonil-heksozid, eriodiktiol-heksozide (F4), eriodiktiol-ramnozid i galoil-katehin (F5). U F7 prisutan je aglikon eriodiktiol, u smeši sa drugim aglikonima: kvercetinom, luteolinom, kemferolom i emodinom.

U ovom istraživanju HPTLC-bioautografija se pokazala kao efikasna metoda za skrining kompleksne smeše jedinjenja (kakav je biljni ekstrakt) u potrazi za aktivnim prirodnim antimikrobnim agensima. Primenjena na eksprakte vrste *R. crispus*, metoda je potvrdila značajnu antibakterijsku aktivnost ove vrste – naročito frakcije F7, sa prisutnim eriodiktiolom – i time opravdala tradicionalnu primenu ove biljke. Dobijeni rezultati ukazuju na potrebu za daljim *in vitro* i *in vivo* istraživanjima vrste *Rumex crispus*, kao dragocenog izvora antibakterijskih jedinjenja, posebno u borbi protiv MDR *A. baumannii* sojeva.

Reference:

1. Vasas, A., Orbán-Gyapai, O., Hohmann, J. (2015). *Journal of Ethnopharmacology*; 175, 198–228
2. Aleksić, V (2016). Disertacija, Univerzitet u Novom Sadu
3. Wagner, M., Bladt, S. (1996). Plant Drug Analysis, A Thin Layer Analysis Atlas, sec. edition, Springer-Verlag, Berlin, Germany
4. Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R., Dua, T. (2015). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5(2), 75–84.
5. Aleksic, V, Mimica-Dukic, N, Simin N, Nedeljkovic, NS, Knezevic, P (2014). *Phytomedicine*, 21(12), 1666-1674.
6. Svirčev, E (2014). Disertacija. Univerzitet u Novom Sadu

Zahvalnica: Istraživanje je finansirano iz fonda Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije, projekat br. 172058

CURLED DOCK (*RUMEX CRISPUS* L.) AS A POTENTIAL THERAPEUTIC AGENT AGAINST MDR *ACINETOBACTER BAUMANNII*

Verica Aleksić Sabo¹, Emilia Svirčev², Dejan Orčić²,
Jelena Narančić¹, Neda Mimica-Dukić², Petar Knežević¹

¹University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology,
Novi Sad, Serbia

²University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Chemistry,
Biochemistry and Environmental protection, Novi Sad, Serbia

Acinetobacter baumannii is a pathogen that frequently infects wounds thus being of great danger due to its pan-drug/multi-drug resistance to conventional antimicrobials. For that reason, researchers are encouraged to look for new antimicrobial agents, especially in plant materials for the richness of bioactive compounds. In our study, we used extracts of *Rumex crispus* L. plant, which has been traditionally used for healing wounds, burns, sores, ulcers and abscesses [1]. Our previous study showed that crude extract of *R. crispus* exhibited a significant antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii* [2] so our further aim was to identify most active compounds, using combined HPTLC - agar-overlay bioautography assay and LC-DAD/MS techniques.

Extracts were prepared by maceration of dried herb with 80% ethanol (10ml per 1g of drug), and then washed with petrol ether (liquid-liquid extraction) to remove lipids and pigments.

Extracts (10 µL, 100 mg/mL) were separated on aluminium HPTLC plates, silica gel coated with fluorescent indicator F254, using eluent system (v/v): ethyl acetate: toluene: formic acid: water (80:10:5:5), and chromogenic agent: NR + PEG 400 + UV 365 nm [3].

For the detection of anti-microbial compounds agar-overlay, bioautography method [4] was used against multi-drug resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* outpatient and clinical wound isolates, previously characterized [5].

For chemical analysis of active fractions, LC/DAD/MS separation and detection was performed (Agilent Technologies, 1200 Series HPLC with DAD, coupled with Agilent Technologies 6410A Triple Quad tandem mass spectrometer with electrospray ion source); method described in [6]

R. crispus herb extract, separated on HPTLC plates, gave eight different zones, F1-F8. Among detected fractions only two, F6 and F8, were inactive against *A. baumannii*. In the active fractions, the major compounds were quercetin derivatives: quercetin-3-O-glucuronide (F2), quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin) (F2 and F3), quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin) (zone F3 and F4) and quercetin-3-O-galactoside (hyperoside) (F2 and F3). Other polyphenol glycosides detected, were: kaempferol-3-O-glucoside (zone F3 and F4), emodin-8-O-glucoside (F4 and F5), emodin-8-O-malonyl-hexoside, eriodictyol-hexoside (F4), eriodictyol-rhamnoside and galloyl-catechin (F5).

In F7, significant amount of eriodictyol aglycone was detected, in the mixture with quercetin, luteolin, kaempferol and emodin aglycones.

The HPTLC separation followed by agar-overlay bioautography assay proved to be a highly efficient way to screen complex mixtures (i.e. plant extracts) in search for active antimicrobial natural compounds. Applied on *R. crispus* herb extract, this methodology confirmed a significant antibacterial activity of this plant, especially of the fraction F7 and eriodictyol compound, thus confirming its traditional application. Our study greatly supports needs for further *in vitro* and *in vivo* studies of *R. crispus*, as a valuable source of antibacterial compounds, especially against MDR *A. baumannii*.

References:

1. Vasas, A., Orbán-Gyapai, O., Hohmann, J. (2015). *Journal of Ethnopharmacology*; 175, 198–228
2. Aleksić, V (2016). Disertacija, Univerzitet u Novom Sadu
3. Wagner, M., Bladt, S. (1996). Plant Drug Analysis, A Thin Layer Analysis Atlas, sec. edition, Springer-Verlag, Berlin, Germany
4. Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R., Dua, T. (2015). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5(2), 75–84.
5. Aleksic, V, Mimica-Dukic, N, Simin N, Nedeljkovic, NS, Knezevic, P (2014). *Phytomedicine*, 21(12), 1666-1674.
6. Svirčev, E (2014). Disertacija. Univerzitet u Novom Sadu

Acknowledgement: Ministry of education, science and technological development, Serbia, grant No.172058

KOMPARATIVNA ANALIZA SADRŽAJA POLIFENOLA I VOĆNIH KISELINA I ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI 45% I 80% PROPILEN-GLIKOLNIH EKSTRAKATA PLODA DIVLJE JABUKE

Dragana Stojiljković¹, Ivana Nešić², Vanja Tadić³

¹Zdravstvena Ustanova Apoteka Farmakop - "Dr.Max", Niš, Srbija

²Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Odsek za Farmaciju, Niš, Srbija

³Odsek za farmaceutska istraživanja i razvoj, Institut za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić", Beograd, Srbija

Plod divlje jabuke sadrži veliki broj biološki aktivnih antioksidativnih, vlažećih i posvetljujućih supstanci (uključujući i polifenole i voćne kiseline). Ispitivana divlja jabuka (*Malus sylvestris* (L.) Mill., Rosaceae) predstavlja biomarker teritorije Srbije i biljku koja se koristi u narodnoj medicini Srbije za prevenciju i/ili tretman različitih bolesti. Njeni ekstrakti se potencijalno mogu koristiti u dermofarmaceutskim proizvodima za prevenciju i/ili tretman mnogih bolesti uzrokovanih oksidativnim stresom (kontaktni dermatitis, fototoksičnost, fotostarenje, bore, hiperpigmentacije, kancer).

Cilj ove studije bio je da se uporedi sadržaj polifenolnih jedinjenja i sadržaj voćnih kiselina, kao i antioksidativna aktivnost ekstrakata ploda divlje jabuke dobijenih korišćenjem 45% i 80% propilen-glikola kao ekstragenasa, u cilju potencijalne primene u proizvodnji dermofarmaceutskih proizvoda.

Tečni ekstrakti ploda divlje jabuke su pripremljeni u droga-ekstrakt odnosu D:E = 1:5 (m:V - masa:Volumen) koristeći suvi plod divlje jabuke, primenom ultrazvučne ekstrakcije kao ekstrakcione metode i 45% (m:m) propilen-glikola (ekstrakt E1) i 80% propilen-glikola (ekstrakt E2) kao ekstragenasa, pod sledećim operacionim uslovima: vreme 30 min, temperatura $22\pm2^{\circ}\text{C}$, snaga 160W. Sadržaj identifikovanih polifenola (eng. polyphenols content - PPC) i voćnih kiselina (eng. fruit acids content - FAC) je određen HPLC analizom, 7 dana nakon izrade, i izraženi su kao procentualni sadržaj (%). Antioksidativna aktivnost je određena primenom DPPH metode i tiocijanatne metode, 7 dana nakon izrade, i izražena kao %RSC (eng. Radical Scavening Capacity) i %AOA (eng. AntiOxidant Activity), respektivno. Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli I.

Tabela I Sadržaj polifenola (PPC) i sadržaj voćnih kiselina (FAC) i antioksidativna aktivnost (%RSC and %AOA) 45% (E1) i 80% propilen-glikolnih ekstrakata (E2) ploda divlje jabuke

Karakteristike	E1	E2
PPC (%)	9.00±0.21	5.87±0.18
FAC (%)	2.77±0.04	2.02±0.05
%RSC	63.87±3.35	23.25±1.46
%AOA	78.72±4.29	78.58±3.87

Tip primjenjenog ekstragensa je pokazao značajan uticaj na sadržaj bioaktivnih supstanci (polifenola i voćnih kiselina), kao i na antioksidativnu aktivnost (pokazan je bolji sadržaj i antioksidativna aktivnost za ekstrakt E1 u odnosu na ekstrakt E2). PPC za E1 je bio oko 50% veći u odnosu na PPC za E2, dok je FAC za E1 bio oko 70% veći u odnosu na FAC za E2. Vrednosti za %AOA su bile slične za oba ispitivana ekstrakta, dok je vrednost %RSC za E1 bila skoro tri puta veća u odnosu na %RSC za E2.

Dobijeni rezultati su ukazali da se propilen-glikolni ekstrakti ploda divlje jabuke mogu potencijalno koristiti kao dobar izvor bioaktivnih jedinjenja (polifenoli i voćne kiseline), sa zadovoljavajućom antioksidativnom aktivnošću (posebno 45% propilen-glikolni ekstrakt), u proizvodnji dermofarmaceutskih proizvoda.

Zahvalnica: Studija je podržana od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnloškog razvoja Republike Srbije (Projekat br. III 45017).

COMPARATIVE ANALYSIS OF POLYPHENOLS AND FRUIT ACIDS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 45% AND 80% PROPYLENE-GLYCOL EXTRACTS OF WILD APPLE FRUIT

Dragana Stojiljković¹, Ivana Nešić², Vanja Tadić³

¹Health Care Institution Pharmacy Farmakop - "Dr.Max", Niš, Serbia

²University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Niš, Serbia

³Department for Pharmaceutical Research and Development, Institute for Medicinal Plant Research "Dr Josif Pančić", Belgrade, Serbia

Wild apple fruit contains large number of biologically active antioxidant, moisturising and lightening substances (including polyphenols and fruit acids). Investigated wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill., Rosaceae) represents a biomarker of the territory of Serbia and a plant used in Serbian folk medicine for the prevention and/or treatment of various diseases. Their extracts can be potentially used in dermopharmaceutical products for prevention and/or treatment of many oxidative stress related-diseases (contact dermatitis, phototoxicity, photoaging, wrinkles, hyperpigmentation, cancer).

Therefore, the aim of this study was to compare the content of polyphenols and content of fruit acids, as well as, antioxidant activity of extracts of wild apple fruit obtained by 45% and 80% propylene-glycol as solvents, in order to evaluate its potential use in production of dermopharmaceutical products.

Liquid extracts of wild apple fruit were prepared in drug-extract ratio D:E = 1:5 (m:V - mass:Volume), using dried wild apple fruit, by ultrasonic extraction as extraction method, using 45% (m:m) propylene-glycol (extract E1) and 80% propylene-glycol (extract E2) as solvents, under following operating conditions: time 30 min, temperature $22\pm2^\circ\text{C}$, power 160W. Content of identified polyphenols (polyphenols content - PPC) and fruit acids (fruit acids content - FAC) was estimated using HPLC analysis, 7 days after preparation, and expressed as percentage content (%). Antioxidant activity was determined by DPPH method and thiocyanate method, 7 days after preparation, and expressed as %RSC (Radical Scavenging Capacity) and %AOA (AntiOxidant Activity), respectively. Obtained results are shown in Table I.

Table I Polyphenols content (PPC) and fruit acids content (FAC) and antioxidant activity (%RSC and %AOA) of 45% (E1) and 80% propylene-glycol extract (E2) of wild apple fruit

Characteristics	E1	E2
PPC (%)	9.00±0.21	5.87±0.18
FAC (%)	2.77±0.04	2.02±0.05
%RSC	63.87±3.35	23.25±1.46
%AOA	78.72±4.29	78.58±3.87

Type of used solvents showed important influence on the content of bioactive substances (polyphenols and fruit acids), as well as, on antioxidant activity (better content and antioxidant activity were shown for extract E1 compared to extract E2). PPC for E1 was about 50% better compare to PPC for E2, while FAC for E1 was about 70% better than FAC for E2. Values for %AOA were similar for both investigated extracts, while %RSC for E1 was almost three times better compared to %RSC for E2.

The obtained results have shown that propylene-glycol extracts of wild apple fruit might be potentially used as a good source of bioactive substances (polyphenols and fruit acids), with satisfactory antioxidant activity (especially 45% propylene-glycol extract), in production of dermopharmaceutical products.

Acknowledgement: Ministry of education, science and technological development of Republic of Serbia supported this study (Project No III 45017)

ŽUČNE KISELINE KAO NOVI FARMAKOLOŠKI AGENSI U TERAPIJI INFLAMATORNIH I MALIGNIH BOLESTI

Nebojša Pavlović¹, Carmen Stankov², Momir Mikov³

¹Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za farmaciju,
Novi Sad, Srbija;

²Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za biohemiju,
Novi Sad, Srbija;

³Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za farmakologiju i
toksikologiju, Novi Sad, Srbija

Žučne kiseline su decenijama smatrane isključivo biološkim surfaktantima, koji vrše solubilizaciju masti iz hrane i na taj način omogućavaju njihovu dalju razgradnju i apsorpciju. Nakon otkrića farnezoid X receptora (FXR) 1999. godine i žučnih kiselina kao prirodnih liganada ovog receptora, utvrđena su i endokrina i parakrina svojstva ovih jedinjenja. Danas je poznato da su žučne kiseline, kao signalni molekuli, uključeni u regulaciju metabolizma glukoze i lipida, termogeneze, inflamatornih i imunomodulatornih procesa, antibakterijske zaštite intestinalnog trakta itd [1].

Najveći deo svojih efekata žučne kiseline ostvaruju posredstvom nuklearnog FXR receptora i membranskog TGR5 receptora. Žučne kiseline su uključene u brojne signalne puteve koji regulišu ćelijski ciklus i doprinose razvoju ili regresiji maligniteta. Pronađena je veza između gubitka farnezoid X receptora (FXR), glavnog regulatora homeostaze žučnih kiselina, i kancerogeneze u intestinumu. Dok sniženje nivoa FXR u enterocitima doprinosi razvoju tumora, njegova aktivacija u ćelijama karcinoma kolona dovodi do supresije proliferacije i indukcije apoptoze [2]. Aktivacija FXR takođe smanjuje inflamaciju u intestinalnom traktu tako što inhibira funkciju NF-κB, čija perzistentna aktivacija u ćelijama kolona dovodi do kolitisa i, eventualno, karcinoma kolona [3]. Stoga se može zaključiti da FXR predstavlja značajnu farmakološku metu i u prevenciji i terapiji karcinoma kolona.

Žučne kiseline utiču na inflamaciju intestinuma i razvoj karcinoma kolona i uticajem na sastav crevne mikroflore [4]. Poznato je da žučne kiseline imaju antibakterijsko dejstvo, prvenstveno henodeoksiholna i deoksiholna kiselina, i da zahvaljujući tome sprečavaju prekomoran razvoj mikroorganizama u lumenu creva i čuvaju integritet intestinalne barijere. Pokazano je da osim što poseduju antimikrobna svojstva *per se*, žučne kiseline aktivacijom FXR receptora u enterocitima regulišu ekspresiju gena čiji su proizvodi uključeni u odbranu od intestinalnih bakterija [5].

Najznačajniji fiziološki i farmakološki efekti žučnih kiselina determinisani su njihovom polarnošću. Dok su hidrofobne žučne kiseline povezane sa razvojem brojnih patoloških stanja, pre svega indukovanjem oksidativnog stresa u ćelijama, aktivacijom inflamatornih signalnih puteva i iniciranjem apoptoze, hidrofilne žučne kiseline su

netoksične i smatraju se citoprotektivnim agensima. Utvrđeno je da male strukturne razlike imaju za posledicu značajne razlike u afinitetu žučnih kiselina prema nuklearnim receptorima, a samim tim i u ostvarenim efektima [6]. Stoga se danas naučna oblast farmakologije žučnih kiselina intenzivno razvija, posebno nakon kristalografskih studija njihovih receptora, čime je otvorena mogućnost za razvoj polusintetskih derivata sa većim afinitetom ka receptorima, boljom selektivnošću i poboljšanim farmakokinetskim karakteristikama.

Rezultati našeg rada ukazuju da bi se, pored prirodne ursodeoksiholne kiseline, polusintetski derivat 12-monoketoholna kiselina mogla koristiti u hemoprevenciji karcinoma kolona u niskim dozama, s obzirom na utvrđene efekte u modulaciji ekspresije gena uključenih u procese apoptoze, oksidativnog stresa i inflamacije [7]. Takođe, utvrđeni su i epigenetski aspekti regulacije navedenih procesa od strane žučnih kiselina modulacijom ekspresije histon-deacetilaza, što pruža dobru osnovu za dalja ispitivanja u pogledu uticaja žučnih kiselina na druge hromatinske modifikacije ili na metilaciju DNA, čime bi spektar farmakoloških dejstava žučnih kiselina bio proširen u budućnosti.

Reference:

1. Pavlović N, Stanimirov B, Mikov M. Bile acids as novel pharmacological agents: the interplay between gene polymorphisms, epigenetic factors and drug response. *Curr Pharm Des.* 2017; 23(1): 187-215.
2. Degirolamo C, Modica S, Palasciano G, Moschetta A. Bile acids and colon cancer: solving the puzzle with nuclear receptors. *Trends Mol Med.* 2011; 17: 564-72.
3. Gadaleta RM, van Erpecum KJ, Oldenburg B, Willemse ECL, Renooij W, Murzilli S, et al. Farnesoid X receptor activation inhibits inflammation and preserves the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2011; 60(4): 463-72.
4. Pavlović N, Stankov K, Mikov M. Probiotics - interactions with bile acids and impact on cholesterol metabolism. *Appl Biochem Biotechnol.* 2012; 168(7): 1880-95.
5. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metab.* 2016; 24(1): 41-50.
6. Faustino C, Serafim C, Rijo P, Reis CP. Bile acids and bile acid derivatives: use in drug delivery systems and as therapeutic agents. *Expert Opin Drug Deliv.* 2016; 13(8): 1133-48.
7. Pavlović N, Stankov K, Stanimirov B, Đanić M, Bogdanović G, Goločorbin-Kon S, Mikov M. Ursodeoxycholic acid modulates intracellular redox state and sensitizes colon cancer cells to the cytotoxicity induced by epigenetic agent vorinostat. *Toxicol Lett.* 2018;295: S107-8.

BILE ACIDS AS NOVEL PHARMACOLOGICAL AGENTS IN THE TREATMENT OF INFLAMMATORY AND MALIGNANT DISEASES

Nebojša Pavlović¹, Karmen Stankov², Momir Mikov³

¹University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy,
Novi Sad, Serbia;

²University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry,
Novi Sad, Serbia;

³University of Novi Sad, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology and
Toxicology, Novi Sad, Serbia

Bile acids have been considered exclusively biological surfactants for decades, which solubilize food lipids and thus allow their further degradation and absorption. Following the discoveries of farnesoid X receptor (FXR) in 1999 and bile acids as its natural ligands, both the endocrine and paracrine properties of these biomolecules were determined. Nowadays, it is known that bile acids, as signaling molecules, are involved in the regulation of glucose and lipid metabolism, thermogenesis, inflammatory and immunomodulatory processes, antibacterial protection of the intestinal tract, etc [1].

Most effects of bile acids are achieved by binding to nuclear FXR receptor and membrane TGR5 receptor. Bile acids are involved in signal pathways that regulate cell cycle and contribute to the development or regression of malignancies. The connection between the loss of the bile acid homeostasis regulator farnesoid X receptor (FXR) and carcinogenesis in the intestines was identified. While lowering the FXR levels in enterocytes contributes to tumor development, its activation in colon cancer cells leads to the proliferation suppression [2]. FXR activation also reduces inflammation in the intestines by inhibiting the function of NF-κB, whose persistent activation leads to colitis and, eventually, colon cancer [3]. Therefore, it can be concluded that FXR represents a significant pharmacological target in both prevention and treatment of colon cancer.

Bile acids affect the intestinal inflammation and development of colon cancer also through the alteration of the intestinal microflora composition [4]. Bile acids are known to exert antibacterial effects, primarily chenodeoxycholic and deoxycholic acid, and thus prevent the overgrowth of microorganisms in the gut lumen and preserve the integrity of the intestinal barrier. In addition to possessing antimicrobial properties *per se*, bile acids through FXR activation in enterocytes regulate the expression of genes that are involved in defense against intestinal bacteria [5].

The most significant physiological and pharmacological effects of bile acids are determined by their polarity. While hydrophobic bile acids are associated with the development of numerous pathological conditions, primarily by inducing oxidative

stress in cells, activating inflammatory signaling pathways and initiating apoptosis, hydrophilic bile acids are non-toxic and are considered cytoprotective agents. However, small structural differences result in significant differences in affinities of bile acids to nuclear receptors and thus in the effects achieved [6]. Therefore, the scientific field of bile acid pharmacology is intensively developing, especially after crystallographic studies of their receptors, which opened the possibility for the development of semisynthetic derivatives with higher affinity for receptors, better selectivity and improved pharmacokinetics.

The results of our study indicate that, in addition to the natural ursodeoxycholic acid, a semisynthetic 12-monoketocholic acid could also be used in low doses in chemoprevention of colon cancer, considering determined effects in the modulation of expression of the genes involved in apoptosis, oxidative stress and inflammation pathways [7]. Besides, the epigenetic aspects of regulation of these processes by bile acids through modulation of histone deacetylases expression have been established, providing a good basis for further studies that may extend the spectrum of pharmacological effects of bile acids in future.

References:

1. Pavlović N, Stanimirov B, Mikov M. Bile acids as novel pharmacological agents: the interplay between gene polymorphisms, epigenetic factors and drug response. *Curr Pharm Des.* 2017; 23(1): 187-215.
2. Degirolamo C, Modica S, Palasciano G, Moschetta A. Bile acids and colon cancer: solving the puzzle with nuclear receptors. *Trends Mol Med.* 2011; 17: 564-72.
3. Gadaleta RM, van Erpecum KJ, Oldenburg B, Willemsen ECL, Renooij W, Murzilli S, et al. Farnesoid X receptor activation inhibits inflammation and preserves the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2011; 60(4): 463-72.
4. Pavlović N, Stankov K, Mikov M. Probiotics - interactions with bile acids and impact on cholesterol metabolism. *Appl Biochem Biotechnol.* 2012; 168(7): 1880-95.
5. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metab.* 2016; 24(1): 41-50.
6. Faustino C, Serafim C, Rijo P, Reis CP. Bile acids and bile acid derivatives: use in drug delivery systems and as therapeutic agents. *Expert Opin Drug Deliv.* 2016; 13(8): 1133-48.
7. Pavlović N, Stankov K, Stanimirov B, Đanić M, Bogdanović G, Goločorbin-Kon S, Mikov M. Ursodeoxycholic acid modulates intracellular redox state and sensitizes colon cancer cells to the cytotoxicity induced by epigenetic agent vorinostat. *Toxicol Lett.* 2018;295: S107-8.

POUZDANA HROMATOGRAFSKA METODA ZA ANALIZU CIPROFLOKSACINA I MOKSIFLOKSACINA U HUMANOM SERUMU

**Predrag Džodić¹, Radmila Veličković-Radovanović^{1,2},
Maja Koraćević¹, Aleksandra Catić-Đorđević¹, Tatjana Cvetković^{2,3}**

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Farmacije, Niš, Srbija

²Klinika za nefrologiju, Klinički centar Niš, Niš, Srbija

³Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Katedra Biohemije, Niš, Srbija

Izvršena je validacija jednostavne hromatografske metode za analiziranje ciprofloksacina i moksifloksacina u humanom serumu.

Nakon taloženja proteina humanog seruma, primenjena je visoko-efikasna tečna hromatografija (HPLC) sa UV detekcijom. Kao stacionarna faza korišćena je analitička kolona Zorbax SB-C18 (150 mm x 4,6 mm, veličina čestica 3,5 mm). Za hromatografsko razdvajanje ciprofloksacina i moksifloksacina, mobilna faza se sastoji od 0,1% trifluorosiréctne kiseline u vodi za hromatografiju - metanol (66:34, v/v), pri protoku od 1 mL/min, temperaturi od 35° C i detekciji na 280 nm. Validacija metode je izvedena u skladu sa smernicama Evropske agencije za lekove [1].

Vreme trajanja hromatografske separacije je oko 12 minuta i nije uočeno prisustvo interferencije. Za ciprofloksacin, metoda je linearna u opsegu koncentracija 0,5-50 µg/mL sa koeficijentom korelacije 0,9874. Za moksifloksacin, metoda je bio linearna u opsegu koncentracija 0,5-50 µg/mL sa koeficijentom korelacije 0,9946. Uočen je širi opseg metode za oba analita u odnosu na ranije objavljene metode [2, 3]. Štaviše, simetrija pikova je dobra, što je prednost u odnosu na ranije objavljene metode, gde je uočena loša simetrija pikova [4, 5].

Vrednosti relativne standardne devijacije (RSD) iznose od 5,23% do 14,64%, tako da je dobra preciznost u toku jednog dana i preciznost u toku više dana. Takođe, tačnost metode obuhvata vrednosti od 86,14% do 113,75%. Prema tome, preciznost i tačnost metode su u skladu sa zahtevima Evropske agencije za lekove [1].

Jednostavna i pouzdana HPLC-UV metoda uspešno je validirana i može se primeniti radi analiziranja ciprofloksacina i moksifloksacina u uzorcima humanog seruma. Metoda se može primeniti ne samo u cilju terapijskog monitoringa već i u cilju farmakokinetičkih studija ciprofloksacina i moksifloksacina.

Reference:

1. European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation, 2011. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf
2. Czyrski A, Sokół A, Szałek E. HPLC method for determination of moxifloxacin in plasma and its application in pharmacokinetic analysis. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2017; 40(1): 8–12.
3. El-Kimary EI, Khamis EF, Belal SF, Abdel Moneim MM. Sensitive inexpensive chromatographic determination of an antimicrobial combination in human plasma and its pharmacokinetic application. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018; 1097-1098: 94-100.
4. Khan FU, Nasir F, Iqbal Z, Khan I, Shahbaz N, Hassan M, Ullah F. Simultaneous determination of moxifloxacin and ofloxacin in physiological fluids using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016; 1017-1018: 120-128.
5. Xu YH, Li D, Liu XY, Li YZ, Lu J. High performance liquid chromatography assay with ultraviolet detection for moxifloxacin: validation and application to a pharmacokinetic study in Chinese volunteers. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010; 878(32): 3437-3441

Zahvalnica: Ovo istraživanje je podržano od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u okviru projekata 172044 i 41018

A RELIABLE CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR THE ANALYSIS OF CIPROFLOXACIN AND MOXIFLOXACIN IN HUMAN SERUM

**Predrag Džodić¹, Radmila Veličković-Radovanović^{1,2},
Maja Koraćević¹, Aleksandra Catić-Đorđević¹, Tatjana Cvjetković^{2,3}**

¹University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Niš, Serbia

²Clinic of Nephrology, Clinical Centre Niš, Niš, Serbia

³University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, Niš, Serbia

Validation of a simple chromatographic method for the analysis of ciprofloxacin and moxifloxacin in human serum was performed. Human serum was subjected to protein precipitation which was followed by high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection. As a stationary phase, analytical column Zorbax SB-C18 (150 mm x 4.6 mm i.d., particle size 3.5 µm) was utilized. For the chromatographic separation of ciprofloxacin and moxifloxacin, the mobile phase consisted of 0.1% trifluoroacetic acid in water for chromatography - methanol (66:34, v/v), at the flow rate of 1 mL/min, temperature 35°C and detection at 280 nm. The method validation was carried out according to European Medicine Agency (EMA) guidelines [1].

Chromatographic run time was about 12 minutes and no interreference was observed. For ciprofloxacin, the method was linear over a concentration range of 0.5-50 µg/mL with correlation coefficient 0.9874. For moxifloxacin, the method was linear over a concentration range of 0.5-50 µg/mL with correlation coefficient 0.9946. Wider method range for the both analytes was observed than the previously published methods [2, 3].

Moreover, peak symmetry was good and no peak tailing was observed as it was in the previously published methods [4, 5].

Relative standard deviation (RSD) values were from 5.23% to 14.64%, and therefore good intra-day and inter-day precision was spotted. Moreover, accuracy ranged from 86.14% to 113.75%. Therefore, precision and accuracy of the method are pursuant to European Medicine Agency guidelines [1].

A simple and reliable HPLC-UV method was successfully validated and it could be applied to analysis of ciprofloxacin and moxifloxacin in human serum samples. The method has a potential to be applied not only for therapeutic drug monitoring but also for pharmacokinetic studies of ciprofloxacin and moxifloxacin.

References:

1. European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation, 2011. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf
2. Czyrski A, Sokół A, Szałek E. HPLC method for determination of moxifloxacin in plasma and its application in pharmacokinetic analysis. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2017; 40(1): 8–12.
3. El-Kimary EI, Khamis EF, Belal SF, Abdel Moneim MM. Sensitive inexpensive chromatographic determination of an antimicrobial combination in human plasma and its pharmacokinetic application. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018; 1097-1098: 94-100.
4. Khan FU, Nasir F, Iqbal Z, Khan I, Shahbaz N, Hassan M, Ullah F. Simultaneous determination of moxifloxacin and ofloxacin in physiological fluids using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016; 1017-1018: 120-128.
5. Xu YH, Li D, Liu XY, Li YZ, Lu J. High performance liquid chromatography assay with ultraviolet detection for moxifloxacin: validation and application to a pharmacokinetic study in Chinese volunteers. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010; 878(32): 3437-3441.

Acknowledgement: This research was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia as part of project No. 172044 and 41018.