Odabrane droge životinjskog porijekla u tradicionalnoj kineskoj medicini

Anušić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:934039

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Marija Anušić

Odabrane droge životinjskog porijekla u tradicionalnoj kineskoj medicini

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018

Diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakognozija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Biljane Blažeković, mag. pharm.

Zahvaljujem se docentici Biljani Blažeković na prenesenom znanju, strpljenju i stručnom vodstvu kroz izradu ovog diplomskog rada. Također se zahvaljujem obitelji, prijateljima i kolegama na podršci tijekom studiranja.

Sadržaj

1. UVOD 1

1.1 Tradicionalna kineska medicina ***1***

1.2 Animalne droge u tradicionalnoj kineskoj medicini ***3***

1.3 Osnovni principi kineske farmakologije ***4***

2. OBRAZLOŽENJE TEME **6**

3. MATERIJALI I METODE **7**

4. REZULTATI I RASPRAVA **8**

4. 1 Bombyx batryticatus - Jiāngcán, 僵蚕 ***8***

4.1.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 9
4.1.2 Kemijski sastav 10
4.1.3 Znanstveno dokazani učinci 10
4.1.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 13

4. 2 Scolopendra - Wú gōng, 蜈蚣 ***15***

4.2.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 15
4.2.2 Kemijski sastav 16
4.2.3 Znanstveno dokazani učinci 17
4.2.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 19

4.3 Scorpio - Quánxiē, 全蝎 ***20***

4.3.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 21
4.3.2 Kemijski sastav 22
4.3.3 Znanstveno dokazani učinci 22
4.3.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 24

4.4 Eupolyphaga - Tǔbiēchóng, 土鳖虫 ***26***

4.4.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 26
4.4.2 Kemijski sastav 27
4.4.3 Znanstveno dokazani učinci 27
4.4.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 30

4.5 Mel - Fēngmì, 蜂蜜 ***32***

4.5.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 32
4.5.2 Kemijski sastav 33
4.5.3 Znanstveno dokazani učinci 33
4.5.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 37

4.6 Mantidis oötheca - Sāngpiāoshāo, 桑螵蛸 ***41***

4.6.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 41
4.6.2 Kemijski sastav 42

4.6.3 Znanstveno dokazani učinci 42
4.6.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 45
4.7 Mylabris - Bānmáo, 斑蝥 46
4.7.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 47
4.7.2 Kemijski sastav 48
4.7.3. Znanstveno dokazani učinci 48
4.7.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 50
4.8 Vespae nidus - Fēngfáng, 蜂房 52
4.8.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM 53
4.8.2 Kemijski sastav 54
4.8.3 Znanstveno dokazani učinci 54
4.8.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji 56
5. ZAKLJUČAK 58
6. LITERATURA 59
7. SAŽETAK/SUMMARY 66
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD 67

1. UVOD

1.1 Tradicionalna kineska medicina

Tradicionalna kineska medicina (*eng.* Traditional Chinese medicine, TCM) predstavlja drevni sustav liječenja koji se pojavio u Kini prije više od dvije tisuće godina i očuvao do dan danas. Obuhvaća različite postupke liječenja, ponajviše fitoterapiju i primjenu ljekovitih droga biljnog, životinjskog i mineralnog porijekla te akupunkturu, ali i druge oblike liječenja poput moksibustije, vježbi za duh i tijelo, poput Tai chi-ja i Qi gong-a, terapeutsku Tuina masažu i dijetoterapiju (www.nccih.nih.gov, pristupljeno: srpanj 2018). Za razliku od zapadnjačkog pristupa, usmjerenog prema bolesti pojedinog organa, TCM se temelji na holističkoj filozofiji prema kojoj je svaki dio tijela u odnosu ne samo s drugim dijelovima, nego i sa čitavim vanjskim svijetom. Tako se stanje unutarnjih organa često odražava na površini tijela, a vanjski znaci i simptomi mogu se dovesti u vezu s promjenama u unutarnjim organima (Sun i sur., 2014).

Temeljni postulati tradicionalne kineske medicine razvili su se iz nekoliko filozofskih teorija: Teorije o yinu i yangu, Teorije pet elemenata i Teorije o qi-ju, životnoj energiji koja teče kanalima-meridijanima povezanim s tjelesnim organima i funkcijama. Yin i yang predstavljaju dvije suprotstavljene ideje čijim su neprestanim mijenjanjem i uzajamnim djelovanjem nastale stvari i sva svemirska zbivanja. Općenito govoreći, ono što je dinamično, rastuće, toplo i svijetlo pripada yangu, dok statično, unutarnje, padajuće, hladno i tamno pripada yinu (Zhu i Wang, 2010). Anatomski gledano, gornji i vanjski dio tijela pripada yangu, a donji i unutarnji yinu, pa tako srce i pluća promatramo kroz prizmu yang, a jetru, slezenu i bubrege kroz prizmu yin organa (Hu, 2016).

Teorija pet elemenata (Wu Xing) govori kako je čitav svijet nastao od pet međusobno ovisnih elemenata: drveta, vatre, zemlje, metala i vode, a njeni utjecaji vidljivi su i u vještinama poput Tai chi-ja i Feng shui-ja. U kontekstu tradicionalne kineske medicine, sve dok se ovi elementi istovremeno pokreću, organizam je zdrav, a ukoliko dođe do kretanja u suprotnim smjerovima, nastupa bolest (Flaws i sur., 2007). I dok zapadnjačka medicina u procesu liječenja lijekove svodi na agoniste i antagoniste receptora, kineska medicina traži način da riješi nesklad yina i yanga, koji je prema njihovom vjerovanju i uzrokovao bolest. Taj nesklad oštećuje organe i dovodi do psiholoških i fizioloških smetnji, a tijekom svake bolesti do neke mjere prisutna je borba između patogena i zdravog qi-ja (Adams i Lien, 2013).

Za razliku od Kine, gdje čak 90 % bolnica ima odjele na kojima se prakticira tradicionalna medicina (WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023), Zapad se s konceptom TCM-a susreće tek od polovice dvadesetog stoljeća, kada se literatura počela prevoditi na engleski jezik, i otada bilježi neprestani rast (Garvey, 2014). Primjerice, procijenjuje se da godišnje jedna šestina njemačkih liječnika liječi 2 milijuna pacijenata po principima TCM-a, a 2007. je godine 3,1 milijun ljudi u SAD-u koristilo akupunkturu (Tang, 2013).

Nobelova Nagrada dodijeljena kineskoj znanstvenici Youyou Tu 2015. godine za otkriće antimalarika artemizinina još je više zainteresirala Zapad za droge korištene u TCM-u (Wang i sur., 2017). Iako zapadnjačka medicina sve više uočava ogroman potencijal TCM-a i u njoj vidi nove terapijske mogućnosti, nedostatak dokaza i kvalitetnih kliničkih ispitivanja predstavlja velik problem i sprječava integraciju TCM-a i konvencionalne medicine.

1.2 Animalne droge u tradicionalnoj kineskoj medicini

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, primarna zdravstvena zaštita čak 80 % svjetske populacije ovisi o lijekovima dobivenim iz biljaka i životinja, što je posebno uočljivo u zemljama s bogatim naslijeđem tradicionalne medicine, poput Kine. Povijest korištenja životinja i njihovih proizvoda u liječenju seže u daleku prošlost. Nosorog je primjerice već više od 2000 godina u Kini poznat kao svojevrsna panaceja: rog za vrućicu i kao afrodizijak, kost za tegobe s kostima, a krv u ublažavanju menstrualnih tegoba (Still, 2003). U TCM-u se koristi osamstotinjak vrsta životinjskih droga, rjeđe samostalno, odnosno češće u kombinaciji s biljnim drogama i mineralima. U izdanju Kineske farmakopeje iz 1990. godine, droge životinjskog porijekla činile su 7,66 % od ukupno 509 popisanih droga. Neke od njih nisu dobivene žrtvovanjem životinja, nego ih čine životinjski produkti, poput mošusa ili otrova žabe bufo, neke čine životinjski ekskreti, primjerice izmet šišmiša, dok su neke patološke tvorevine na životinjama, kao žućni kamenac vodenog bivola (Zhu, 1998). Ipak, sve su veća nastojanja da se smanji korištenje droga dobivenih iz životinja. Nekoliko je razloga za to. Mnoge životinjske vrste pod prijetnjom su istrebljenja, a vjerojatno najbolji primjer je tigar, čije se kosti od davnina koriste za liječenje hemiplegije i uganuća zgloba ili pak ljuske pangolina (ljuskavca), korištene kod upalnih bolesti kože i kod grčenja udova (Bensky i sur., 2004). CITES ili Konvencija o međunarodnoj trgovini ugroženim vrstama divljih životinja i biljaka sporazum je kojim se nastoji nadzirati međunarodna trgovina divljim vrstama, a obuhvaća i neke droge korištene u TCM. Iako se Kina nalazi među 183 države potpisnice sporazuma, nedovoljno je učinjeno u praksi. Osim što nestanak životinja predstavlja nenadoknadivu štetu za bioraznolikost, ostajemo zakinuti i za potencijalne nove lijekove (Still, 2003). Još jedna stavka koja govori u prilog izbjegavanju upotrebe animalnih droga jest činjenica da za razliku od biljnih droga, droge životinjskog porijekla nisu sustavno proučavane i postoji vrlo malo kliničkih studija, većinom upitne kvalitete, što za sobom povlači i pitanje sigurnosti njihove primjene.

1.3 Osnovni principi kineske farmakologije

Kineska Materia medica razvrstava droge na temelju nekoliko glavnih svojstava: temperaturi, okusu, smjeru djelovanja i vezi organa i kanala, mjestu djelovanja i indikacijama. Temperatura droge može biti hladna, topla i neutralna, a osnovno pravilo pri primjeni droga u liječenju bolesti je da "treba grijati hladnoću i hladiti vrućinu". Tako vrlo hladne droge imaju ulogu hlađenja vrućine, uklanjanja vatre, nadomještanja tekućina i njegovanja yina, a yang, tople droge griju i rastjeruju hladnoću. Droge neutralne temperature pokazuju svojstva hladnih i toplih droga. Priprema droge određuje njenu temperaturu pa zato ohlađeni dekokt vežemo uz hladna, a vrući uz topla temperaturna svojstva. Okus nam daje podatak o razini na kojoj droga djeluje i o dubini njenog prodiranja, a svaka droga pokazuje učinak na specifičnoj razini, ovisno o okusu: oštar okus djeluje površinski, dok gorki i slani djeluju u unutrašnjosti. Ostali okusi su slatko, neutralno i kiselo. Svaka droga opisana je s obzirom na povezanost s organima i meridijanima, iz čega saznajemo na koji organ pojedina droga ima najjači učinak ili prema kojem kanalu pokazuje najveći afinitet. Na podatak prema kojem će organu droga imati dominantno djelovanje upućuju nas i temperatura i okus droge: tople droge djeluju na yang organe, primjerice srce, a droge slatkog i neutralnog okusa djelovati će na slezenu. U navedenom primjeru važno je uočiti prožimanje svojstava droga, što za posljedicu ima njihovo raznoliko djelovanje. Zbroj svojstava temperature i okusa čini smjer djelovanja droge, a razlikujemo 4 skupine: Droge koje podižu, Droge koje opuštaju vanjštinu (*engl*. release the exterior), Droge koje usmjeravaju qi silazno te Droge koje djeluju u unutrašnjosti. S obzirom na klinička opažanja, Materia medica navodi mjesta na kojima je droga najaktivnija. Neka od njih su kanali, vanjština, unutrašnjost, nos, pluća, koža, ili pak probavni ili koštano-mišićni sustav. Svaka droga može imati do 8 različitih djelovanja pa se razvrstavaju prema kliničkoj važnosti na droge jakog, uočljivog i blago uočljivog djelovanja. Indikacije upućuju na znakove i simptome na koje droge korištene u TCM imaju zapažen povoljni učinak, dok se fiziološki i farmakološki učinci odnose na djelovanje promatrano u okviru zapadnjačke biologije i farmakologije. Toksičnost nam ukazuje na dostupne podatke o toksičnosti, a doziranje navodi najmanje i najveće doze sirove droge korištene za izradu vodenog dekokta, koji predstavlja najčešći način priprave kineskih droga. Uobičajeno vrijeme kuhanja je 20 minuta, a neke droge s eteričnim uljima treba dodati na kraju kako djelatne tvari ne bi ishlapile. Droge TCM-a najčešće se koriste u obliku "formula" koje predstavljaju kombinacije većeg broja droga te je za njihovo sastavljanje potrebno specifično znanje i oprezan pristup kako bi se kombiniranjem postigao sinergistički, a izbjegao antagonistički ili toksičan učinak.

Materia medica navodi i podatke o kontraindiciranosti pojedinih droga, kao i o onima čija je upotreba zabranjena u trudnoći (Hempen i Fischer, 2009).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Tema ovog rada su droge životinjskog porijekla korištene u tradicionalnoj kineskoj medicini. Iako TCM zahvaljujući globalizaciji postaje sve više prepoznata i proučavana, to se uglavnom odnosi na biljne droge. Unatoč činjenici da konvencionalna medicina poznaje i koristi neke životinjske proizvode, poput meda, većina animalnih droga predstavlja potpunu nepoznanicu na Zapadu. Razlog leži i u tome što su mnoge životinjske vrste upotrebljavane na Istoku autohtone za to područje i ne obitavaju na prostoru Amerike i Europe te shodno tome, nisu bile proučavane. Međutim, vjerojatno najvažniji razlog jest činjenica da postoji vrlo malo istraživanja o učinkovitosti i sigurnosti droga animalnog porijekla, a i ona koja su objavljena, često nisu napravljena prema zapadnjačkim standardima te je njihova kvaliteta dvojbena. U svjetlu stalnih napora znanstvene zajednice za otkrivanje novih terapeutika, napose novih antibiotika i antineoplastika, lijekovi tradicionalno korišteni u kineskoj medicini, a među njima i oni dobiveni iz životinja, mogli bi predstavljati riznicu od neprocjenjive važnosti. Cilj rada bio je teorijski proučiti odabranih osam droga životinjskog porijekla tradicionalno korištenih u kineskoj medicini te prikupiti i prikazati podatke o njihovim prirodnim izvorima, svojstvima i tradicionalnoj primjeni, kao i o dostupnim znanstvenim spoznajama o njihovoj djelotvornosti. U radu su prikazani i hrvatski prijevodi monografija istraživanih droga koje nalazimo u aktualnom, desetom izdanju Kineske farmakopeje.

3. MATERIJALI I METODE

U izradi ovog rada provedeno je teorijsko istraživanje droga životinjskog porijekla korištenih u tradicionalnoj kineskoj medicini. Odabrano je osam droga dobivenih iz životinja koje pripadaju koljenu člankonožaca (Arthropoda):

1) Bombyx batryticatus - Jiāngcán, 僵蚕
2) Scolopendra - Wúgōng, 蜈蚣
3) Scorpio - Quánxiē, 全蝎
4) Eupolyphaga - Tǔbiēchóng, 土鳖虫
5) Mel - Fēngmì, 蜂蜜
6) Mantidis oötheca - Sāngpiāoshāo, 桑螵蛸
7) Mylabris - Bānmáo, 斑蝥
8) Vespae nidus - Fēngfáng, 蜂房

Rad je nastao pregledom stručne literature i pretraživanjem znanstvenih baza podataka (PubMed, ScienceDirect). Kao ključne riječi u pretraživanju korišteni su latinski i/ili engleski nazivi droga i životinjskih vrsta: Bombyx batryticatus, *Bombyx mori*, Scolopendra, *Scolopendra subspinipes*, centipede, Scorpio, *Scorpio martensii*, Eupolyphaga, Steleophaga, *Eupolyphaga sinensis*, Honey, Mantidis oötheca, *Paratenodera sinensis*, Mantis egg-case, Mylabris, *Mylabris phalerata*, *Mylabris cichorii*, Vespae nidus, Wasp nest.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U radu je teorijski istraženo osam droga dobivenih iz životinja koje pripadaju koljenu člankonožaca, a koriste se u terapiji u okviru tradicionalne kineske medicine. Sustavnim pretraživanjem i proučavanjem stručne i znanstvene literature prikazani su podaci o izvorima droga, njihovim svojstvima i primjeni prema TCM načelima, kao i pregled rezultata dosadašnjih nekliničkih i kliničkih ispitivanja. Također je dan pregled monografija odabranih droga u desetom izdanju Kineske farmakopeje.

4. 1 Bombyx batryticatus - Jiāngcán, 僵蚕

Slika 1. Bombyx batryticatus, *Bombyx mori*
(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Bombycidae
Vrsta: *Bombyx mori*
Drugi naziv droge: *Bombyx cum Batryte*

Hrvatski naziv: larva dudovog svilca

Engleski naziv: silkworm body

4.1.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: neutralna

Okus: oštar, slan

Veza s organima: jetra, pluća, želudac

Smjer djelovanja: padajući

Mjesto djelovanja: glava i oči, koža, meridijani

Djelovanja/indikacije:

Gasi vjetar: glavobolja, svrbež, crvene natečene oči koje svrbe

Raspršuje vrući vjetar: glavobolja, crvene bolne oči, natečeno grlo, gubitak glasa, dječje zarazne bolesti

Rastjeruje vlažni vjetar: oticanje vrata i limfnih čvorova, zaušnjaci

Zaustavlja svrbež: svrbež uzrokovan vanjskim vjetrom, osip koji svrbi, nadražljivost, nesanica

Deblokira kanale: parestezija, grčevi, pareza lica

Kombinacije:

- s Coptidis rhizoma (*huang lian*) i Arisaematis rhizoma preparata (*zhi tian nan xing*) za vruću sluz s konvulzijama, napadaje
- s Codonopis radix (dang shen), Atractylodis macrocephalae rhizoma (bai zhu) i Gastrodiae rhizoma (tian ma) za poremećaje slezene i želuca te dječje konvulzije
- s Cicadae periostracum (chan tui), Scorpio (quan xie) i Scolopendra (wu gong) za epileptične napadaje
- s Mori ramulus (shang zhi), Chrysanthemi flos (ju hua), Schizonepetae herba (jing jie) za glavobolju i crvenilo očiju
- s Platycodi radix (jie geng), Glycyrrhizae radix (gan cao), Menthae herba (bo he), Mori ramulus (sang zhi), Chrysanthemi flos (ji hua), Scrophulariae radix (xuan shen), Forsythiae fructus (lian qiao) za vrućinu, promuklost i upalu grla
- uz Cicadae periostracum (chan tui), Saposhnikoviae radix (fang feng) i Moutan cortex (mu dan pi) za kožu s osipom koji svrbi

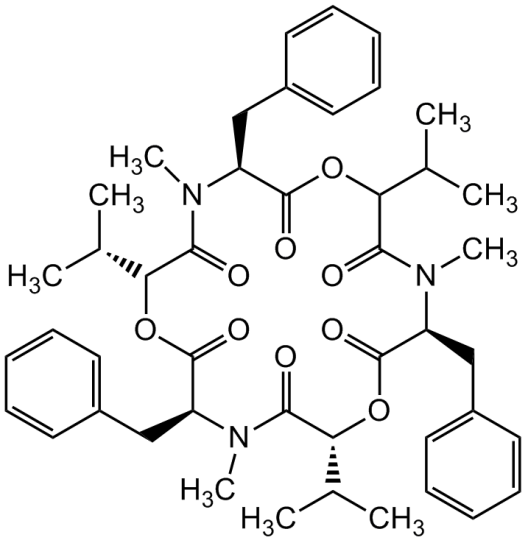
Kompatibilnost: smanjena uz Platycodi radix (*jie geng*), Poria (*fu ling*), Dioscoreae hypoglaucae rhizoma (*bi xie*), Mantidis oötheca (*sang piao xiao*)

Upotreba u trudnoći: dopuštena (Hempen i Fischer, 2009)

4.1.2 Kemijski sastav

Glavne kemijske sastavnice droge Bombyx batryticatus su (Hu i sur., 2017):

- peptidi i proteini (BB oktapeptid, beauvericin, ACIBB i dr.)
- masne kiseline (stearinska, palmitinska kiselina)
- flavonoidi (kvercetin, kempferol i njihovi glikozidi)
- nukleozidi (uracil, uridin, ksantin, citidin, adenin i dr.)
- steroli (daukosterol i dr.)
- kumarin
- oligosaharid (BBPW-2)



Slika 2. Beauvericin, peptid iz droge Bombyx batryticatus
(preuzeto s www.adipogen.com)

4.1.3 Znanstveno dokazani učinci

Protutumorski učinak

Oligosaharid BBPW-2 izoliran je iz dudovog svilca i određena mu je struktura: β-D-(1 → 2,6)-glukopiranoza i β-D-(1 → 2,6)-manozil predstavljaju srž, α-D-(1 → 2)-galaktopiranoza i α-D-(1 → 3)-manozil su bočni, a α-D-Manp i β-D-Glcp su terminalni ostaci. *In vitro* istraživanja ukazala su na njegovu sposobnost protutumorskog djelovanja. Test redukcije tetrazolijeve soli (MTT), koji mjeri metaboličku aktivnost stanice i test bojom metil violet pokazali su da BBPW-2 ima izravan citotoksični učinak na stanične linije HeLa i HepG2, kao i dugoročni antiproliferativni učinak na MCF-2 stanice. Također je dokazano da BBPW-2 ometa stanični ciklus u fazi G0/G1 i G2/M te dolazi do rasta broja ranih i kasnih apoptotskih,

kao i nekrotskih stanica. Sve navedeno ukazuje kako BBPW-2 predstavlja mogući novi kemoterapeutik te su potrebna daljnja istraživanja njegove protutumorske aktivnosti (Jiang i sur., 2014).

Wu i suradnici proučavali su antitumorski učinak etanolnog ekstrakta dudovog svilca (BBE) na HeLa stanice koristeći test vijabilnosti stanice, fragmentaciju DNA, lančanu reakciju polimeraze u stvarnom vremenu (*engl.* real-time PCR) i Western blot. Uočeno je da ekstrakt inhibira rast i inducira apoptozu HeLa stanica, dok je MTT testom zapaženo da ekstrakt inducira programiranu staničnu smrt ovisnu o vremenu i koncentraciji. Inhbitorna koncentracija BBE (IC_{50}) iznosila je 1.564 mg/ml kada su stanice tretirane tijekom 48 sati. Mikroskopijom je utvrđeno da su HeLa stanice deformirane i sporo rastu, a tretiranjem s 5 mg/ml BEE kroz 36 sati, uočena je povećana fragmentacija DNA. Pretpostavljeno je da je proapoptotska aktivnost BEE posljedica njegove sposobnosti da mijenja ekspresiju gena Bcl-2 i Bax. Razina ekspresije mRNA i proteina Bax gena bila je značajno veća, dok je razina ekspresije Bcl-2 gena bila niža od one u stanicama kontrolne skupine, što je dovelo do povećanog omjera Bax/Bcl-2 u stanicama tretiranim s BBE kroz 36 sati. Sve navedeno upućuje da etanolni ekstrakt dudovog svilca reguliranjem ekspresije Bcl-2 i Bax i posljedičnim induciranjem apoptoze ima važnu ulogu u supresiji tumorskog rasta humanih stanica raka vrata maternice (Wu i sur., 2015).

Proučavana je i povezanost etanolnog ekstrakta dudovog svilca i indukcije apoptoze humanih stanica raka želuca SCG-7901 korištenjem MTT testa, protočne citometrije, praćenjem morfoloških promjena i fragmentacije DNA, a ekspresija Bcl-2, Bax i P21 mjerena je Western blotom i lančanom reakcijom polimeraze (PCR). Ekstrakt je pokazao citotoksični, o vremenu i koncentraciji ovisan učinak na stanice SGC-7901. Nakon tretiranja ekstraktom koncentracije 6 mg/ml, mikroskopiranjem je zapaženo da je većina SCG-7901 stanica smanjena, izobličena i raste sporije. Dvostrukom imunohistokemijskom metodom korištenjem aneksina-V-fluoresceina i propidij jodida javljaju su rane i kasne apoptotske stanice, vidljive konfokalnom laserskom pretražnom mikroskopijom i protočnom citometrijom. Analiza staničnog ciklusa pokazala je da BEE inducira prekid stničnog ciklusa u fazama G1 i G2, dok DNA fragmentacija sugerira da BEE vodi stanice ka apoptozi. Koristeći qRT-PCR (kvantitativna reverzno transkripcijska PCR u stvarnom vremenu) i Western blot uočeno je da su mRNA i proteinska ekspresija Bax i P-21 značajno regulirane prema gore, dok je ekspresija Bcl-2 regulirana prema dolje nakon tretiranja BBE-om tijekom 24 sata. Istraživanjem je otkrivena povezanost genske regulacije i apoptoze inducirane BBE-om, što ukazuje na potencijal BBE-a u terapiji tumora (Wu i sur., 2017).

Antiagregacijsko djelovanje

Novi peptid, nazvan BB oktapeptid izoliran je iz ukrućenog dudovog svilca korištenjem gel filtracije, ionske izmjene i obrnuto fazne tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti. Elektrosprej ionizacijom određena mu je molekulska masa od 558 Da, a sekvenca Asp-Pro-Asp-Ala-Asp-IIe-Leu-Gln određena je Edmanovom degradacijom. Kako bi se odredila bioaktivnost, peptid je kemijski sintetiziran korištenjem Fmoc metode na čvrstoj fazi (*engl*. Fmoc solid-phase synthesis method). BB oktapeptid je inhibirao agregaciju trombocita induciranu u zečeva korištenjem kolagena i adrenalina, pri čemu je inhibitorna koncentracija, IC_{50}, iznosila 91.14 μM za kolagen i 104.50 μM za adrenalin. Intravenskom primjenom u dozi 30 mg/kg kroz 4 dana, BB oktapeptid je pokazao *ex vivo* učinkovitost inhibicije agregacije trombocita sličnu onoj aspirina u dozi 10 mg/kg. Također je u modelu plućne tromboembolije spriječio paralizu i smrt i značajno smanjio nastanak željezovim (III) kloridom uzrokovanih ugrušaka u štakora, a opažena je i blaga citotoksičnost u staničnom modelu (Kong i sur., 2014). Navedena svojstva predstavljaju novootkriveni BB oktapeptid kao važnu kariku u dizajnu novih antiagregacijskih lijekova.

Zaštitni učinak na astrocite i antioksidativno djelovanje

In vitro je proučavana zaštitna uloga vodenog ekstrakta dudovog svilca prema astrocitima izloženim citotoksičnom djelovanju amiloid beta 23-25 peptida temeljem mikroskopskih opažanja i mjerenja aktivnosti laktat dehidrogenaze te je također ispitivano njegovo djelovanje na antioksidativne enzime u kulturi astrocita. Smrt stanice uzrokovana amiloidom beta 23-25 spriječena je tretiranjem vodenim ekstraktom droge, pri čemu je učinak bio ovisan o dozi, a koncentracije od 10^{-6}-10^{-7} g/ml pokazale su značajno djelovanje. Nakon izlaganja amiloidu beta 23-25, antioksidativni enzimi poput katalaze, superoksid dismutaze (SOD), glutation peroksidaze (GSH-Px) i glutation S transferaze (GST) pokazali su smanjenu aktivnost. Kada je ekstrakt dudovog svilca dodan takvim tretiranim enzimima, jedino je aktivnost superoksid dismutaze porasla, što bi mogao biti rezultat njegovog antioksidativnog djelovanja. Taj zaštitni učinak ukazuje da vodeni ekstrakt ima ulogu u kontroli stvaranja slobodnih radikala, ali i da amiloid beta 23-25 nije samo induktor lipidne peroksidacije, već uzrokuje i promjene na antioksidativnim enzimima. Zaključeno je da ekstrakt inhibicijom lipidne peroksidacije i zaštitnim djelovanjem na antioksidativne enzime djeluje protektivno na kulturu astrocita izloženu amiloidu beta 23-25 (Kim i sur., 2001).

Neuroprotektivni učinak

Utvrđeno je da ekstrakt dudovog svilca može spriječiti ili smanjiti neurotoksični *in vitro* učinak N-metil-D-aspartata (NMDA), koji je agonist glutamata i učinak alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionske (AMPA) i kainičke kiseline u hipokampusu. Kada su u primarne kulture hipokampusa izložene djelovanju NMDA (koncentracije 0.1, 1, 10 i 50 nM/ml) prethodno dodani ekstrakti dudovog svilca koncentracije 0, 1, 2, 5 i 10 μg/ml tijekom 6-8 sati, uočeno je zaštitno djelovanje i spriječena je toksičnost uzrokovana NMDA-om. Ekstrakt dodan istovremeno ili jedan sat nakon NMDA imao je slabiji, ali i dalje značajan protektivni učinak. Ekstrakt koncentracije 10 μg/ml štitio je neurone u kulturi i od neurotoksičnog djelovanja AMPA-e (25 μM) i kainičke kiseline (1 mM). Budući da se otpuštanje glutamata smatra uzrokom neuralnih oštećenja nakon ishemije mozga, ovi rezultati sugeriraju da bi ekstrakt dudovog svilca mogao imati značajnu ulogu u zaštiti mozga od takvih oštećenja (Koo i sur., 2003).

4.1.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Bombyx Batryticatus

(僵蚕, Jiāngcán)

LARVA DUDOVOG SVILCA

Osušeni dudov svilac čini osušeno tijelo 4. i 5. stadija larve *Bombyx mori* Linnaeus, uginule zbog prirodne ili umjetne infekcije gljivicom *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill ant. Droga se obično skuplja u proljeće ili jesen te suši.

Opis: cilindričan, obično zaobljen i smežuran, 2-5 cm dug, 0,5-0,7 cm širok u promjeru. Izvana sivkastožut, prekriven bijelim praškastim micelijima i konidijama. Okruglaste glave, s osam parova nogu, istaknutih članaka, repni dio ponešto nesrazmjeran. Čvrste, ali krhke, lako lomljive strukture. Jednakog presjeka, bijelog perifernog sloja, srednjeg dijela s četiri svjetlosmeđa ili svjetlocrna koluta svilnih žlijezda. Blago neugodnog mirisa te slankastog okusa.

Identifikacija: prašak: sivkastosmeđ. Miceliji gotovo bezbojni, u tankom sloju prijanjaju uz tijelo. Slomljeni dijelovi trahealnog zida blago zaobljeni ili u obliku luka, sa smeđim ili tamnosmeđim zavojitim filamentima. Površina epidermisa s isprepletenim smežuranim brazdama i malim šiljastim izbočinama nastalima od brazdi, sa zaobljenim dlačnim jamicama žutih rubova. Dlačice žute ili žućkastosmeđe, glatke površine, ponešto zadebljalog zida. Neprobavljeni ostaci lišća duda uglavnom sadrže grupe ili prizme kalcijeva oksalata.

Strane tvari: ne više od 3,0 posto (2301).

Voda: ne više od 13,0 posto (0832, metoda 2).

Ukupni pepeo: ne više od 7,0 posto (2302).

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini: ne više od 2.0 posto (2302).

Aflatoksini: izvršiti metodu za određivanje aflatoksina (2351), ne više od 5 μg/kg aflatoksina B_1 i ne više od 10 μg/kg ukupnih aflatoksina G_2, G_1, B_2 i B_1.

Ekstrakti: izvršiti metodu za određivanje ekstrakata topljivih u etanolu (2201, metoda vruće ekstrakcije), koristeći razrijeđeni etanol kao otapalo, ne manje od 20,0 posto.

Pripremljeni dijelovi

Obrada: *Bombyx batryticatus:* oprati i osušiti, ukloniti strane tvari.

Opis i identifikacija: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Ekstrakti: prema zahtjevu za neobrađenu drogu

Bombyx batryticatus (*pržen uz miješanje*): očišćeni Bombyx batryticatus pržiti uz miješanje kao što je opisano za metodu prženja uz miješanje s mekinjama (0213) dok površina ne postane žuta.

Svojstva i okus: neutralan, slan, oštar.

Meridijanski tropizam: tropizam prema jetri, plućima i želucu.

Djelovanja: gasi vjetar, zaustavlja konvulzije, rastjeruje vjetar, olakšava bol, rješava sluz i remeti povezanost.

Indikacije: vjetar i sluz u jetri, napadaji i konvulzije, akutne konvulzije u djece, tetanus, vjetrom-uzrokovan udar sa zakrenutim očima i ustima, glavobolja povezana s vlažnim vjetrom, crvenilo očiju, bolno grlo, svrbež i rubeola, gnojni parotitis, zaušnjaci.

Primjena i doziranje: 5-10 g.

Čuvanje: čuvati na suhom mjestu, zaštićenom od moljaca.

4. 2 Scolopendra - Wúgōng, 蜈蚣

Slika 3. Scolopendra, *Scolopendra subspinipes*
(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Scolopendridae

Vrsta: *Scolopendra subspinipes*

Hrvatski naziv: kineska crvenoglava striga

Engleski naziv: centipede, scolopendra

4.2.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: topla

Okus: oštar

Veza s organima: jetra

Smjer djelovanja: padajući

Mjesto djelovanja: dubinski, iznutra, izvana

Djelovanja/indikacije:

Gasi unutarnji vjetar: grčevi, konvulzije, epilepsija, konvulzije u djece, opistotonus, kap

Smiruje tremor i konvulzije: konvulzije, grčevi, tremor

Dezinficira i detoksicira: čirevi, ozljede koje ne zacjeljuju, rane, zmijski ugriz (topikalna primjena)

Olakšava bol: bolni opstruktivni sindrom, spastični bolovi

Raspršuje vlažni vjetar: čirevi, ozljede koje ne zacjeljuju, oticanje limfnih čvorova, bolni opstruktivni sindrom

Odvodi vlažnu vrućinu: ozljede koje ne zacjeljuju, rane

Raspršuje hladnoću: jaki grčevi uzrokovani unutarnjom hladnoćom, bolovi, bolni opstruktivni (bi) sindrom

Toksičnost: može uzrokovati alergijske reakcije. Predoziranje: mučnina, povraćanje, bol u trbuhu, proljev, letargija, palpitacije, bradikardija, dispneja koja vodi u hipotenziju, gubitak svijesti. Može se koristiti za liječenje difterije.

Kombinacije:

- sa Scorpio (*quan xie*), Bombyx batryticatus (*jiang can*), Unicariae ramulus cum uncis (*gou teng*) za unutarnji vjetar s grčevima, lomove, opistotonus, akutne ili kronične napadaje u djece, tetaniju, parezu
- s Glycyrrhizae radix (*gan cao*) za zmijski ugriz, rane, ozljede (koristiti kao gips pomiješan s pčelinjim voskom)
- sa crnim čajem za čireve na stopalima, za gangrenu (izvana)
- sa Gastrodiae rhizoma (*tian ma*), Bombyx batrycatus (*jiang can*), Chuanxiong rhizoma (*chuan xiong*) kod bolnih opstrukcija, ustrajnih glavobolja

Kompatibilnost: toksičnost se smanjuje s kuhinjskom soli, uz Mori cortex

Kontraindikacije: problemi s krvi, manjak krvi

Upotreba u trudnoći: zabranjena (Hempen i Fischer, 2009)

4.2.2 Kemijski sastav

Kemijske sastavnice droge dobivene od vrste *Scolopendra subspinipes mutilans* su (Fang i sur., 1999; Undheim i sur., 2015; Bajpai i sur., 2017) su:

- masne kiseline, lipidi
- aminokiseline, peptidi, proteini (skolopin 1 i 2, skolopendin 1 i 2, skolopendrasin I, II i VII)
- polisaharidi
- 3,8-dihidroksikinolin (jineol)

4.2.3 Znanstveno dokazani učinci

Antimikrobno djelovanje

RNA sekvenciranjem identificiran je novi antimikrobni peptid izoliran iz strige koji je nazvan skolopendin te su istraženi molekularni mehanizmi antimikrobne aktivnosti. Pokazalo se da skolopendin ima antimikrobni učinak prema nekoliko patogenih mikroorganizama, pri čemu ne uzrokuje hemolizu ljudskih eritrocita. Nadalje, poremećaji membranskog potencijala, oslobađanje kalija iz citosola i povećana propusnost membrane sojeva *Candida albicans* i *Escherichia coli* O157 detektirani su upotrebom 3,3'-dipropiltiakarbocijanin jodid [DiSC3(5)] boje, testom propuštanja kalija te analizom priljeva propidij jodida, redom, nakon tretiranja skolopendinom. Liposomi su poslužili kao modeli stanične membrane. Propuštanje kalceina i FITC (fluorescein izotiocijanatom) označenog dekstrana iz golemih i velikih unilamelarnih vezikula tretiranih skolopendinom dokazuje da skolopendin oštećuje membranu mikroorganizama stvaranjem pora promjera 2,3-3,3 nm (Lee i sur., 2015).

Antimikrobni peptid skolopendrasin VII, izoliran iz otrova vrste *Scolopendra subspinipes mutilans* stimulirao je polimerizaciju aktina i posljedičnu kemotaksiju makrofaga. Mehanizam djelovanja je putem aktivacije ERK (ekstracelularnim signalom regulirana kinaza) signalnog puta i protein kinaze B. Kemotaksija je izostala kada su makrofagi tretirani ciklosporinom H, koji je antagonist formil peptid receptora (FPR1), a za koji se skolopendrasin VII izravno veže i tako aktivira migraciju makrofaga (Park i sur., 2015).

Proučavan je antibakterijski potencijal 8-dihidroksikinolina (jineola) izoliranog iz *Scolopendre subspinipes mutilans* na patogene bakterije prisutne u hrani: *Escherichia coli* O157:H7 i *Staphylococcus aureus* KCTC-1621. Jineol je u koncentraciji 50 μL, što odgovara 250 μg/disku, pokazao značajnu antimikrobnu aktivnost, pri čemu je promjer zone inhibicije iznosio 11,6-13,6 mm, minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) iznosila je 62.5-125 μg/mL, a minimalna baktericidna koncentracija 125-250 μg/mL. Na antibakterijsko djelovanje jineola ukazali su i smanjena vijabilnost bakterijskih stanica, povećano oslobađanje kalijevih iona i materijala koji se apsorbira na 260 nm, što je uočeno kod oba patogena. Također su primijećene promjene u morfologiji stanica *E. coli* O157:H7 i *S. aureus* KCTC-1621 kada su tretirane jineolom u minimalnoj inhibitornoj koncentraciji, što predstavlja jineol kao učinkovitu molekulu u suzbijanju patogena iz hrane (Bajpai i sur., 2017)

Kako bi se shvatio mehanizam djelovanja antimikrobnog peptida skolopendina, proučavana je morfologija stanice i mjerene su koncentracije kalcijevih iona u citosolu i mitohondriju stanica tretiranih skolopendinom. Pokazalo se da su stanice smanjene, a homeostaza kalcija

narušena i u citososolu i u mitohondriju, što je dovelo do narušavanja membranskog potencijala mitohondrija i razine citokroma. Fungalne stanice tretirane skolopendinom pokazale su nekoliko mehanizama apoptoze: nakupljanjem reaktivnih kisikovih vrsta, izloženošću fosfatidilserinu, kondenzacijom kromatina ili fragmentacijom jezgre te aktivacijom metaksapaza, što govori u prilog skolopendinu kao novom antifungiku (Lee i sur., 2017).

Protutumorsko djelovanje

Ma i suradnici istraživali su mehanizam antitumorskog djelovanja etanolnog ekstrakta *Scolopendre subspinipes mutilans* (AECS) prateći vijabilnost stanica, stanični ciklus i apoptozu. Rezultati upućuju da AECS inhibira proliferaciju A375 humanih melanoma stanica na način ovisan o dozi i vremenu. Otkriveno je da AECS zaustavlja stanični ciklus u S fazi, što je praćeno povišenim razinama ciklina E i smanjenim razinama ciklina D1 (Ma i sur., 2014).

Ustanovljen je i snažniji učinak alkoholnog ekstrakta Scolopendre (AECS) na stanice koje eksprimiraju receptor za epidermalni faktor rasta (EGFR). Dokazano je da se ekstrakt, kao i gefitinib kompetitivno veže na EGFR. U kulturi stanica, AECS je djelovao kao jaki induktor apoptoze u A431 i HEK293/EGFR staničnim linijama. Smatra se da AECS mijenja aktivnost EGFR kinaze i smanjuje fosforilaciju EGFR, a time obustavlja staničnu signalizaciju posredovanu AKT i Erk 1/2. Moduliranje EGFR signalnog puta i induciranje apoptoze mehanizmi su kojima AECS ispoljava svoje antitumorsko djelovanje (Ma i sur., 2015).

Polisaharidno-proteinski kompleks (SPPC) proučavan je zbog njegovih antitumorskih svojstava u sarkoma S180 i hepatoma H22 miševima. Rezultati su pokazali da je SPPC znatno zaustavio rast S180 stanica i produljio život miševa s H22 stanicama. U miševa sa S180 stanicama javio se specifičan i nespecifičan imunološki odgovor, što se očitovalo kao porast aktivnosti NK stanica i citotoksičnih T limfocita te povećan omjer Th1/Th2 citokina i povećan postotak CD4(+) T stanica, B stanica i NK stanica. Nadalje, SPPC je inhibirao ekspresiju mRNA i proizvodnju imunosupresivnih citokina IL-10 i TGF-β te smanjio sktivnost COX-2 i CYP4A enzima i njihovih produkata (PGE(2) i 20-HETE) u tumorskim makrofagima. Navedeno sugerira da SPPC koči tumorski rast *in vivo* jačanjem imunosnog odgovora i predstavlja potencijalni antitumorski lijek imunomodulatornog djelovanja (Zhao i sur., 2012).

4.2.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Scolopendra

(蜈蚣, Wúgōng)

KINESKA CRVENOGLAVA STRIGA

Drogu čini osušeno tijelo *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch (Fam Scolopendridae). Životinja se hvata u proljeće ili ljeto, probode od glave do repa bambusovim štapom te se suši.

Opis: spljoštenog letvičastog oblika, 9-15 cm dugačka, 0,5-1 cm široka. Sastoji se od glave i trupa podijeljenog u 22 kolutića. Glava tamnocrvena ili crvenkastosmeđa, ponešto sjajna, prekrivena pločastim pokrovom gotovo kuglastog oblika, prednji kraj blago strši, na sebi ima par čeljusnih nogu i par ticala na obje strane. Prvi kolutić trupa s leđne strane bojom jednak pločastom pokrovu glave, ostalih 20 leđnih pločica smećkastozelene ili crnkastozelene, sjajne, obično s dvije uzdužne izbrazdane linije od četvrte do dvadesete pločice. Trbuh svjetložut ili smećkastožut, naboran; svaki kolutić ima po par žutih ili crvenkastosmeđih, a ponekad žućkastobijelih nogu za hodanje građenih poput kuke. Zadnji par nogu za hodanje nalik repu, također znan kao uropod, lako otpada. Krhke teksture, lomi se duž pukotina. Miris blago smrdljiv, s karakterističnim nadražujućim mirisom, okus oštar, blago slan.

Voda: ne više od 15,0 posto (0832, metoda 2).

Ukupni pepeo: ne više od 5,0 posto (2302).

Aflatoksini: provesti metodu za određivanje aflatoksina (2351), ne više od 5 μg/kg aflatoksina B_1 i ne više od 10 μg/kg ukupnih aflatoksina G_2, G_1, B_2 i B_1.

Ekstrakti: provesti metodu za određivanje ekstrakata topljivih u etanolu (2201, metoda vruće ekstrakcije), koristeći razrijeđeni etanol kao otapalo, ne više od 20,0 posto.

Pripremljeni dijelovi

Obrada: ukloniti bambusov štap, oprati, peći na laganoj vatri te narezati na komade.

Aflatoksini: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Svojstva i okus: topli; oštar; otrovni.

Meridijanski tropizam: jetreni meridijani.

Djelovanja: gasi vjetar, zaustavlja konvulzije, deblokira ogranke meridijana, olakšava bol, istjeruje toksine.

Indikacije: unutarnje miješanje vjetrova jetre, grčevi i konvulzije, febrine konvulzije, udar uzrokovan vjetrom s iskrivljenjem usta, hemiplegija, tetanus, uporni poremećaj bi-a

uzrokovan vlažnim vjetrom, migrena, opća glavobolja, rane i čirevi, oticanje vratnih žlijezda, ubodi insekata i ugrizi crva i zmija.

Primjena i doziranje: 3-5 g.

Mjere opreza i upozorenja: kontraindicirano u trudnoći.

Čuvanje: čuvati na suhom mjestu zaštićenom od moljaca i plijesni.

4.3 Scorpio - Quánxiē, 全蝎

Slika 4. Scorpio, *Scorpio martensii*
(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Buthidae

Vrsta: *Scorpio martensii*, *Buthus martensii* Karsch, *Mesobuthus martensii* Karsch

Hrvatski naziv: kineski (azijski) škorpion, zlatni kineski škorpion

Engleski naziv: scorpion

4.3.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: neutralna

Okus/priroda: oštar, slan; toksičan

Veza s organima: jetra

Smjer djelovanja: padajući

Mjesto djelovanja: dubinski, iznutra, površinski/izvana

Djelovanja/indikacije:

Gasi vjetar: sluzavi vjetar: grčevi, konvulzije u djece, epilepsija, hemiplegija zbog udara uzrokovanog vjetrom, pareza lica, jaka glavobolja

Smiruje tremor i konvulzije: grčevi, konvulzije u djece, tetanija, tikovi, epilepsija

Olakšava bol: spastička neuralgija, neuralgija trigeminusa

Raspršuje vlažni vjetar: glavobolja, bolni udovi i zglobovi

Odvodi vlažnu vrućinu: rane, ozljede, otekline (također za vanjsku primjenu)

Deblokira kanale: bol, hemiplegija, kronični artritis, bolni opstruktivni sindrom, reumatoidni artritis, grčevi, rani stadiji deformacija, ukočeni zglobovi, tremor

Toksičnost: pri korištenju u terapeutskim dozama nisu zapažene nuspojave ili toksičnost. *Predoziranje* (30-60 g): vrtoglavica, groznica, znojenje, pojačano slinjenje, curenje iz nosa, suzenje, ukočen jezik, mučnina, napadaji, dispneja, tahikardija, unutarnje krvarenje, plućni edem i depresija disanja

Kombinacije:

- sa Scolopendrom (wu gong) i Bombyx batryticatus (jiang can) za grčeve u mišićima, krutost, trzanja, opistotonus, konvulzije, epileptične napadaje
- sa Isatidis folium (*da qing ye*), Coptidis rhizoma (*huang lian*) za napadaje, konvulzije, grčeve uz visoku temperaturu
- s Cicadae periostracum (*ghan tui*), Arisaematis rhizoma praeparata (*zhi tian nan xing*), Cinnabaris (*zhu sha*) kod ukočeosti, grčeva, krutosti, opistotonusa
- s Bombyx batrycatus (*jiang can*), Uncariae ramulus cum uncis (*gou teng*) i Gastrodiae rhizoma (*tian ma*) kod pareze lica uzrokovane udarom vjetra
- s Gardeniae fructus (*zhi zi*) za rane, oticanje zbog toksina, oticanje limfnih čvorova, oticanje žlijezda (koristiti kao gips pomiješan s pčelinjim voskom)
- s Angelicae sinensis radix (*dang gui*), Chuanxiong rhizoma (*chuan xiong*) i Angelicae dahuricae radix (*bai zhi*) za glavobolju, bolni opstruktivni sindrom čitavog tijela

- s Typhonii rhizoma praeparatum (*bai fu zi*) i Bombyx batrycatus (*jiang can*) za unutarnji vjetar, hemiplegiju, udar uzrokovan vjetrom

Kontraindikacije: problemi s krvi, manjak krvi

Upotreba u trudnoći: zabranjena (Hempen i Fischer, 2009)

4.3.2 Kemijski sastav

Glavne bioaktivne sastavnice kineskog škorpiona su brojni peptidi izolirani iz njegovog otrova koji nastaje u otrovnoj žlijezdi (Wang i sur., 2015).

4.3.3 Znanstveno dokazani učinci

Učinak na epilepsiju

Spazmolitički prah, smjesa jednakih omjera škorpiona i strige, od davnina se u TCM koristi za liječenje epileptičnih napadaja. Pretjerana ekspresija P-glikoproteina (Pgp) u krvno-moždanoj i krvno-likvornoj barijeri smatra se mehanizmom rezistencije na lijekove korištene u terapiji epilepsije. U modelu epilepsije otporne na lijekove štakorima su davani topiramat i verapamil te niske, srednje i visoke doze spazmolitičkog praha intragastrično kroz tjedan dana. U svrhu detektiranja učestalosti epileptičkih izbijanja i ekspresije mdr1 (multi-drug resistance gene-1) RNA i Pgp u hipokampusu i temporalnom režnju, upotrijebljeni su elektroencefalogram, lančana reakcija polimeraze u stvarnom vremenu i imunohistokemijske metode. Rezultati su pokazali da se napadaji znatno smanjuju u grupi koja je dobivala srednje i visoke doze spazmolitičkog praha i u topiramatnoj grupi. Također je ustanovljeno da je razina ekspresije mdr1 mRNA i Pgp u hipokampusu i temporalnom režnju smanjena u usporedbi s kontrolnom skupinom. Iz navedenog proizlazi kako je inhibicija ekspresije Pgp-a vjerojatni mehanizam antiepileptičkog djelovanja spazmolitičkog praha (Chen i sur., 2013).

Iz otrova škorpiona *Buthus martensii* izoliran je antiepileptički protein, sastavljen od 66 aminokiselina i molekularne mase 8290. Farmakološke studije su pokazale da u miševa sprječava epilepsiju potaknutu koriaria laktonom i cefaloridinom, bez neželjenih djelovanja na srčanu frekvenciju i krvni tlak životinja (Wang i sur., 2015).

Protutumorsko djelovanje

Proučavan je učinak seruma dobivenog iz škorpiona na epitelno-mezenhimsku tranziciju i metastaziranje hepatocelularnog karcinoma (HCC). Pokazalo se da serum inhibira

proliferaciju, inducira apoptozu te smanjuje migraciju i invazivnost Hepa 1-6 stanica *in vitro*. Usporedno je zapaženo da vodeni dekokt škorpiona ograničava rast i metastaziranje tumora u golih miševa s hepatocelularnim karcinomom. Daljnja istraživanja pokazala su da bi škorpion mogao suprimirati epitelno-mezenhimsku tranziciju, što je karakterizirano povišenim epitelnim markerom E-kadhedrinom i sniženim N-kadhedrinom te smanjenom ekspresijom Snail transkripcijskog faktora *in vivo* i *in vitro* (Yan i sur., 2018).

Inhibicijom migracije glioma stanica dokazan je antitumorski učinak, za što je zaslužan klorotoksinu-sličan peptid, blokator kloridnih kanala izoliran iz otrovne žlijezde. Peptid AGAP-SYPU2 pokazao je *in vivo* protutumorsko djelovanje na Ehrlichovom modelu ascitesa i S-180 fibrosarkoma (Wang i sur., 2015).

Djelovanje na reumatoidni artritis

Reumatoidni artritis induciran je u štakora injektiranjem kolagena. Štakori su dobivali ili mješavinu škorpiona i strige (SS), u koncentracijama 0,4 g/kg, 0,2 g/kg, i 0,1 g/kg ili fiziološku otopinu kroz 42 dana. T limfociti i anti kolagen tip II antitijela mjereni su u perifernoj krvi, a faktor nekroze tumora (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-4 (IL-4) i interleukin-10 (IL-10) u homogenatu tkiva zglobova. Uočeno je da su upala i oštećenje zgloba značajno smanjeni u skupini tretiranoj SS praškom, koji je regulirao ravnotežu T limfocita, snizio razine TNF-α, IL-1β i anti kolagen tip II antitijela, a povisio razine protuupalnih citokina IL-4 i IL-10 (Liu i sur., 2012).

Antinociceptivno djelovanje

Škorpion i njegovi ekstrakti mogli bi se koristiti za umirenje živaca i olakšavanje bolova uzrokovanih meningitisom, cerebralnom paralizom i reumatizmom. Do danas je u otrovu škorpiona pronađen velik broj analgetskih peptida, poput IT2, BmK dITAP3, AngP1, BmK AGP-SYPU1, BmK AGP-SYPU2, BmK AGAP i dr. Istraživanja na miševima pokazala su kako peptidi s analgetskim djelovanjem imaju velik potencijal u liječenju boli, i za razliku od opioida, ne izazivaju ovisnost (Wang i sur., 2015).

Antimikrobno djelovanje

Antimikrobni peptidi amfifilnih svojstava djeluju na G^+ i/ili G^- bakterije, a najnovija istraživanja sugeriraju *in vitro* i *in vivo* antimikrobnu aktivnost (Wang i sur., 2015).

4.3.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Scorpio

(全蝎, Quánxiē)

KINESKI ŠKORPION

Drogu čini osušeno tijelo *Buthus martensii* Karsch (Fam. Buthidae). Droga se sakuplja od kraja proljeća do početka jeseni, ukloni se zemlja, kuha se u ključaloj slatkoj ili slanoj vodi dok se tijelo ne ukruti, izvadi iz vode, stavi na prozračeno mjesto te suši u hladu.

Opis: glavopršnjak i preabdomen spljošteni, dugi i elipsoidni, postabdomen poput repa, smežuran i zakrivljen, tijelo netaknute životinje otprilike 6 cm dugačko. Glavopršnjak zelenkastosmeđe boje, s prednjeg dijela se izdiže par malih i kratkih kliješta i par dugačkih i velikih čeljusnih nožica nalik štipaljkama rakova. Leđni dio prekriven ljestvičastim oklopom, trbušni dio s 4 para člankovitih nogu za hodanje te s kliještima na distalnom kraju. Preabdomen se sastoji od 7 kolutića, od kojih je 7. tamne boje i s 5 grebenastih spinalnih linija na leđnoj ploči. Leđna strana zelenkastosmeđa, postabdomen smećkastožut, sa 6 kolutića, s uzdužnim brazdama na svakom. Telson (posljednji kolutić) nosi oštru bodlju bez potpornja. Blago smrdljivog mirisa, slanog okusa.

Identifikacija: prašak: žućkastosmeđ ili blijedosmeđ. Vanjski epidermis dijelova tijela u obliku mnogokutnih brazdi nalik mreži, sa sićušnim gustim zrncima, dlačnim jamicama, s finim okruglim rupicama, vidljive blijedosmeđe ili prozirne bradavice. Unutarnji epidermis bezbojan, s poprečnim prugama, nekoliko sićušnih kanalića različitih dužina koji se protežu kroz unutarnji i vanjski epidermis. Sete (sitne dlačice) crvenksatosmeđe, uglavnom pokidane, šiljate ili tupe na krajevima, s ravnim uzdužnim brazdama, medularna šupljina slobodna i tanka. Vlakna prugastih mišića većinom pokidana, svijetle pruge šire od tamnih. Svaka svijetla pruga s tamnom linijom, tamne pruge s gustim kratkim uzdužnim brazdama.

Aflatoksini: provesti metodu određivanja aflatoksina (2351), ne više od 5 μg/kg aflatoksina B_1 i ne više od 10 μg/kg ukupno aflatoksina B_2, G_2 i B_1.

Ekstrakti: provesti metodu određivanja ekstrakata topljivih u etanolu (2201, metoda vruće ekstrakcije), koristeći razrijeđeni etanol kao otapalo, ne manje od 20,0 posto.

Pripremljeni dijelovi

Obrada: ukloniti strane tvari, oprati i osušiti.

Opis i identifikacija: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Aflatoksini: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Ekstrakti: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Svojstva i okus: neutralno; oštro; otrovno.

Meridijanski tropizam: jetreni meridijani.

Djelovanja: gasi vjetar, uklanja konvulzije, deblokira ogranke meridijana, olakšava bol, potiskuje toksine i raskida povezanost.

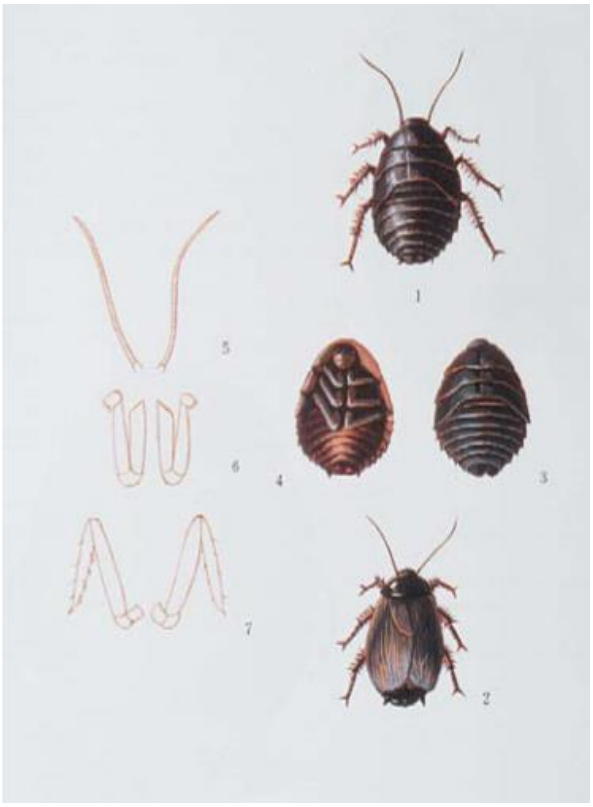
Indikacija: unutarnje miješanje vjetrova jetre, konvulzije, febrilne konvulzije, vjetrom-uzrokovan udar s iskrivljenjem usta, hemiplegija, tetanus, poremećaj bi-ja uzrokovan vlažnim vjetrom, migrena i opća glavobolja, rane i čirevi, oticanje vratnih žlijezda.

Primjena i doziranje: 3-6 g.

Mjere opreza i upozorenja: kontraindicirano u trudnoći.

Čuvanje: čuvati na suhom mjestu zaštićenom od moljaca.

4.4 Eupolyphaga - Tǔbiēchóng, 土鳖虫



Slika 5. Eupolyphaga

(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Blattidae

Vrsta: *Eupolyphaga sinensis, Steleophaga planyi*

Drugi naziv: *Steleophaga*

Hrvatski naziv: kineski žohar

Engleski naziv: ground beetle, wingless cockroach, eupolyphaga

4.4.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: hladna

Okus: slan

Veza s organima: jetra, srce, slezena

Smjer djelovanja: dubinski

Mjesto djelovanja: iznutra, kanali

Djelovanja/indikacije:

Prekida stazu krvi: amenoreja, bol nakon poroda, opipljivi abdominalni tumori, nakon ozljeda, utrnut i nateknut jezik

Pokreće krv: menstrualni poremećaji, napetost, čvrstina, hematomi, nakon nesreća

Razara i rastapa nakupine: miomi, neoplazme, opipljivi abdominalni tumori

Ozljede, hematomi i rane: posljedice nesreća, ozljede, nagnječenja, lomovi, potiče cijeljenje mišića i tetiva

Toksičnost: izuzetno jaka droga koja prekida stazu krvi, može oštetiti qi: kombinirati s tonificirajućim drogama. Blago toksično: mogu se pojaviti bradikardija i alergijske reakcije. *Nuspojave*: umor, mučnina, vrtoglavica, iritacije probavnog sustava. Topikalna primjena: kontaktni dermatitis

Kombinacije:

- s Rhei rhizoma (*da huang*), Hirudo (*shui zhi*), Tabanus (*meng chong*) za amenoreju, opipljive mase
- uz Rhei rhizoma (da huang), Persicae semen (tao ren) za dismenoreju, postpartalnu bol
- uz Sparganii rhizoma (*san len*) i Moutan cortex (*mu dan pi*) za opipljive abdominalne tumore
- s Curcumae radix (*yu jin*), Notoginseng radix (*san qi*), Gigeriae galli endothelium corneum (*ji nei jin*) za bolnu hepatomegaliju, bol u epigastriju
- s Typhae pollen (*pu huang*), Trogopterori faeces (*wu ling zhi*) za amenreju, bol i opipljive mase
- uz Pyritum (*zi ran tong*), Myrrhae (*mo yao*) i Olibanum (*ru xiang*) za ozljede i lomove

Kontraindikacije: nedokazana staza krvi

Upotreba u trudnoći: zabranjena (Hempen i Fischer, 2009)

4.4.2 Kemijski sastav

Animalna droga koja se dobiva iz vrsta Eupolyphaga i Steleophaga bogat je izvor esencijalnih aminokiselina, proteina (eupolitin 1-5), masnih kiselina, vitamina i minerala. Izolirani su i oktakozanol, beta sitosterol i alantoin (Lu i Jiang, 1992; Tang i sur., 2010; Wang i sur., 2012).

4.4.3 Znanstveno dokazani učinci

Protutumorski učinak

Cilj istraživanja bio je kemijski odrediti sastav etanolnog ekstrakta Eupolyphage (ESSE) te njegova antitumorska i imunomodulatorna djelovanja. Etanolni ekstrakt davan je miševima kroz 14 dana u niskim (31 mg/kg), srednjim (62 mg/kg) i visokim (124 mg/kg) dozama,

nakon implantacije stanica karcinoma jetre, te je izmjerena težina tumora. ELISA-om su mjerene serumske koncentracije TNF-α i IFN-γ, a imunohistokemijskim metodama određene su proteinske ekspresije Bax, Bcl-2 i kaspaza-3. Kemijskom analizom saznalo se kako ekstrakt čini 6 sastojaka, među kojima prevladavaju masne kiseline (97,55 %). Zaključeno je kako oralna primjena ESSE inhibira rast tumora, potiče stvaranje Th1 citokina (TNF-α i IFN-γ), inducira apoptozu moduliranjem omjera Bax/Bcl-2 i aktivacijom kaspaza-3, bez toksičnog djelovanja u dozi 62 mg/kg (Ge i sur., 2012).

Proučavana je inhibicija proliferacije na A549 humanim ne-malim stanicama karcinoma pluća i mehanizam u podlozi. Za ekstrahiranje Eupolyphage korišteni su 70 %-tni i 95 %-tni etanol i destilirana voda. MTT testom utvrđeno je da 70 %-tni ekstrakt najsnažnije reducira rast A549 stanica te je korišten u daljnjim istraživanjima. Znatno je inhibirao migraciju A549 stanica na način ovisan o koncentraciji i dozi i inhibirao proliferaciju i migraciju humanih endotelnih stanica umbilikalne vene (HUVECs). Učinkovito je spriječio stvaranje novih krvnih žila u modelnom tkivu za angiogenezu, kao i autofosforilaciju KDR-a (transmembranski tirozin kinazni receptor), što je spriječilo posljedičnu aktivaciju AKT-a i kinaze regulirane izvanstaničnim signalom (Erk1/2) u A549 stanicama (Dai i sur., 2014).

Antitumorski protein, EPS72, veličine 72 kDa dobiven je iz Eupolyphage taloženjem amonijevim sulfatom, ultrafiltracijom i kromatografskim metodama. EPS72 je pokazao antitumorsku aktivnost prema A5499 staničnoj liniji humanog raka pluća, a IC_{50} vrijednost iznosila je 18,76 μg/mL. Daljnjim istraživanjima pokazalo se da EPS72 može potaknuti odvajanje i apoptozu A549 stanica, spriječiti njihovu adheziju na fibronektin i kolagen tip IV i ograničiti migraciju i invazivnost te smanjiti ekspresiju β1-integrina, što sugerira da bi zahvaljujući svojoj antimetastatskoj aktivnosti EPS72 mogao biti potencijalni novi antitumorski lijek (Wang i sur., 2014).

Učinak 70 %-tnog etanolnog ekstrakta *Eupolyphaga sinensis* (ESWE) na proliferaciju stanica karcinoma dojke istražen je *in vitro* te *in vivo* na animalnom modelu. Western blotom se analizirala ekspresija ERK1/2, CXCR4, matriksne metaloproteinaze 2 i 9 nakon tretiranja s ESWE. Pokazalo se da ESWE učinkovito inhibira proliferaciju stanica *in vitro* i ima antitumorski učinak u modelnih miševa. Također je smanjio ekspresiju Erk1/2, ključne molekule MAPK signalnog puta, kao i ekspresiju CXCR4 i matriksnih metaloproteinaza (Zhan i sur., 2016).

Antitrombotsko djelovanje

Iz Eupolyphage izoliran je spoj eupolitin1 koji djeluje izravno fibrin(ogen)olitički i otporan je na antiplazmin. Na animalnom modelu dokazano je da eupolitin posjeduje snažno i brzo trombolitičko djelovanje te je siguran za primjenu *in vivo,* djelujući bolje od urokinaze. U zečeva nisu uočene komplikacije s krvarenjem čak ni u intravenskoj dozi od 0,12 μmol/kg. Po prvi put zabilježeno je kako trombolitički spoj ima i izravno fibrin(ogen)olitičko i plazminogen-aktivirajuće djelovanje (Yang i sur., 2011).

Ista istraživačka skupina proteomikom i analizom transkriptoma identificirala je 105 serinskih proteaza iz Eupolyohage. Farmakološka ispitivanja pokazala su da 5 serinskih proteaza (eupolitin 1-5) ima svojstvo hidrolize fibrin(ogen)a i aktivacije plazminogena i predstavlja potencijalne nove antitrombotike (Wang i sur., 2012).

Utjecaj na cirkulaciju krvi

Refleksna simpatička distrofija je kronična neuropatska bol koja se javlja nkon ozljeda mekog tkiva i kosti, odnosno ozljede živca. U TCM se veže uz stazu vitalne energije i krvi, a očituje se crvenilom, povišenom temperaturom, znojenjem, edemima šaka i stopala i srednje jakom boli. Kliničko istraživenje obuhvatilo je 58 oboljelih nasumično podijeljenih u dvije skupine. Ispitivana skupina dobivala je mješavinu droga u kineskoj medicini tradicionalno korištenih za aktiviranje cirkulacije krvi i jačanje mišića i kostiju: Caesalpinia Sappan 10 g, Ligusticum Chuanxiong 6 g, Frankincense 6 g, Angelica 10 g, Šafranika 6 g, Mira 6 g, Eupolyphaga 10 g, Araliaceae 3 g, Radix Paeoniae Rubra 10 g, Pericarpium Citri Reticulatae 5 g, zelen Hydrocotyle sibthorpioides 15 g, Manis Pentadactyla 10 g, Corydalis Yanhusuo 10 g, Rhizoma Drynariae 15 g. Mješavina je davana u obliku dekokta kroz 10 dana, zajedno s mješavinom za istezanje mišića i aktiviranje cirkulacije: Lycopodium Japanicum Grass 10 g, Gentiana Macrophylla Pall 10 g, Radix Angelicae Pubescentis 10 g, Angelica 10 g, Uncaria 10 g, Frankincense 6 g, Mira 6 g, šafranika 6 g, koja je služila za inhaliranje i ispiranje udova. Kontrolna skupina dobivala je placebo. Nakon 30 dana VAS skalom boli dokazano je kako se bol smanjila za 3,8±0,8 bodova u tretiranoj, odnosno 1,0±0,3 boda u kontrolnoj skupini. Volumen otečenih udova također se značajnije smanjio u ispitivanoj skupini: za 21,8±2,5 ml prema 10,3±2,1 ml u kontrolnoj skupini (Xu i sur., 2009).

Imunomodulacijsko djelovanje

Dokazano je da vodeni dekokt vrste *Eupolyphaga sinensis* pokazuje imunomodulacijski učinak *in vivo*. U miševa koji su tijekom 4 tjedana primali vodeni ekstrakt u dnevnim dozama 1,89, 3,78 i 7,56 g/kg, dokazano je da ekstrakt može stimulirati odgovor kod zakašnjele preosjetljivosti te ojačati imunološku funkciju životinja (Tang i sur., 2010).

Yaotongning (YTN), lijek tradicionalne kineske medicine, sastoji se od 10 droga i vina kineske riže kao veziva. Zbog svojeg protuupalnog i analgetskog djelovanja koristi se u liječenju reumatoidnog artritisa. Cilj istraživanja bio je procijeniti *in vitro* učinak deset aktivnih sastojaka YTN-a na stanični imunosni odgovor, odrediti koje sastavnice imaju najjači učinak te usporediti taj učinak s onim ostalih droga korištenih u terapiji reumatoidnog artritisa u TCM. Otpuštanje interleukina-1β (IL-1β), interleukina-6 (IL-6), i faktora nekroze tumora-α (TNF-α) iz ANA-1 murinskih makrofaga mjereno je ELISA testom. Pokazalo se da su saponini *Gycyrrhize uralensis* i vodeni ekstrakt *Eupolyphage sinensis* najjači pokretači otpuštanja IL-1β, IL-6 i TNF-α iz ANA-1 stanica, odnosno aktiviranja imunosnog odgovora, Rezultati pokazuju da bi se receptura YTN-a mogla modificirati uklanjanjem pojedinih sastavnica, bez da se izgubi učinak na stanični imunosni odgovor (Ni i sur., 2016).

4.4.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Eupolyphaga

(土鳖虫, Tǔbiē chóng)

KINESKI ŽOHAR

Drogu čini osušeno tijelo ženke *Eupolyphage sinensis* Walker ili *Steleophage plancyi* (Boleny). Droga je skupljena, ubijena kipućom vodom te osušena na suncu ili pečenjem.

Opis: *tijelo Eupolyphagae sinensis:* ovalno i spljošteno, 1,3-3 cm dugačko, 1,2-2,4 cm široko, prednji kraj relativno uzak, a stražnji relativno širok, leđna strana ljubičastosmeđa, sjajna, bez krila. Prednji dio prsišta s leđne strane razvijen, prekriva glavu, zadak građen od 9 preklapajućih segmenata. Trbušna površina crvenkastosmeđa. Relativno male glave, s parom vlaknastih ticala, koja obično odbacuje. Na prsištu su 3 para nogu s finim dlačicama i bodljama. Zadak s poprečno prstenastim segmentima. Labave i krhke, lako lomljive strukture. Smrdljivog mirisa, slankastog okusa.

tijelo Steleophage plancyi: 2,2-3,7 cm dugačko, 1,4-2,5 cm široko. Leđna strana crnosmeđa, sa žućkastosmeđim mrljama i crnim točkama uz rubove.

Identifikacija: (1) Prašak: sivkastosmeđ. Dijelovi tijela tamnosmeđi ili žuti, vidljive nepravilne brazde, dlačice kratke i debele ili uske, najčešće prijanjaju uz površinu, vidljive dlačne jamice, nastale od otpalih dlačica, okrugle, 5-32 μm u promjeru, dlačice smećkastožute ili žute, šiljastog ili tupog vrha, 12-270 μm duge, 10-32 μm u promjeru, neke s ravnim uzdužnim brazdama. Izbrazdana mišićna vlakna bezbojna ili svjetložuta, obično pokidana, s gustim poprečnim ravnim ili blago valovitim prugama, pri čemu su svijetle vrpce šire od tamnih.

(2) 1 gramu praška dodati 25 ml metanola, staviti u ultrazvučnu kupelj na 30 minuta, filtrirati, filtrat upariti do suha. Ostatak otopiti u 5 ml metanola, što čini ispitivanu otopinu. Pripremi se otopina 1 grama standardizirane droge Eupolyphage ili Steleophage na isti način, što predstavlja referentnu otopinu. Izvesti tankoslojnu kromatografiju (0502), koristeći silikagel G kao stacionarnu i smjesu toluena, diklormetana i acetona (5:5:0,5) kao mobilnu fazu. Odvojeno nanijeti na ploču po 10 μl pripremljenih otopina. Nakon razvijanja i uklanjanja, ploču sušiti na zraku. Ispitati pod UV svjetlom na 365 nm. Fluorescentne mrlje u kromatogramu dobivenim ispitivanom otopinom odgovaraju položajem i bojom kromatogramu dobivenim referentnom otopinom. Poprskati s TS otopinom vanilina u sumpornoj kiselini i grijati na 105°C do vidljivih mrlja. Mrlje u kromatogramu dobivenim ispitivanom otopinom odgovaraju položajem i bojom kromatogramu dobivenim referentnom otopinom.

Strane tvari: ne više od 5,0 posto (2301).

Voda: ne više od 10,0 posto (0832, metoda 2).

Ukupni pepeo: ne više od 13,0 posto (2302).

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini: ne više od 5,0 posto (2302).

Ekstrakti: provesti metodu za određivanje ekstrakata topljivih u vodi (2201, metoda vruće ekstrakcije), ne manje od 22,0 posto.

Svojstva i okus: hladno; slano; blago otrovno.

Meridijanski tropizam: jetreni meridijani.

Djelovanja: uklanja hemostazu, ponovno povezuje tetive i kosti.

Indikacije: traumatske ozljede, ozljede tetiva i lomovi, amenoreja povezana s hemostazom, postporođajna bol uzrokovana hemostazom i opstrukcijom, mase, ukočenost.

Primjena i doziranje: 3-10 g.

Mjere opreza i upozorenja: kontraindicirano u trudnoći.

Čuvanje: čuvati na suhom prozračnom mjestu, zaštićeno od moljaca.

4.5 Mel - Fēngmì, 蜂蜜

Slika 6. Mel

(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Hrvatski naziv: pčelinji med

Engleski naziv: bee honey

4.5.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: neutralna

Okus: slatki

Veza s organima: slezena, pluća, debelo crijevo

Smjer djelovanja: silazni

Mjesto djelovanja: "srednji plamenik" – slezena, želudac, jetra, žućni mjehur

Djelovanja/indikacije:

Tonificira i nadopunjuje qi: umor, gubitak apetita, slabost, gubitak daha, proljev

Vlaži suhoću: smanjenje tekućina uzrokovano vrućim patogenom ili starošću, konstipacija, suhi kašalj, suho grlo

Ekcemi, opekline, ulceracije: izvana za opekline, ulceracije, zastoje poput mastitisa

Toksičnost: alergijske reakcije opažene u djece; urtikarija, gastrointestinalne smetnje

Kombinacije:

- s Paeoniae radix lactiflora (*bai shao*), Glycyrrhizae radix (*gan cao*), Cinnamomi cassiae ramulus (*gui zhi*) i Zingiberis rhizoma (*gan jiang*) za bol u trbuhu
- sa Aconiti radix lateralis praeparata (*zhi fu zi*) za bol uzrokovanu hladnoćom, hernijom
- uz Rehmanniae radix (*sheng di huang*), Cervi cornu (*lu rong*) i Zingiberis rhizoma (*gan jiang*) za manjak krvi i yina (tekućina)
- sa Zingiberis rhizoma recens (*sheng jiang*) za kronični kašalj
- sa Perillae fructus (*zi su zi*), Zingiberis rhizoma recens (*sheng jiang*), Rehmanniae radix (*sheng di huang*) i Armeniacae semen (*xing ren*) za kronični kašalj
- s Ginseng radix (*ren shen*), Rehmanniae radix (*sheng di huang*) i Poria (*fu ling*) za kronični kašalj s krvavim iskašljajem
- uz Angelicae sinensis radix (*dang gui*) i Sesami semen nigricum (*hei zhi ma*) za konstipaciju uzrokovanumanjkom krvi
- sa Scrophulariae radix (*xuan shen*), Anemarrhenae rhizoma (*zhi mu*) i Rehmanniae radix (*sheng di huang*) za konstipaciju uzrokovanu manjkom yina
- uz Aurantii fructus (*zhi ke*), Armeniacae semen (*xing ren*) i Aquilariae lignum (*chen xiang*) kod konstipacije sa stagnacijom qi-ja

Kontraindikacije: koristiti s oprezom u slučaju vlage, sluzi i rijetke stolice, proljeva, pri osjećaju težine i punoće u trbuhu

Upotreba u trudnoći: dozvoljena (Hempen i Fischer, 2009)

4.5.2 Kemijski sastav

Kemijski sastav pčelineg meda karakterizira prisutnost šećera, proteina, aminokiselina, enzima, organskih kiselina, vitamina, minerala, fenola i hlapljivih spojeva (da Silva i sur., 2016).

4.5.3 Znanstveno dokazani učinci

Zacjeljivanje rana

Uloga meda u cijeljenju rana proučavana je na 104 slučajeva umjetno izazvanih opeklina. Polovica pacijenata topikalno je tretirana medom, a druga polovica gazom sa sulfadiazin

srebrom. U prvoj skupini pacijenata je nakon sedam dana rana bila sterilna kod 91 %, a u drugoj skupini kod njih 7 %. Zdravo granulacijsko tkivo pojavilo se šest dana ranije u grupi liječenoj medom. Zbog ublažavanja boli, smanjene vjerojatnosti nastanka hipertrofičnih ožiljaka, dostupnosti i niske cijene, med predstavlja izvrsno sredstvo za tretiranje opeklina (Subrahmanyam, 1991).

Isti autor uspoređivao je učinak gaze natopljene medom i poliuretanskog filma na cijeljenje opeklina kod 46 pacijenata podjeljenih u dvije skupine. Pokazalo se da je vrijeme cijeljenja iznosilo 10,8 dana za gazu natopljenu medom, odnosno 15,3 dana za poliuretanski film (Subrahmanyam, 1993).

Vardi i suradnici istraživali su djelovanje meda na otvorene, inficirane rane djece, koje nisu zacjeljivale nakon 14 dana intravenske primjene antibiotika i čišćenja 0,05 %-tnim klorheksidinom. Nakon peterodnevne primjene 5-10 ml neprerađenog meda dvaput dnevno, primijećen je klinički napredak, a nakon 21 dana rane su bile potpuno zatvorene i sterilne (Vardi i sur., 1998).

Antimikrobni učinak

Na medije koji sadrže različite koncentracije meda nasađeni su uzorci mikobakterija uzgojenih u kulturi ili dobivenih iz razmaza zaraženih pacijenata. Pokazalo se da mikobakterije ne rastu u mediju s 10 i 20 % meda, dok su u medijima s 5, 2,5 i 1 % meda rasle (Asadi-Pooya i sur., 2003).

Tridesetsedam pacijenata s različitim gljivičnim infekcijama (pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis i tinea faciei) tretirano je lokalno, na oboljelim područjima, mješavinom meda, pčelinjeg voska i maslinovog ulja (1:1:1) triput dnevno kroz 4 tjedna. Poboljšanje simptoma zapaženo je kod 86 % pacijenata s pityriasis versicolor, 78 % pacijenata s tineom cruris i njih 75 % s tineom corporis, a izlječenje je nastupilo kod njih 75, 71 i 62 % redom za p. versicolor, t. cruris i t. corporis. U oboljelog od tinee faciei do izlječenja je došlo nakon 3 tjedna terapije (Al-Waili, 2004).

Topikalni učinak meda u usporedbi s onim aciklovira proučavan je u 16 pacijenata s povijesti ponovljenih infekcija genitalnog (8) i labijalnog (8) herpesa. Kod labijalnog herpesa tretiranog medom, prosječno trajanje infekcije, boli, pojava kraste i prosječno vrijeme cijeljenja bilo je 35, 39, 28 i 43 % bolje u odnosu na liječenje aciklovirom. Za genitalni herpes isti parametri bili su 53, 50, 49 i 59 % bolji u odnosu na tretman aciklovirom. Kod dva pacijenta s labijalnim i jednog pacijenta s genitalnim herpesom zabilježena je potpuna remisija nakon terapije medom, dok kod aciklovira nije bilo potpune remisije. Krasta se

stvorila u 3 pacijenta s labijalnim i 4 pacijenta s genitalnim herpesom liječenim medom, te kod svih pacijenata liječenih aciklovirom. Nisu zabilježene nuspojave liječenja medom, dok se lokalni svrbež javio u 3 pacijenta na terapiji aciklovirom (Al-Waili, 2004).

Čajna žličica mješavine meda i sjemenki crnog kima (*Nigella sativa*), nazvana Dosin, davana je pacijentima s pozitivnim izdisajnim testom na *H. pylori* triput dnevno kroz 14 dana. Nakon tretmana, 57,1 % (8/14) pacijenata imalo je negativan izdisajni test, a zabilježeno je i znatno smanjenje simptoma dispepsije, bez značajnijih neželjenih reakcija (Hashem-Dabaghian i sur., 2016).

Jednostrano slijepo kliničko ispitivanje obuhvatilo je 106 pacijentica s kliničkom slikom i pozitivnim nalazom vaginalne kandidijaze. Polovici je davana krema s klotrimazolom, a polovici gel s medom te su praćene promjene prije, 4 i 8 dana nakon terapije. Statistička obrada pokazala je da su se nakon svakog intervala smanjili simptomi te da nije bilo značajne razlike u broju pacijentica s poboljšanjem stanja u skupini koja je dobivala gel s medom i skupini koja je dobivala kremu s klotrimazolom. Stoga se smatra da med može biti korišten kao alternativa ili adjuvans ostalim antifungalnim lijekovima (Seifinadergoli i sur., 2017).

Ranomizirano kontrolirano ispitivanje kojim je obuhvaćeno 86 pacijenata imalo je za cilj usporediti učinkovitost meda i mupirocina u liječenju nazalne infekcije MRSA-om. Pacijenti su dobivali ili med medicinske kakvoće ili 2 %-tni mupirocin triput dnevno kroz pet dana. Rezultati su pokazali kako nema značajne razlike u broju izliječenih pacijenata tretiranih medom ili mupirocinom (Poovelikunnel i sur., 2018).

Gastroprotektivno djelovanje

Zbog vjerovanja kako med ima sukralfatu sličan učinak, proučavano je njegovo djelovanje na ishemijsko-reperfuzijska oštećenja želuca štakora. Štakori su izloženi ishemiji želuca uz 100 mM HCl kroz 30 minuta te reperfuziji u trajanju 60 minuta. Intraluminalno krvarenje opažano je makroskopski, a lezije želuca procijenjene su korištenjem inverznog mikroskopa. Vaskularna permeabilnost mjerena je spektrofotometrijskim određivanjem ekstravazirane Evans blue boje u želucu, a neproteinski sulfhidrili određeni su spektrofotometrijski. Luminolom poboljšana kemiluminiscencija korištena je za procjenu antioksidativnog učinka meda in vitro. Rezultati su pokazali znatno veću pojavnost želučanih lezija, jače intraluminalno krvarenje i ekstravazaciju Evans plave boje te pojačano trošenje neproteinskih sulfhidrila u razdoblju reperfuzije, u odnosu na kontrolnu skupinu. Premedikacija s 0,078-0,625 g/kg meda oralno ili 0,02-0,08 g/kg dimetil sulfoksida intraperitonealno 30 minuta prije ishemije i reperfuzije, smanjilo je nastanak lezija i intraluminalno krvarenje, kao i vaskularnu

permeabilnost. Med je poništio trošenje neproteinskih sulfhidrila uzrokovano ishemijom i reperfuzijom te spriječio kemiluminescenciju potpomognutu luminolom u sustavu ksantin/ksantin oksiaza te se smatra da učinak duguje antioksidativnim svojstvima (Ali i sur., 1997).

Gastroprotektivan učinak različitih vrsta meda i mješavine glukoze, fruktoze, saharoze i maltoze (GFSM) proučavan je u štakora kojima su ozljede želučane sluznice inducirane 100 %-tnim etanolom, indometacinom i zakiseljenom acetilsalicilnom kiselinom (ASA-HCl). Uz prethodnu administraciju 2,5 g/kg meda, smanjene su hemoragijske ozljede mukoze. Pokazalo se da je zaštitni učinak meda i GFSM mješavine gotovo stopostotan prema lezijama uzrokovanim etanolom, a iznosio je 87 % prema onima uzrokovanim zakiseljenom acetilsalicilnom kiselinom. Učinak prema lezijama uzrokovanim indometacinom ovisio je o vrsti pripravka: najbolji učinak pokazao je med od jedne vrste cvijeća (64,0 %), slabiji učinak med od više vrsta cvijeća (55,2 %), a najslabije djelovanje imala je GFSM mješavina (41,1 %). Perfuzija želuca izotoničnim medom uzrokovala je 70 %-tno smanjenje površine zahvaćene lezijama uzrokovanim djelovanjem etanola, spriječila je etanolom uzrokovan pad razlike transmuralnog potencijala i povećala bazalno i otpuštanje kiseline potaknuto histaminom (Gharzouli, i sur., 2002).

Studija slučajeva i kontrola obuhvatila je 100 albino štakora podijeljenih u pet grupa. Prvoj grupi dana je tragakant guma i ona je predstavljala kontrolnu skupinu, A. U ostalih 80 štakora djelovanjem 0,2 mg/kg acetilsalicilne kiseline kroz tri dana induciran je čir želuca. Po dva štakora iz svake skupine žrtvovana su kako bi se detektirali čirevi. Preostale 72 životinje podijeljene su u 4 grupe, B, C, D i E, kojima su davani sjemenke crnog kima (NS), prirodni med (NH) i cimetidin (CD), redom, dok skupina E nije primala nikakav lijek. U skupini A nisu opažene lezije, dok su životinje skupine E razvile čir želuca. U 15/18 (83 %), 14/18 (78 %) i 17/18 (94 %) životinja iz skupina B, C i D došlo je do poboljšanja stanja, a mikroskopski je dokazan oporavak u 13/18 (72 %), 14/18 (78 %) i 16/18 (89 %) štakora pripadnika istih skupina. Učinak zacjeljivanja čireva bio je gotovo isti u sve tri skupine, iz čega proizlazi kako je učinkovitost sjemenki crnog kima i prirodnog meda usporediva s onom cimetidina u liječenju čireva želuca (Bukhari i sur., 2011).

4.5.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Mel

蜂蜜, Fēngmì

MED

Med je slatka tekućina koju odlažu vrste *Apis cerana* Fabricus ili *Apis mellifera* Linnaeus (Fam. Apidae). Droga se skuplja od proljeća do jeseni, te se filtrira.

Opis: djelomično providan, sjajan i ljepljiv, bijel do blijedožut ili narančastožut do žućkastosmeđ, bijeli zrnasti kristali odvajaju se stajanjem ili hlađenjem. Aromatičnog mirisa, vrlo slatkog okusa.

Relativna gustoća: na vodenoj kupelji temperature niže od 60 °C rastaliti eventualno prisutne kristale, dobro promiješati. Ohladiti na 2 °C i provesti metodu za određivanje relativne gustoće (0601), koja treba iznositi ne manje od 1,349.

Voda: ne više od 24,0 posto (0622, metoda za određivanje indeksa loma). Kapnuti 1-2 kapi (rastaliti na vodenoj kupelji temperature niže od 60 °C ako je došlo do kristalizacije) na prizmu. Abbe refraktometar povezati s vodenom kupelji i održavati temperaturu na 40±0,1 °C, korigirati indeks loma na 1,3305 sa svježe prokuhanom ohlađenom vodom, izmjeriti indeks loma i izračunati kako slijedi:

$$X=100-[78+390,7\ (n-1,4768)]$$

X je sadržaj vode u uzorku (%)

n je indeks loma uzorka na 40,0 °C

Kiselost: pomiješati 10 g droge s 50 ml svježe prokuhane i ohlađene vode, dodati 2 kapi fenolftaleina IS i 4 ml otopine natrijeva hidroksida (0,1 mol/L), nastaje ružičasto obojenje prisutno 10 sekundi.

Škrob i dekstrin: prokuhati 2 g droge u 10 ml vode, ohladiti i dodati kap joda TS, pri čemu ne nastaje plavo, zeleno ni crvenkastosmeđe obojenje.

Oligosaharidi: staviti 2 g praha u čašu, otopiti u 10 ml vode te polako nanijeti na kolonu za ekstrakciju na čvrstoj fazi pripremljenu s aktiviranim ugljenom (staviti sito na dno prazne kolone i fiksirati kolonu). Pomiješati 0,2 g dijatomejske zemlje s nešto vode, slamkom nanijeti na kolonu te pustiti da se kolona napuni slojem debelim 3 mm. Otvoriti spojenu vakuumsku pumpu, na kolonu slamkom nanijeti smjesu 0,5 g aktiviranog ugljena i 10 ml vode, pustiti da se aktivirani ugljen raspodijeli pod vakuumom. Kada je sloj vode blizu sloja aktiviranog ugljena, ponovno dodati 0,2 g smjese dijatomejske zemlje i vode, ponovno isprati kolonu s 25 ml vode brzinom 1 kap u sekundi pod vakuumom. Kada je voda 2 mm iznad

kolone, isključiti klip i pritisnuti pločicu sa sitom za kasniju upotrebu, uključiti klip i vakuumsku pumpu, propustiti otopinu kroz kolonu. Kada se voda spusti na 2 mm od površine kolone, isprati s 25 ml 7 %-tnog etanola, odbaciti eluat pa isprati s 10 ml 50 %-tnog etanola, skupiti eluat i upariti do suha na vodenoj kupelji temperature 65 °C pod smanjenim tlakom. Ostatak otopiti u 1 ml 30 %-tnog etanola, što predstavlja ispitivanu otopinu. Otopiti maltopentozu CRS u 30 %-tnom etanolu kako bi se dobila otopina 1 mg/ml, što predstavlja poredbenu otopinu. Izvesti metodu za tankoslojnu kromatografiju (0502) koristeći silikagel G kao stacionarnu i mješavinu n-propanola, vode i trietilamina (60:30:0.7) kao mobilnu fazu. Nanijeti odvojeno po 3 µl pripremljenih otopina. Nakon razvoja i uklanjanja ploče, sušiti na zraku i poprskati smjesom fenilamina, difenilamina i fosfatne kiseline (1 gramu difenilamina, 1 ml fenilamina i 5 ml fosfatne kiseline dodati acetona do 50 ml i dobro promiješati), grijati dok se mrlje ne osuše i pregledati na danjem svjetlu. Na kromatogramu ispitivane otopine ne bi trebale biti vidljive mrlje ispod odgovarajuće mrlje na kromatogramu poredbene otopine.

5-hidroksimetilfurfural: izvesti metodu za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (0512).

Kromatografski sustav i prikladnost sustava: koristiti oktadecilsilil silikagel kao stacionarnu fazu i mješavinu acetonitrila i 0,1 %-tne mravlje kiseline (5:95) kao mobilnu fazu. Valna duljina detekcije iznosi 284 nm za 5-hidroksimetilfurfural i 254 nm za vernin (gvanozin). Broj teorijskih tavana kolone nije manji od 3000, izračunato s obzirom na pik vernina.

Poredbena otopina: otopinti vernin (gvanozin) CRS u 10 %-tnom metanolu da se dobije otopina koncentracije 0,2 mg/ml. Otopiti 5-hidroksimetilfurfural CRS u 1 %-tnom metanolu da se dobije otopina koncentracije 0,4 µg/ml za određivanje položaja.

Ispitivana otopina: precizno odvagati 1 g praha u čašu, otopiti u 10 %-tnom metanolu, prenijeti u odmjernu tikvicu od 50 ml, dodati 1 ml poredbene otopine gvanozina, razrijediti s 10 %-tnim metanolom do oznake i dobro promiješati.

Postupak: precizno injektirati 10 µl ispitivane otopine u kolonu, odrediti i izračunati sadržaj. Precizno injektirati po 10 µl referentnih otopina 5-hidroksimetilfurfurala i gvanozina, tim redoslijedom, kako bi se odredio položaj pikova gvanozina i 5-hidroksimetilfurfurala iz ispitivane otopine. Izračunati sadržaj gvanozina i pomnožiti s korekcijskim faktorom 0,340. Sadrži ne više od 0,004 posto 5-hidroksimetilfurfurala.

Saharoza i maltoza: izvesti metodu navedenu pod *Testovi*, izračunati sadržaje. Sadrži najviše 5,0 posto saharoze te najviše od 5,0 posto maltoze.

Testovi: izvesti metodu za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (0512).

Kromatografski sustav i prikladnost sustava: koristiti kolonu Prevail Carbohydrate ES (Alltech®) i mješavinu acetonitrila i vode (75:25) kao mobilnu fazu. Kao detektor se koristi diferencijalni refraktometar. Broj teorijskih tavana kolone nije manji od 2000, izračunato prema piku fruktoze.

Kalibracijska krivulja: precizno odvagati 1,0 g fruktoze CRS i 0,8 g glukoze u Erlenemeyerovu tikvicu s ubrušenim čepom, dodati 20 ml 40 %-tnog acetonitrila i dobro promiješati. Pripremljena otopina predstavlja temeljnu standardnu otopinu fruktoze i glukoze. Precizno odvagati 0,2 g saharoze CRS i 0,82 g maltoze CRS u Erlenemeyerovu tikvicu s ubrušenim čepom, dodati 10 ml 40 %-tnog acetonitrila i dobro promiješati. Pripremljena otopina predstavlja temeljnu standardnu otopinu saharoze i maltoze. Precizno odmjeriti pripremljene temeljne poredbene otopine, razrijediti s 40 %-tnim acetonitrilom, kako bi se dobio niz referentnih otopina četiriju šećera različite koncentracije. Potrebni volumeni temeljnih poredbenih otopina i volumeni razrjeđenja za svaku koncentraciju dani su kako slijedi:

N	Temeljna poredbena otopina fruktoze i glukoze (ml)	Temeljna poredbena otopina saharoze i maltoze (ml)	Volumen razrjeđenja (ml)	Koncentracija (mg/ml) u pomiješanim temeljnim poredbenim otopinama			
				Fruktoza	Glukoza	Saharoza	Maltoza
1	1.0	0.125	5	10	8	0.5	0.5
2	3.0	0.5	10	15	12	1.0	1.0
3	2.0	0.5	5	20	16	2.0	2.0
4	5.0	2.0	10	25	20	4.0	4.0
5	3.0	1.5	5	30	24	6.0	6.0

Precizno injektirati 15 µl i odrediti svaku pomiješanu temeljnu poredbenu otopinu. Izraditi kalibracijsku krivulju, na apscisu ucrtati koncentracije, na ordinatu površinu pika te odrediti pravac regresije.

Ispitivana otopina: precizno odvagati 1 g praška u Erlenemeyerovu tikvicu s ubrušenim čepom, dodati 20 ml 40 %-tnog acetonitrila i dobro promiješati, filtrirati i koristiti nastali filtrat kao ispitivanu otopinu.

Postupak: precizno injektirati 15 µl ispitivane otopine u kolonu, odrediti i izračunati sadržaj koristeći kalibracijsku krivulju. Sadrži ne manje od 60,0 posto fruktoze ($C_6H_{12}O_6$) i glukoze ($C_6H_{12}O_6$), a omjer fruktoze i glukoze nije manji od 1,0.

Svojstva i okus: neutralno; slatko.

Meridijanski tropizam: plućni, slezenini i meridijani debelog crijeva.

Djelovanja: tonificira središnje aktivatore, vlaži suhoću, olakšava bol, uklanja toksine; topikalna primjena: potiče obnovu tkiva i zacjeljivanje rana.

Indikacije: bol uzrokovana nedostatkom, bol u epigastriju i trbuhu, suhi kašalj uzrokovan suhoćom pluća, konstipacija uzrokovana suhoćom crijeva, trovanje alkaloidom akonitinom; topikalna primjena: za rane i čireve koji ne zacijeljuju, opekline.

Primjena i doziranje: 15-30 g.

Čuvanje: čuvati na hladnom mjestu.

4.6 Mantidis oötheca - Sāngpiāoshāo, 桑螵蛸

Slika 7. Mantidis oötheca, *Paratenodera sinensis*
(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Mantidae
Vrsta: *Paratenodera sinensis*
Drugi naziv: Mantidis ovorum vagina
Hrvatski naziv: jajna čahura (omot) bogomoljke
Engleski naziv: mantis egg-case

4.6.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: neutralna
Okus: slan, sladak
Veza s organima: jetra, bubreg
Smjer djelovanja: dubinski
Mjesto djelovanja: "donji plamenik"
Djelovanja/indikacije:

Tonificira yang: enureza, preuranjena ejakulacija, učestalo mokrenje, urinarna inkontinencija

Zadržava urin: enureza, enureza kod djece

Toksičnost: sirova, neprerađena droga može uzrokovati proljev

Kombinacije:

- s Corni fructus (*shan zhu yu*) i Astragali semen (*sha yuan ji li*) za bubrežne tegobe s inkontinencijom, za poliuriju, nokturiju i enurezu
- uz Polygalae radix (*yuan zhi*), Poria (*fu ling*), Codonopsis radix (*dang shen*) i Angelicae sinensis radix (*dang gui*) za enurezu ukod djece
- s Euryalis semen (*qian shi*) i Cynomorii caulis (*suo yang*) za bubrežne tegobe i spermatoreju
- s Cuscutae semen (*tu si zi*) za bubrežne tegobe sa spermatorejom, vaginalni iscjedak
- uz Ostrea concha (*mu li*), Alpiniae oxyphyllae fructus (*yi zhi ren*) i Rosae laevigatae fructus (*jin ying zi*) za nedostatak yanga u bubregu, preuranjenu ejakulaciju, enurezu kod djece
- uz Nelumbinis semen (*lian zi*) za tegobe u "donjem plameniku" s vodenastim vaginalnim iscjetkom

Kompatibilnost: poboljšano djelovanje uz Mastodi fossilium ossis (*long pu*), ograničeno uz Inulae flos (*xuan fu hua*)

Kontraindikacije: kontraindicirano uz vrućinu povezanu s nedostatkom yina, vlažni vjetar u mjehuru

Upotreba u trudnoći: dozvoljena (Hempen i Fischer, 2009)

4.6.2 Kemijski sastav

Osim strukturnih proteina, jajna čahura bogomoljke sadrži masne kiseline (oleinsku kiselinu) i druge lipidne sastavnice (seskviterpenoidi, monoterpeni) (Wang i sur., 2018).

4.6.3 Znanstveno dokazani učinci

Učinak na opuštanje krvnih žila

Svrha rada bila je istražiti mehanizam kojim vodeni ekstrakt jajne čahure bogomoljke (AMO) utječe na oslobađanje dušikovog oksida (NO) u aorti štakora i endotelnim stanicama krvnih žila. Učinak na opuštanje proučavan je na aortnim prstenima torakalne aorte prekontrahiranima djelovanjem fenilefrina, a uloge signalizacije NO-om proučavane su na humanim endotelnim stanicama umbilikalne vene (HUVECs). HUVECs obrađene s AMO

proizvele su veću količinu NO u odnosu na kontrolu, ali kada su prethodno obrađene s N^G-nitro-L-arginin metilester (L-NAME) ili vortmaninom, inhibitorom sintaze dušikovog oksida (NOS), pojačana proizvodnja NO je blokirana. AMO je povećao stupanj fosforilacije endotelne sintaze dušikova oksida (eNOS) i Akt (protein kinaza B) u HUVECs. U aortnom prstenu, AMO-om uzrokovano opuštanje aorte prekontrahirane fenilefrinom bilo je poništeno uklanjanjem funkcionalnog endotela. Predobrada s L-NAME, ^{1}H-[1,2,4]-oksadiazolo-[4,3-alfa]-kinoksalin-1-onom (ODQ, inhibitor topljive gvanilat ciklaze) i KT5823 (selektivni inhibitor protein kinaze G), spriječila je AMO-om inducirano opuštanje krvnih žila. Slično, L-NAME i LY294002, inhibitori fosfatidilinozitol-3 kinaze (PI3K), uzvodne signalne molekule eNOS-a, smanjili su vazorelaksaciju induciranu AMO-om, a predobradom L-NAME-om i ODQ-om spriječen je porast stvaranja cGMP-a. Vazorelaksirajući učinak AMO-a umanjen je djelovanjem tetraetilamonija, 4-aminopiridina i glibenklamida. AMO je opustio glatke mišiće krvnih žila putem endotel-ovisne aktivacije NO-cGMP-PKG signalnog puta, posredovane PI3K/Atk, a moguća je i uloga kalijevih kanala (Kim i sur., 2017).

Učinak na benignu hiperplaziju prostate

Randomizirano kontrolirano ispitivanje obuhvatilo je sto oboljelih od benigne hiperplazije prostate. Pokusna skupina dobivala je ZTD dekokt (Ziyin Tongbi Decoction) sastavljen od, između ostalog, korijena kineskog naprstka, kineskog jama, gorkog kardamoma, korijena crvene kadulje, podanka kurkume i jajne čahure bogomoljke dvaput dnevno po 150 ml. Kontrolnoj skupini davane su Longbishu kapsule, farmaceutski proizvod sastavljen od ploda psoraleje, srčenice i protivka dvaput dnevno po 0,9 g kroz četiri tjedna. Učinkovitost je procjenjivana olakšavanjem simptoma prema TCM (učestalost noćnog mokrenja, stupanj disurije, bol i slabost u slabinama i koljenima, rastegnutost donjeg dijela abdomena, potištenost, generalna slabost) i praćenju parametara poput testa procjene intenziteta tegoba mokrenja (I-PSS), maksimalnog protoka urina (Qmax), volumena zaostalog urina i volumena prostate. Ublažavanje simptoma opaženo je kod 89 % pacijenata u ispitivanoj i 73,46 % njih u kontrolnoj skupini. Volumen zaostalog urina u obje je skupine podjednako smanjen, dok značajnije smanjenje volumena prostate nije zabilježeno. Nekolicina pacijenata prijavila je neželjene reakcije poput želučanih tegoba i suhih usta, no to nije utjecalo na rezultat istraživanja te se ZTD pokazao kao siguran i učinkovit za liječenje benigne hiperplazije prostate (Guo i sur., 2008).

Fibrinolitički učinak

Fibrinolaza iz jajašca bogomoljke (MEF) pročišćena je iz jajne čahure frakcioniranjem amonijevim sulfatom, gel filtracijom i afinitetnom kromatografijom. Proteaza je ocijenjena homogenom SDS poliakrilamid gel elektroforezom i imala je molekulsku masu 31500 Da. Izoelektričnim fokusiranjem određena je izoelektrična točka, 6,1. Sekvenciranjem na N-terminalnom kraju određena je primarna struktura, Ala-Asp-Val-Val-Gln-Gly-Asp-Ala-Pro-Ser. MEF je smjesta razgradio alfa i beta lanac fibrinogena, dok je razgradnja gama lanca bila sporija. Nespecifično djelovanje enzima uzrok je obilne hidrolize fibrinogena i fibrina i otpuštanja različitih fibrinopeptida. Cu^{2+} i Zn^{2+} inaktivirali su enzim, fenilmetilsulfonil fluorid (PMSF) i kimostatin su ga inhibirali, dok elastinan, aprotinin, EDTA, cistein, beta-merkaptoetanol i inhibitor tripsina iz soje nisu imali učinak na MEF. Antiplazmin nije pokazao osjetljivost na MEF, a antitrombin III inhibirao je njegovu aktivnost. Među kromogenim supstratima proteaze najosjetljiviji na hidrolizu MEF-om bio je benzoil-Phe-Val-Arg-p-nitroanilid, s najjačom aktivnošću pri pH 7,0 i 30 °C. MEF je pocijepao oksidirani B lanac inzulina dominantno između Leu15 i Tyr16. Inkubacijom umreženog fibrina s MEF-om, koncentracija D-dimera je porasla, što upućuje da MEF ima snažnu fibrinolitičku aktivnost (Hahn i sur., 1999).

Nova proteaza MEF-2 izolirana je iz jajne čahure bogomoljke, homogenizirana SDS-PAGE-om, a molekulska masa iznosi 32,900 Da. Aminokiseline N-terminusa bile su Ile-Val-Gly-Gly-Glu-Glu-Ala-Val-Ala-Gly-Asp-Phe-Pro-Ile-Val-Ser-Leu-Gln-Glu. Enzim je inhibiran djelovanjem PMSF-a, aprotinina, benzamidina, inhibitora tripsina iz soje i neznatno elastinalom, EDTA, cisteinom i beta-merkaptoetanolom, dok TPCK (tosil-L fenilalanin klorometil keton), inoacetat i E-64 nisu utjecali na njegovu aktivnost. MEF-2 nije bio osjetljiv na alfa(1)-antitripsin, dok su ga antitrombin III i alfa(2)-antiplazmin inhibirali. MEF-2 pocijepao je oksidirani B lanac inzulina dominantno između Arg(22) i Gly(23). Od kromogenih supstrata proteaze, najpodložniji hidrolizi MEF-2 bio je benzoil-Phe-Val-Arg-p-nitroanilid, s najjačom aktivnošću pri pH 5,0 i 30 °C. Nakon inkubacije umreženog fibrina s MEF-2, zabilježen je postojani rast D-dimera, iz čega proizlazi kako je MEF-2 snažan fibrinolitik iz porodice tripsina, s potencijalom praktične primjene u fibrinolizi (Hahn i sur., 2001).

4.6.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Mantidis oötheca

(桑螵蛸, Sāng piāo shāo)

JAJNA ČAHURA BOGOMOLJKE

Jajnu čahuru bogomoljke čini osušena jajna čahura vrsta *Tenodera sinensis* Saussure, *Statilia maculata* (Thunberg) ili *Hierodula patellifera* (Serville) (Fam. Mantidae), znanih redom kao "Tuanpiaoxiao", "Changpiaoxiao" i "Heipiaoxiao". Droga se skuplja od kasne jeseni do proljeća, uklanjaju se strane tvari, jajašca se ubijaju parom te suši.

Opis: *Tuanpiaoxiao*: ponešto cilindrična ili polukružna, sastavljena od puno slojeva tankih, preklapajućih membrana, 2,5-4 cm dugačka, 2-3 cm široka. Izvana blijede žućkastosive boje, gornja strana s nezamjetnim vrpčastim grebenom, donja strana glatka ili žlijebasta. Lagane, labave, ali čvrste strukture. Nakon poprečnog presjeka vanjski dio spužvast, unutarnji dio s puno zrakasto poredanih ćelija, od kojih svaka sadrži sićušno elipsoidno jajašce. Jajašca tamnosmeđa i sjajna. Miris blago smrdljiv, okus slankast.

Changpiaoxiao: pomalo letvičasto oblikovana, na jednom kraju uska, 2,5-5 cm dugačka, 1-1,5 cm široka. Izvana sivkastožuta, gornja strana s nezamjetnim vrpčastim grebenom, s obje strane grebena po jedan tamnosmeđi žlijeb i nakrivljena brazda. Tvrde, ali krhke strukture.

Heipiaoxiao: ponešto četvrtastog oblika, 2-4 cm dugačka, 1,5-2 cm široka. Izvana sivkastosmeđa, gornja strana s nezamjetnim vrpčastim grebenom, s obje strane grebena nakrivljena brazda. Repni dio blago zakrivljen prema gore. Tvrde i čvrste strukture.

Identifikacija: žućkastosmeđi prašak. Fiksirati s glicerol-octenom kiselinom i mikroskopski ispitati. Vidljivo puno zrna žumanjka, okruglastih i žućkaste boje, promjera 40-150 μm, s nepravilnim granulama i jamicama na površini. Fiksirati s kloralhidratom R i mikroskopski ispitati. Dijelići vanjskog zida jajne čahure nepravilni, žućkasti do crvenosmećkasti, na površini okrugle šupljine različitih veličina, s puno štapićastih kristala limunske kiseline, dužine do 20 μm i 2-10 μm u promjeru.

Voda: ne više od 15,0 posto (0832, metoda 2).

Ukupni pepeo: ne više od 8,0 posto (2302).

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini: ne više od 3,0 posto (2302).

Pripremljeni dijelovi

Obrada: ukloniti strane tvari, temeljito opariti, osušiti. Narezati na dijelove prije upotrebe.

Svojstva i okus neutralno; slatko, slano.

Meridijanski tropizam: jetreni i bubrežni meridijani.

Djelovanja: osigurava suštinu, smanjuje mokrenje, tonificira bubrege i potpomaže yang.

Indikacije: preuranjena ejakulacija, inkontinencija mokraće, učestalo mokrenje, urin s bijelim zamućenjem.

Primjena i doziranje: 5-10 g.

4.7 Mylabris – Bānmáo, 斑蝥

Slika 8. Mylabris

(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Miloridae

Zoološki naziv: *Mylabris phalerata, M. cichorii*

Engleski naziv: mylabris, cantharides, blister beetle

4.7.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: hladna

Okus: oštar, toksičan

Veza s organima: tanko crijevo, debelo crijevo, jetra, bubreg

Smjer djelovanja: dubinski

Mjesto djelovanja: unutrašnjost, kanali

Djelovanja/indikacije:

Detoksicira i dezinficira: rane, čirevi, oticanje limfnih čvorova (vanjska primjena), ugriz psa (u obliku paste)

Prekida stazu krvi: amenoreja uzrokovana stazom krvi

Omekšava tvrdoću: opipljive, čvrste mase, oteknuća

Prekida oticanje: čvorovi, opipljive mase, tumori jetre i gastrointestinalnog sustava

Razara i rastapa nakupine: tumori jetre i gastrointestinalnog sustava, neoplazme različitog stupnja zloćudnosti

Toksičnost: jako toksično, čak i u malim dozama, koristiti kratko. Predoziranje: bol u trbuhu, suha usta, mučnina, povraćanje krvi, žarenje u ustima i grlu s čirevima, proljev, krvava stolica, dehidracija, dilatacija zjenica, smanjeno izlučivanje urina, hiperalbuminemija, aritmije, pad krvnog tlaka, cirkulatorni kolaps, delirij, koma, konvulzije. Pri lokalnoj primjeni iritacija i crvenilo, pečenje i nekroza kože; pretjerana lokalna primjena može uzrokovati dermatitis, nefritis, zatajenje bubrega i toksični šok. Doza od 30 mg može biti smrtonosna. Ne smije se koristiti dugotrajno i pretjerano

Komentar: gips od kantaridina na Zapadu se koristi za liječenje reume, artritisa, neuropatske boli. Ranije se koristio kao afrodizijak

Upozorenje: zbog svoje toksičnosti, droga se smije koristiti s velikim oprezom i samo pod nadzorom iskusnog liječnika TCM-a. Preporučene doze ne smiju se prekoračiti

Doziranje: za vanjsku upotrebu, u vrlo malim dozama za unutarnju upotrebu, najviše 0,03 g dnevno kroz kratki period

Vrijeme kuhanja: zbog velike toksičnosti, uglavnom izvana u obliku praha, u obliku tablete, dekokcija tijekom 20 minuta

Kombinacije:

- uz Alumen (ming fan) i Indigo naturalis (qing dai) za ozljede koje ne zacjeljuju
- uz Persicae semen (tao ren) i Rhei rhizoma (da huang) za amenoreju

- uz Evodiae fructus (wu zhu yu), Pinelliae rhizoma praeparata (zhi ban xia), Dioscoreae rhizoma (shan yao) i Bletillae tuber (bai ji) za karcinom jetre

Kontraindikacije: oslabljeli pacijenti

Upotreba u trudnoći: zabranjena (Hempen i Fischer, 2009)

4.7.2 Kemijski sastav

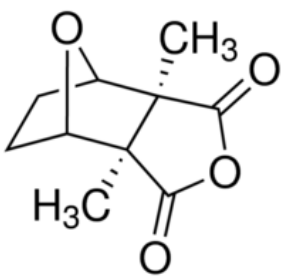
Glavna bioaktivna tvar droge je terpenski spoj kantaridin. Pored njega droga sadrži indoloctenu kiselinu, valerolaktam, indol-3-aldehid te peptide, amide masnih kiselina i druge spojeve (Xu i sur., 2004; Zeng i sur., 2016).

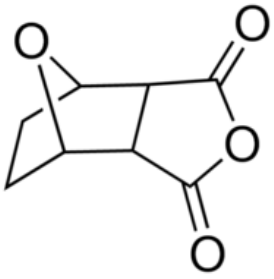
4.7.3. Znanstveno dokazani učinci

Protutumorski učinak

Proučavan je mehanizam kojim mješavina Mylabrisa inhibira rast tumora i pokazuje imunomodulacijski učinak na H22 tumorske stanice miševa. Pokazalo se da mješavina učinkovito inhibira rast tumora kod 65,76 % miševa. Stupanj transformacije T limfocita i udio NK stanica bili su znatno viši u skupini koja je dobivala mješavinu, u odnosu na kontrolu. Omjer porodica T limfocita znatnije je promjenjen u tretiranoj skupini, gdje je proizvodnja interferona γ i interleukina 4 bila viša u odnosu na kontrolnu skupinu. Zaključeno je kako mješavina Mylabrisa pojačanjem funkcije T limfocita, NK stanica i humoralne imunosti inhibira tumorski rast (Zhou i sur., 2006).

Antimetastatski učinak kantaridina (CTD), aktivne tvari izolirane iz kukca *Mylabris phalerata*, proučavan je na ljudskim melanoma stanicama A375.S2. Protočnom citometrijom mjeren je citotoksičan učinak, a test cijeljenja rana pokazao je kako CTD spriječava migraciju A375.S2 stanica na način ovisan o dozi i vremenu. Utvrđeno je da CTD sprječava i invazivnost i migraciju tumorskih stanica. Zimografija gelatinaza korištena je za procjenu aktivnosti matriksnih metaloproteinaza 2 i 9, čija je enzimatska funkcija u A375.S2 stanicama inhibirana. Western blot pokazao je kako CTD smanjuje ekspresiju, između ostalih, ERK1/2, PI3K, MMP-2 i MMP-9, COX-2, NFκB i VEGF, a potiče ekspresiju p38, JNK, p-c-jun i PKC. S obzirom na opaženo, kantaridin predstavlja potencijalni novi antitumorski lijek u terapiji melanoma (Ji i sur., 2015).





A B

Slika 9. (A) Kantaridin-aktivni spoj droge Mylabris i (B) norkantaridin, njegov demetilirani analog (preuzeto s www.sigmaaldrich.com)

Hsia i suradnici proučavali su utjecaj kantaridina (CTD) na induciranje apoptoze u H460 humanim stanicama karcinoma pluća. Protočnom citometrijom praćena je vijabilnost stanica, sub G1 faza staničnog ciklusa, proizvodnja reaktivnih kisikovih vrsta i Ca^{2+} te razina mitohondrijskog membranskog potencijala. Bojanje Aneksin V/PI i DNA gel elektroforeza također su korištene za proučavanje apoptoze. Kako bi se procijenila ekspresija proteina povezanih s apoptozom, korišten je Western blot, a za ispitivanje translociranih apoptotskih proteina korištena je konfokalna mikroskopija. Rezultati su pokazali kako CTD inducira morfološke promjene tumorskih stanica i smanjuje njihov udio. Pojava sub G1 faze i fragmentacija DNA ukazuje na činjenicu da je CTD inducirao apoptozu. Također je pokazano kako CTD povećava gensku ekspresiju kaspaza 3 i 8 te potiče stvaranje ROS i Ca^{2+}, dok razine mitohondrijskog membranskog potencijala smanjuje. CTD je pojačao i ekspresiju proteina koji se vežu uz stresni ogovor endoplazmatskog retikuluma (GRP78, IRE1α, IRE1β, ATF6α i kaspaze-4), kao i ekspresiju kalpaina 2 i XBF-1, a smanjio ekspresiju kalpaina 1 (Hsia i sur., 2014).

Antitumorski učinak norkantaridina, demetiliranog derivata kantaridina, proučavan je na ne-malim stanicama raka pluća, A549 (EGFR mutacija negativne) i PC9 (EGFR mutacija pozitivne). Norkantaridin je usporio rast stanica, zaustavio stanični ciklus u G2/M fazi, smanjio migraciju stanica i inducirao apoptozu pri koncentraciji 10 μM. Također je pojačao antitumorski učinak gefitiniba i cisplatina, te je pokazao sličan utjecaj na EGFR mutacija pozitivne i negativne stanične linije, bez utjecaja na fosforilaciju EGFR uzrokovanu EGF-om, iz čega proizlazi kako signalizacija EGFR-a možda nije meta djelovanja norkantaridina (Lee i sur., 2013).

Učinak na nefropatiju

Mužjacima Sprague-Dawley štakora intraperitonealnom injekcijom goveđeg serumskog albumina inducirana je nefropatija proteinskim preopterećenjem. Nakon devet tjedana mikroskopiranjem je utvrđeno da je došlo do infiltracije intersticija fibrozom. Norkantaridin (NCTD) u dozi 0,1 mg/dan učinkovito je smanjio proteinuriju i s njom povezanu upalu i fibrozu intersticija te smanjio ekspresiju p65 podjedinice NFκB i CTGF (faktor rasta vezivnog tkiva), što je opaženo imunohistokemijskim metodama, Western blotom i reverzno transkripcijskom PCR. Osim zbog učinka na proteinuriju, NCTD zbog svog protuupalnog i antifibrotskog djelovanja predstavlja mogući lijek za proteinuriju i s njom povezanu nefropatiju (Liu i sur., 2008).

4.7.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Mylabris

(斑蝥, Bānmáo)

MILABRIS

Mylabris je osušeno tijelo kornjaša *Mylabris phalerata* Pallas *ili Mylabris cichorii* Linnaeus (porodica Meloidae-prištilci). Droga se skuplja u ljeto ili jesen, uguši ili opari kipućom vodom i suši na suncu.

Opis: *tijelo Mylabris phalerata* duguljasto, dugačko 1,5-2,5 cm, široko 0,5-1 cm. Glava i usni dijelovi savijeni prema dolje, s parom relativno velikih složenih očiju i parom ticala koja obično otpadaju. Par kožastih elitri (hitinizirana prednja krila) na leđima, crne s po 3 žute ili smećkastožute poprečne pruge, par providnih smećkastih opnastih stražnjih krila ispod elitri. Prsište i zadak crne boje, s po tri para nogu na prsištu. Karakteristično smrdljivog mirisa.

tijelo Mylabris cichorii: relativno malo tijelo, dugačko 1-1,5 cm.

Identifikacija: u 2 g praška dodati 20 ml kloroforma, staviti u ultrazvučnu kupelj na 15 minuta i filtrirati. Filtrat upariti do suha, ostatak isprati dva puta s po 5 ml petroletera (30-60 °C), oprezno ukloniti supernatant. Talog otopiti u 1 ml kloroforma, što čini ispitivanu otopinu. Otopiti kantaridin CRS u kloroformu kako bi se dobila otopina koja sadrži 5 mg/ml, što predstavlja poredbenu otopinu. Izvesti tankoslojnu kromatografiju (0502), koristeći silikagel G kao stacionarnu fazu i mješavinu kloroforma i acetona (49:1) kao mobilnu fazu. Odvojeno nanijeti 5 µl pripremljenih otopina na ploču. Nakon razvoja i uklanjanja ploče, sušiti na zraku. Poprskati s 0,1 %-tnom otopinom bromkrezola zelenog u etanolu i grijati dok se ne vide jasne

mrlje. Mrlja na kromatogramu ispitivane otopine odgovara položajem i bojom mrlji na kromatogramu poredbene otopine.

Određivanja: izvesti metodu tekućinske kromatografije visoke djelotvorosti (HPLC) (0512).

Kromatografski sustav i prikladnost sustava: koristiti oktadecilsilil silikagel kao stacionarnu fazu i mješavinu metanola i vode (23:77) kao mobilnu fazu. Valna duljina detekcije iznosi 230 nm. Broj teorijskih tavana kolone nije manji od 3000, izračunato u odnosu na pik kantaridina.

Poredbena otopina: precizno odvagati kantaridin CRS, otopiti u metanolu da se dobije otopina koja sadrži 1 mg/ml.

Ispitivana otopina: precizno odvagati 1 g grubog praška u Erlenmeyerovu tikvicu s ubrušenim čepom, staviti na ultrazvučnu kupelj (snaga 400 W, frekvencija 40 kHz) dva puta, svaki put s 30 ml kloroforma na 15 minuta, objediniti otopine kloroforma, filtrirati, spremnik kvantitativno isprati kloroformom, spojiti ispirak s filtratom i upariti do suha. Ostatak otopiti u metanolu i prenijeti u odmjernu tikvicu od 10 ml, razrijediti s metanolom do oznake, dobro promiješati, filtrirati i koristiti filtrat kao ispitivanu otopinu.

Postupak: injektirati po 10 µl poredbene i ispitivane otopine u kolonu i izračunati sadržaj. Sadržaj kantaridina ($C_{10}H_{12}O_4$) iznosi ne manje od 0,35 posto.

Pripremljeni dijelovi

Obrada: *Mylabris:* ukloniti strane tvari.

Opis, identifikacija, određivanja: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Mylabris (pripremljen s rižom): pržiti uz miješanje dok riža ne postane žućkastosmeđa, izvaditi i ukloniti glavu, krila i noge. Na svakih 100 kg Mylabrisa dodati 20 kg riže.

Tijelo Mylabris phalerate: tijelo relativno veliko, glava, noge i krila ponekad vidljivi, crni i sjajni. Nakon uklanjanja glave, mjesto loma neravno, crno na rubovima i sivkastožuto u sredini. Hrskave, lomljive strukture. Mirisa na palež.

Tijelo Mylabris cichorii: tijelo relativno malo.

Određivanja: sadrži 0,25-0,65 posto kantaridina ($C_{10}H_{12}O_4$), slijedeći metodu za neobrađenu drogu.

Svojstva i okus: vruće; oštro, vrlo otrovno.

Meridijanski tropizam: jetreni, želučani i bubrežni meridijani.

Djelovanja: uklanja stazu krvi, remeti povezanost, uklanja toksine, zacijeljuje rane.

Indikacije: abdominalna masa, amenoreja, uporne gljivične infekcije, oteknuće vratnih žlijezda, bradavice, gnojni čirevi i celulitis bez dijabroze (erozija ili ulceracija stijenke krvne žile), zloćudni čirevi i nekroza mišića.

Primjena i doziranje: 0,03-0,06 g, obično u obliku tableta ili praška nakon obrade. Prikladna količina za topikalnu primjenu, samljeti u prah ili natopiti u vinu, likeru ili octu, ili u obliku balzama. Ne preporuča se primjena na velikoj površini.

Mjere opreza i upozorenja: vrlo otrovno, nužan oprez pri oralnoj primjeni. Kontraindicirano u trudnoći.

Čuvanje: čuvati na suhom, prozračnom mjestu, zaštićeno od moljaca.

4.8 Vespae nidus - Fēngfáng, 蜂房

Slika 10. Vespae nidus

(preuzeto iz Hempen i Fischer, 2009)

Porodica: Vespidae

Vrsta: Polistes olivaceus – žuta orijentalna papir osa

Drugi naziv: Lu feng fang

Hrvatski naziv: osinje saće

Engleski naziv: wasp nest

4.8.1 Svojstva, djelovanje i primjena droge u TCM

Temperatura: neutralna

Okus: neutralan, slatki, toksičan

Veza s organima: želudac, pluća

Smjer djelovanja: dubinski

Mjesto djelovanja: unutrašnjost, koža

Djelovanja/indikacije:

Detoksicira i dezinficira: rane, mastitis, čirevi (za vanjsku upotrebu za ispiranje ili kao melem)

Ekcemi, opekline u ulceracije: rane, mastitis, ulceracije

Istjeruje vjetar: osipi koji svrbe, reumatske bolesti, artritis, deformirani, otečeni zglobovi, smanjena pokretljivost zglobova

Toksičnost: toksične hlapljive uljne sastavnice mogu uzrokovati akutni nefritis praćen glavoboljom, bolovima u leđima, edemima. S obzirom da isparuju vrenjem, samo vrlo visoke doze neprerađene droge mogu tovesti do toksičnih reakcija

Komentar: dekokt je samo za vanjsku upotrebu i ispiranje usne šupljine, ne smije se gutati

Kombinacije:

- sa Arisaematis rhizoma praeparata (*zhi tian nan xing*), Aconiti kusnezoffii radix praeparata (*zhi cao wu*), Phaseoli semen (*chi xiao dou*) i Alumen (*ming fan*) za rane stadije rana i vrućicu, crvenilo, oticanje; pomiješati s rižinim vinom da se dobije pasta
- s Taraxaci herba (*pu gong ying*) i Forsythiae fructus (*lian qiao*) za čvrste izrasline u grudima, topikalna primjena
- sa Scorpio (*quan xie*) i Cremastrae pseudobulbus (*shan ci gu*) kod različitih vrsta tumora

Kompatibilnost: antagonizira učinak Salviae miltiorrhizae radix (*dan shen*), Zingiberis rhizoma (*gan jiang*), Paeoniae radix lactiflora (*bai shao*) i Ostrea concha (*mu li*)

Kontraindikacije: nedostaci qi-ja i krvi, otvorene gnojne rane

Upotreba u trudnoći: dopuštena (Hempen i Fischer, 2009)

4.8.2 Kemijski sastav

Kemijski sastav osinjih saća je dosta složen te je do danas izolirano više različitih sastavnica: fenolni spojevi (p-dihidroksibenzen, 8-hidroksikinolin), fenolne kiseline (4-hidroksibenzojeva, protokatehinska, kavena kiselina), flavonoidi (kvercetin, kempferol), seskviterpeni (fengfangin A i tutin), diarilheptanoidi (alnuson, centrolobol, murikarpon B i dr.), masne kiseline (sterinska, palmitinska kiselina), peptidi i proteini, steroli (α-sitosterol, α-daukosterol), minerali (željezo, kalcij, cink, magnezij) (Wang i sur., 2013).

4.8.3 Znanstveno dokazani učinci

Protutumorski učinak

Dekokt osinjih saća (NVD) nije pokazao značajan učinak na sprječavanje rasta stanica raka želuca SGC-7901, ali je potaknuo proliferaciju mononuklearnih stanica u perifernoj krvi na način ovisan o koncentraciji i vremenu. Nakon obrade NVD-om, citotoksičnost T limfocita znatno je porasla u usporedbi s kontrolom. Također je poraslo otpuštanje TNF-α i IL-6 iz monocita, kao i IgG iz B stanica., a potaknuta je i fagocitoza tumorskih stanica (Zhu i sur., 2015).

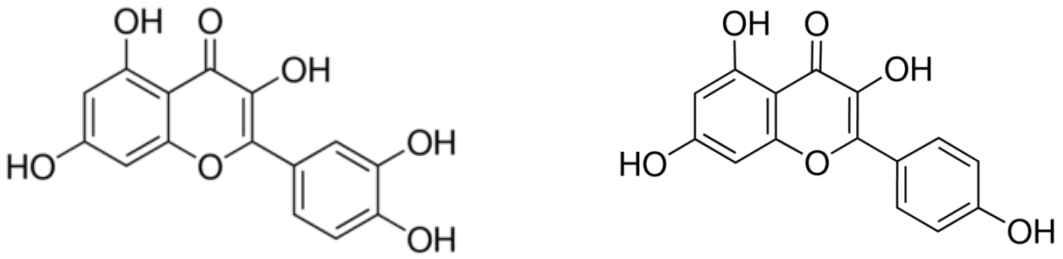
Nakon što su pokusi pokazali kako optimalna ekstrakcija ukupnih flavonoida iz osinjih saća uključuje korištenje 95 %-tnog etanola i tri uzastopne ekstrakcije u trajanju od dva sata, MTT testom je istražen učinak triju flavonoidima najbogatijih ekstrakata na proliferaciju osteosarkoma stanica U2OS. Pokazalo se da je stupanj inhibicije rasta U2OS stanica bio proporcionalan količini flavonoida u ekstraktima te je tako ekstrakt s najvećim udjelom flavonoida imao stupanj inhibicije 56,1 % pri koncentraciji 150 mg/ml (Jiang i sur., 2013).

Protein NVP(1) pri koncentraciji 6,6 μg/ml zaustavio je stanični ciklus u G1 fazi i inhibirao mRNA ekspresiju ciklina B, D1 i E. Smanjio je proteinsku ekspresiju cdk2, povećao ekspresiju p27 i p21, dok na ekspresiju p16 nije imao učinak. Kondenzacijom kromatina došlo je do apoptoze HepG2 stanica te je aktiviran ERK signalni put. Ekspresija p-ERK bila je smanjena kad su HepG2 stanice preobrađene s PD98059, inhibitorom ERK, iz čega je zaključeno kako NVP(1) inhibira proliferaciju HepG2 putem ERK signalnog puta (Wang i sur., 2008).

Protukarijesno djelovanje

Kvercetin i kempferol, flavonoidi izolirani iz kloroformno/metanolonog ekstrakta osinjih saća spriječili su rast šest kariogenih bakterija (*Streptococcus mutans, S. sanguis, Actinomyces*

viscosus, A. naeslundii i *Lactobacillus rhamnosus*), s minimalnim inhibitornim koncentracijama 1-4 mg/ml i minimalnim baktericidnim koncentracijama 4-16 mg/ml. Pri dozama nižim od MIC, inhibirali su acidogenost bakterije *Streptococcus mutans*. Aktivnost F-ATP-aze smanjena je za 47,37 % uz 1 mg/ml kvercetina, odnosno za 49,66 % uz 0,5 mg/ml kempferola (Guan i sur., 2012).



Kvercetin Kempferol

Slika 11. Flavonoidi iz droge Vespae nidus

(preuzeto s www.sigmaaldrich.com)

Istraživan je učinak ekstrakta šiški (*Gallae sinensis*), GCE i osnjih saća, NVE-1 na strukturu i aktivnost biofilma bakterija prisutnih u usnoj šupljini. U netretiranom biofilmu prevladavale su žive bakterije, a struktura mu je bila uobičajeno čista. Ekstrakti su inhibirali rast bakterija u biofilmu, kao i glukoziltransferaznu aktivnost, iz čega je zaključeno kako ekstrakti ne samo da sprječavaju rast bakterija u biofilmu, već mu mijenjaju strukturu, sastav i enzimatsku aktivnost (Zhao i sur., 2007).

Nakon ekstrakcije 95 %-tnim etanolom, pripremljeni su ekstrakti korištenjem različitih otapala: cikloheksan/acetilacetat, petroleter/etilacetat i kloroform/metanol. Težina biomase i ukupnih proteina bila je znatno manja u uzorcima tretiranima ekstraktima, u odnosu na netretirane. Biofilmovi su sadržavali manji udio polisaharida, a ekstrakti su usporili i pad pH biofilmova. Primjećena je i razlika u strukturama biofilmova tretiranih ekstraktima osinjih saća, 0,05 %-tnim klorheksidinom i netretiranih biofilmova (Xiao i sur., 2007).

Anti-glukoziltransferazna aktivnost, antiadhezivnost i antibiofilm svojstva proučavane su u osinjim saćama, odnosno njihovim ekstraktima. Kloroformno/metanolni ekstrakt najjače je spriječio adherenciju *S. mutans* na hidroksiapatitni disk prekriven slinom pri koncentracijama nižim od (MIC). Svi ekstrakti inhibirali su aktivnost glukoziltransferaze u koncentracijama nižim od MIC, a najpotentnijim se pokazao kloroformno/metanolni ekstrakt. Metodom mikrodilucije određene su minimalna koncentracija koja inhibira biofilm, MBIC50 i minimalna koncentracija koja smanjuje biofilm, MBRC50. Kloroformno-metanolni ekstrakt imao je najjača antibiofilm svojstva prema *S. mutans*. Zbog značajne inhibicije GTF i

sprječavanja nastanka biofilma, osinje saće prirodan su način prevencije karijesa (Xiao i sur., 2007).

Proučavan je učinak četiriju ekstrakta osinjih saća (NVE1-4) na rast *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* i *Actinomyces viscosus* te njihovu acidogenost. Pokazalo se da sva četiri ekstrakta inhibiraju rast triju sojeva, NVE1, 3 i 4 inhibiraju proizvodnju kiseline u sva tri soja, dok je NVE2 spriječio proizvodnju kiseline u *A. viscosus* (Zuo i sur., 2005).

4.8.4 Monografija droge u Kineskoj farmakopeji

Vespae nidus

(蜂房, Fēngfáng)

OSINJE SAĆE

Osinje saće su saće vrsta *Polistes olivaceus* (DeGeer), *Polistes japonicus* Saussure ili *Parapolbya varia* Fabricius (Fam. Vespidae). Droga se skuplja u jesen ili zimu, suši na suncu ili kratko opari, uklone se mrtve ose i kukuljice te ponovno suši na suncu.

Opis: u nepravilno spljoštenim ili u komadima oblika diska, neki oblika poput cvjetišta lotosa, različitih veličina. Izvana sivkastobijela ili sivkastosmeđa. S donje strane brojni pravilni šesterokutni otvori saća, promjera 3-4 mm ili 6-8 mm; gornja strana s jednom ili nekoliko kratkih stabljika. Lagane, čvrste, blago elastične strukture. Blagog mirisa, oporog i slabog okusa. Saće tvrde i lomljive teksture ne bi se trebale koristiti kao lijek.

Voda: ne više od 12,0 posto (0832, metoda 2).

Ukupni pepeo: ne više od 10,0 posto (2302).

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini: ne više od 5,0 posto (2302).

Obrada: ukloniti strane tvari, narezati na dijelove.

Voda, ukupni pepeo i pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini: prema zahtjevu za neobrađenu drogu.

Svojstva i okus: neutralno; slatko.

Meridijanski tropizam: meridijani želuca.

Djelovanja: uklanja toksine, ubija crve, rastjeruje vjetar i olakšava bol.

Indikacije: rana i čir, oticanje i toksini, akutni mastitis, oticanje vratnih žlijezda, uporne gljivične infekcije, dermatomikoza šake, zubobolja, bolni opstruktivni sindrom uzrokovan vlažnim vjetrom.

Primjena i doziranje: 3-5 g, prikladna količina za topikalnu primjenu, samljeti u prah i pomiješati s uljem za nanošenje na zahvaćene dijelove, ili u obliku dekokta za grgljanje ili kupku.

Čuvanje: čuvati na suhom prozračenom mjestu, zaštićeno od tlaka i moljaca.

5. ZAKLJUČAK

Ovim radom po prvi put je dan sveobuhvatni pregled recentnih spoznaja za osam ljekovitih droga animalnog porijekla tradicionalno korištenih u kineskoj medicini: Bombyx batryticatus, Scolopendra, Scorpio, Eupolyphaga, Mel, Mantidis oötheca, Mylabris i Vespae nidus. Prikazani su podaci o njihovim izvorima, svojstvima, djelovanju i primjeni u TCM te su na hrvatski jezik prevedene monografije odabranih droga iz 10. izdanja Kineske farmakopeje. Pretraživanjem baza podataka objedinjeni su rezultati dosadašnjih znanstvenih istraživanja. Pokazalo se kako rezultati nekliničkih i kliničkih ispitivanja često ne koreliraju s indikacijama za koje se odabrane droge primjenjuju u tradicionalnoj medicini, već ukazuju na neke nove, u okviru TCM dosad neproučavane učinke. Iako brojni podaci govore u prilog djelotvornosti droga animalnog prijekla, što je posebno zanimljivo u kontekstu stalne potrage za novim antibioticima i antitumorskim lijekovima, znatan broj istraživanja proveden je u kineskim laboratorijima, a radovi su objavljeni u kineskim znanstvenim časopisima. To ih često čini nedostupnima i predstavlja prepreku njihovom objektivnom vrednovanju sa stajališta zapadnjačke znanstvene zajednice. Drugi problem predstavlja činjenica da je većina dokaza o djelotvornosti dobivena *in vitro* na kulturama stanica, odnosno *in vivo* na životinjskim modelima, dok je broj obavljenih kliničkih ispitivanja još uvijek vrlo malen.

Globalizacijski procesi nisu zaobišli ni medicinu te se posljednjih godina sve više ljudi okreće takozvanim alternativnim metodama liječenja. Rad doprinosi usvajanju novih znanja iz sve popularnije tradicionalne kineske medicine i ukazuje na nužnost daljnjih kvalitetnih istraživanja učinkovitosti i sigurnosti primjene droga životinjskog porijekla. Također, rad ukazuje na značajan potencijal tradicionalno korištenih kineskih animalnih droga za otkrićem novih lijekova.

6. LITERATURA

Adams JD, Lien EJ. Traditional Chinese Medicine: Scientific basis for its use. Cambridge, RSC Publishing, 2013, str. 1-4.

Ali AT, al-Swayeh OA, al-Humayyd MS, Mustafa AA, al-Rashed RS, al-Tuwaijiri AS. Natural honey prevents ischaemia-reperfusion-induced gastric mucosal lesions and increased vascular permeability in rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1997, 9 (11), 1101-1107.

Al-Waili NS. An alternative treatment for pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture: an open pilot study. *Complement Ther Med*, 2004, 12 (1), 45-47.

Al-Waili NS. Topical honey application vs. acyclovir for the treatment of recurrent herpes simplex lesions. *Med Sci Monit*, 2004, 10 (8), 94-98.

Asadi-Pooya AA, Pnjehshahin MR, Beheshti S. The antimycobacterial effect of honey: an in vitro study. *Riv Biol, 2003*, 96 (3), 491-495.

Bajpai VK, Shukla S, Paek WK, Lim J, Kumar P, Na M. Antibacterial Action of jineol isolated from *Scolopendra subspinipes mutilans* against selected foodborne pathogens. *Front Microbiol*, 2017, 8, 552.

Bukhari MH, Khalil J, Qamar S, Qamar Z, Zahid M, Ansari N, Bakhshi IM. Comparative gastroprotective effects of natural honey, *Nigella sativa* and cimetidine against acetylsalicylic acid induced gastric ulcer in albino rats. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2011, 21 (3), 151-156.

Chen L, Feng P, Li Y, Zhou D. Influences of "spasmolytic powder" on pgp expression of Coriaria lactone-kindling drug-resistant epileptic rat model. *J Mol Neurosci*, 2013, 51 (1), 1-8.

da Silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, Costa ACO, Fett R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem*, 2016, 196, 309-323.

Dai B, Qi J, Liu R, Zhang Y. *Eupolyphaga sinensis* Walker demonstrates angiogenic activity and inhibits A549 cell growth by targeting the KDR signaling pathway. *Mol Med Rep*, 2014, 10 (3), 1590-1596.

Fang H, Deng F, Yan Y, Wang K. Chemical constituents of Scolopendra negrocapitis. *Zhong Yao Cai*, 1999, 22 (5), 226-228.

Flaws B, Johnston M, Rogers T. Statements of Fact in Traditional Chinese Medicine. Boulder, Blue poppy press, 2007, str. 15-18.

Garvey M. Chinese medicine history and contemporary practice in the west. *J Health Sci*, 2014,2, 284-290.

Ge GF, Yu CH, Yu B, Shen ZH, Zhang DL, Wu QF. Antitumor effects and chemical compositions of *Eupolyphaga sinensis* Walker ethanol extract. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141 (1), 178-182.

Gharzouli K, Amira S, Gharzouli A, Khennouf S. Gastroprotective effects of honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture against ethanol-, indomethacin-, and acidified aspirin-induced lesions in the rat. *Exp Toxicol Pathol*, 2002, 54 (3), 217-221.

Guan X, Zhou Y, Liang X, Xiao J, He L, Li J. Effects of compounds found in Nidus Vespae on the growth and cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Res*, 2012, 167 (2), 61-68.

Guo J, Song CS, Han Q. [Clinical observation on ziyin tongbi decoction in treating benign prostatic hyperplasia]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 2008, 28 (12), 1082-1085.

Hahn BS, Cho SY, Ahn MY, Kim YS. Purification and characterization of a plasmin-like protease from *Tenodera sinensis* (Chinese mantis). *Insect Biochem Mol Biol*, 2001, 31 (6-7), 573-581.

Hahn BS, Cho SY, Wu SJ, Chang IM, Baek K, Kim YC, Kim YS. Purification and characterization of a serine protease with fibrinolytic activity from *Tenodera sinensis* (praying mantis). *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1430 (2), 376-386.

Hashem-Dabaghian F, Agah S, Taghavi-Shirazi M, Ghobadi A. Combination of *Nigella sativa* and honey in eradication of gastric *Helicobacter pylori* infection. *Iran Red Crescent Med J*, 2016, 18 (11).

Hempen CH, Fischer T. A Materia Medica for Chinese Medicine: plants, minerals and animal products. München, Elseveir, 2009, str. 2.-13., 448.-449., 458.-459., 460.-461., 546.-547., 724.-725., 822.-823., 836.-837., 886.-887.

Hsia TC, Yu CC, Hsu SC, Tang NY, Lu HF, Huang YP, Wu SH, Lin JG, Chung JG. Cantharidin induces apoptosis of H460 human lung cancer cells through mitochondria-dependent pathways. *Int J Oncol*, 2014, 45 (1), 245-254.

Hu, D. Traditional Chinese Medicine: Theory and principles. Beijing, Tsinghua University Press, Walter de Gruyter GmbH, 2016, str. 7.

Hu M, Yu Z, Wang J, Fan W, Liu Y, Li J, Xiao H, Li Y, Peng W, Wu C. Traditional uses, origins, chemistry and pharmacology of Bombyx batryticatus: A review. *Molecules*, 2017, 22 (10).

Ji BC, Hsiao YP, Tsai CH, Chang SJ, Hsu SC, Liu HC, Huang YP, Lien JC, Chung JG. Cantharidin impairs cell migration and invasion of A375.S2 human melanoma cells by suppressing MMP-2 and -9 through PI3K/NF-κB signaling pathways. *Anticancer Res*, 2015, 35 (2), 729-738.

Jiang X, Zhang Z, Chen Y, Cui Z, Shi L. Structural elucidation and *in vitro* antitumor activity of a novel oligosaccharide from *Bombyx batryticatus*. *Carbohydr Polym*, 2014, 103, 434-441.

Jiang ZH, Jiang JW, Wang Q, Zhang LY, Wu CG, Yang H. A study on screening of osteosarcoma U2OS cell inhibiting active components from *Nidus Vespae*. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2013, 10 (6), 464-468.

Kim HJ, Lee WH, Yoon CH, Jeong JC, Nam KS, Kim HM, Choo YK, Lee MC, Kim CH. Bombycis corpus extract prevents amyloid-beta-induced cytotoxicity and protects superokide dismutaseactivity in cultured rat astrocytes. *Pharmacol Res*, 2001, 43 (1), 11-16.

Kim HY, Lee YJ, Han BH, Yoon JJ, Ahn YM, Hong MH, Tan R, Kang DG, Lee HS. *Mantidis ootheca* induces vascular relaxation through PI3K/AKT-mediated nitric oxide-cyclic GMP-protein kinase G signaling in endothelial cells. *J Physiol Pharmacol*, 2017, 68 (2), 215-221.

Kong Y, Xu C, He ZL, Zhou QM, Wang JB, Li ZY, Ming X. A novel peptide inhibitor of platelet aggregation from stiff silkworm, Bombyx batryticatus. *Peptides*, 2014, 53, 70-78.

Koo BS, An HG, Moon SK, Lee YC, Kim HM, Ko JH, Kim CH. Bombycis corpus extract (BCE) protects hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2003, 25 (2), 191-201.

Lee H, Hwang JS, Lee DG. Scolopendin, an antimicrobial peptide from centipede, attenuates mitochondrial functions and triggers apoptosis in *Candida albicans*. Biochem J, 2017, 474 (5), 635-645.

Lee W, Hwang JS, Lee DG. A novel antimicrobial peptide, scolopendin, from *Scolopendra*

subspinipes mutilans and its microbicidal mechanism. *Biochimie*, 2015, 118, 176-84.

Lee YC, Lee LM, Yang CH, Lin AM, Huang YC, Hsu CC, Chen MS, Chi CW, Yin PH, Kuo CD, Liao JF, Lee HC. Norcantharidin suppresses cell growth and migration with enhanced anticancer activity of gefitinib and cisplatin in human non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep*, 2013, 29 (1), 237-243.

Liu DY, Zhao HM, Cheng SM, Rao Y, Huang XY, Zuo ZQ, Lei M, Guan YM, Liu HN, Lu AP. Scorpio and Scolopendra attenuate inflammation and articular damage in rats with collagen-induced arthritis. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141 (2), 603-607.

Liu FY, Li Y, Peng YM, Ye K, Li J, Liu YH, Duan SB, Ling GH, Xu XQ, Zhou LT. Norcantharidin ameliorates proteinuria, associated tubulointerstitial inflammation and fibrosis in protein overload nephropathy. *Am J Nephrol*, 2008, 28 (3), 465-77.

Lu Y, Jiang P. [Chemical constituents of Eupolyphaga sinensis Walker]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 1992, 17(8):487-9.

Ma W, Liu R, Qi J, Zhang Y. Extracts of centipede *Scolopendra subspinipes mutilans* induce cell cycle arrest and apoptosis in A375 human melanoma cells. *Oncol Lett*, 2014, 8 (1), 414-420.

Ma W, Zhang D, Zheng L, Zhan Y, Zhang Y. Potential roles of centipede *Scolopendra* extracts as a strategy against EGFR-dependent cancers. *Am J Transl Res*, 2015, 7 (1), 39-52.

Ni LJ, Wang NN, Zhang LG, Guo YZ, Shi WZ. Evaluation of the effects of active fractions of chinese medicine formulas on IL-1β, IL-6, and TNF-α release from ANA-1 murine macrophages. *J Ethnopharmacol*, 2016, 179, 420-431.

Park YJ, Lee HY, Jung YS, Park JS, Bae YS. Antimicrobial peptide scolopendrasin VII, derived from the centipede *Scolopendra subspinipes mutilans*, stimulates macrophage chemotaxis via formyl peptide receptor 1. *BMB Rep*, 2015, 48 (8), 479-84.

Pharmacopoeia of The People's Republic of China. Tenth Edition. People's Medical Publishing House, 2015, str. 75.-76., 190.-191., 414.-415., 284.-285., 287.-288., 304., 475.

Poovelikunnel TT, Gethin G, Solanki D, McFadden E, Codd M, Humphreys H. Randomized controlled trial of honey versus mupirocin to decolonize patients with nasal colonization of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*, 2018, 98 (2), 141-148.

Seifinadergoli Z, Nahidi F, Safaiyan A, Javadzadeh Y, Eteraf-Oskouei T. Comparison of the

efficacy of honey gel and clotrimazole cream in the treatment of vaginal candidiasis symptoms: a randomized clinical trial. *Electron Physician*, 2017, 10 (6).

Still J. Use of animal products in traditional Chinese medicine: environmental impact and health hazards. *Complement Ther Med*, 2003, 11, 118-122.

Subrahmanyam M. Honey impregnated gauze versus polyurethane film (OpSite) in the treatment of burns--a prospective randomised study. *Br J Plast Surg*, 1993, 46 (4), 322-323.

Subrahmanyam M. Topical application of honey in treatment of burns. *Br J Surg*, 1991, 78 (4), 497-498.

Sun G, Eisenstark D.D, Zhang Q. Fundamentals if Chinese Medicine. Beijing, People's Medical Publishing House, 2014, str. 1-3.

Tang A. Traditional Chinese Medicine is making the world healthier, 2013., http://www.rroots.net/031713%20Traditional%20Chinese%20Medicine%20is%20Making%20the%20World%20Healthier.pdf

Tang Q, Dai Y, Liu X. Immunomodulatory effects of orally administered aqueous extract from *Eupolyphaga sinensis* Walker. *Afr J Biotechnol*, 2010, 9(50), 8682-8686.

Traditional Chinese Medicine: In depth, 2009., https://nccih.nih.gov/health/whatiscam/chinesemed.htm, pristupljeno lipanj 2018.

Undheim EAB, Fry BG, King GF. Centipede Venom: Recent Discoveries and Current State of Knowledge. *Toxins*, 2015, 7 (3), 679-704.

Vardi A, Barzilay Z, Linder N, Cohen HA, Paret G, Barzilai A. Local application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. *Acta Paediatr*, 1998, ;87 (4), 429-432.

Wang C, Chen P, Jin H, Yan X, Gan L, Li Y, Zhou S, Chang J, Wang Y, Yang G, He G. Nidus vespae protein inhibiting proliferation of HepG2 hepatoma cells through extracellular signal-regulated kinase signaling pathways and inducing G1 cell cycle arrest. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, 40 (11), 970-978.

Wang FX, Wu N, Wei JT, Liu J, Zhao J, Ji AG, Lin XK. A novel protein from *Eupolyphaga sinensis* inhibits adhesion, migration, and invasion of human lung cancer A549 cells. *Biochem Cell Biol*, 2013, 91 (4), 244-251.

Wang X. Serum pharmacochemistry of Traditional Chinese Medicine: Technologies, strategies and applications. London, Elsevier, 2017, str. 1.

Wang Y, Yan H, Wang Y, Yang H, Wei L, Xiao Y, Ye H, Lai R, Liu R. Proteomics and transcriptome analysis coupled with pharmacological test reveals the diversity of anti-

thrombosis proteins from the medicinal insect, *Eupolyphaga sinensis*. *Insect Biochem Mol Biol*, 2012, 42 (8), 537-544.

Wang W, Zhang N, Chanda W, et al. Antibacterial and anti-biofilm activity of the lipid extract from Mantidis ootheca on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2018, 19(5), 364-371.

Wang J, Zhang H, Gao S, Wang J (2015) Review on bioactive peptides and pharmacological activities of *Buthus Martensii* Karsch. Biochem Pharmacol (Los Angel) 4:166. doi:10.4172/2167-0501.1000166

Wang B, Zhang CG, Gao PF, Wu XM. Zhao Y. Research progress on Nidus vespae, a traditional chinese medicine derived from insects. *J Pharm Sci Innov*, 2013, 2(6), 1-9.

WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023, 2013., http://www.searo.who.int/entity/health_situation_trends/who_trm_strategy_2014-2023.pdf?ua=1, pristupljeno lipanj 2018.

Wu JY, Sheikho A, Ma H, Li TC, Zhao YQ, Zhang YL, Wang D. Molecular mechanisms of Bombyx batryticatus ethanol extract inducing gastric cancer SGC-7901 cells apoptosis. *Cytotechnology*, 2017, 69, 875-883.

Wu WP, Cao J, Wu JY, Chen H, Wang D. Anticancer activity of Bombyx batryticatus ethanol extract against the human tumor cell line HeLa. *Genet. Mol. Res.* 14 (1): 79-88 (2015)

Xiao J, Zhou XD, Feng J, Hao YQ, Li JY. Activity of *Nidus Vespae* extract and chemical fractions against *Streptococcus mutans* biofilms. *Lett Appl Microbiol*, 2007, 45 (5), 547-552.

Xiao J, Zuo Y, Liu Y, Li J, Hao Y, Zhou X. Effects of Nidus Vespae extract and chemical fractions on glucosyltransferases, adherence and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol*, 2007, 52 (9), 869-875.

Xu MZ, Lee WS, Kim MJ, Park DS, Yu H, i sur. Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibitory activities of fatty acid amides isolated from Mylabris phalerate Pallas. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(16), 4277-80.

Xu RS, Zhong XH, Li XG. [Controlled clinical trials of therapeutic effects of Chinese herbs promoting blood circulation and removing blood stasis on the treatment of reflex sympathetic dystrophy with type of stagnation of vital energy and blood stasis]. *Zhongguo Gu Shang*, 2009, 22 (12), 920-922.

Yan YQ, Xie J, Wang JF, Shi ZF, Zhang X, i sur. Scorpion inhibits epithelial-mesenchymal transition and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2018, 243 (7), 645-654.

Yang H, Wang Y, Xiao Y, Wang Y, Wu J, Liu C, Ye H, Li F, Yu H, Lai R. A bi-functional anti-thrombosis protein containing both direct-acting fibrin(ogen)olytic and plasminogen-activating activities. *PLoS One*, 2011, 14, 6 (3).

Zeng YB, Liu XL, Li CJ, Zhou X, Zhang XM i sur. [Chemical constituents from Mylabris phalerata and their cytotoxic activity in vitro]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2016, 41(5), 859-863.

Zhan Y, Zhang H, Liu R, Wang W, Qi J, Zhang Y. *Eupolyphaga sinensis* Walker ethanol extract suppresses cell growth and invasion in human breast cancer cells. *Integr Cancer Ther*, 2016, 15 (1), 102-112.

Zhao H, Li Y, Wang Y, Ouyang X, Peng R, Yang J. Antitumor and immunostimulatory activity of a polysaccharide-protein complex from *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch in tumor-bearing mice. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50 (8), 2648-2655.

Zhao J, Li JY, Zhu B, Zhou XD. [Effects of traditional Chinese medicine on oral bacteria biofilm]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 2007, 42 (10), 585-589.

Zhou AG, Zhang Y, Kong DY, Wang Y, Zhang HZ, Wang SJ, Kui G, Hong S, Ge HL, Ren QH, Mao XM, Dong JR. [Tumor inhibiting and immunoloregulation effects of Mylabris Mixture on H22 cancer-bearing mice]. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 2006, 4 (5), 504-508.

Zhu B, Wang H. Basic Theories of Traditional Chinese Medicine. London, Philadelphia, People's Military Medical Press, 2010, str. 22-23.

Zhu M, Ling Y, Qi Q, Zhang Y, Bao Y, Liu Y. The immunomodulatory effects of nidus vespae on human peripheral blood immune cells *in vitro*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015

Zhu, YP. Chinese Materia Medica: Chemistry, Pharmacology and Application. Boca Raton, CRC Press, 1998, str. 34.

Zuo YL, Li JY, Xie Q, Zhou XD. [An in vitro study on effect of Nidus vespae extract on the acid production of three strains of oral bacteria]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2005, 36 (3), 375-357.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Tradicionalna kineska medicina predstavlja drevni holistički sustav liječenja koji je i danas naveliko prisutan u Kini, a postaje i sve zanimljiviji na Zapadu. Dok su mnogobrojne biljne droge tradicionalno korištene u kineskoj medicini već prisutne u monografijama Europske farmakopeje, droge životinjskog porijekla i dalje su nedovoljno istražene. Ovaj rad donosi pregled osam droga dobivenih iz životinja koljena člankonožaca u kontekstu njihovih izvora, svojstava i primjena u okviru tradicionalne kineske medicine. Dan je pregled rezultata dosadašnjih istraživanja, kao i pregled monografija odabranih droga u desetom izdanju Kineske farmakopeje. Rad doprinosi usvajanju novih znanja u području etnofarmakognozije i ukazuje na potrebu za daljnjim istraživanjima učinkovitosti i sigurnosti primjene droga životinjskog porijekla, kako u smislu dokazivanja učinkovitosti i sigurnosti njihove primjene, tako i u smjeru pronalaska novih potencijalnih lijekova.

Traditional Chinese medicine (TCM) is an ancient holistic form of healthcare, still widespread in China and becoming more and more popular in the West. While many Chinese medicinal plants are already listed in European Pharmacopoeia monographs, the animal-derived products have not been sufficiently researched. This thesis offers a systematic overview of eight drugs obtained from animals belonging to Phylum Arthropoda. The overview includes drugs' origins, properties and uses in Traditional Chinese medicine, as well as nonclinical and clinical research of their effectiveness conducted up to date. In addition, monographs of the selected drugs taken from the 10th edition of the Chinese Pharmacopoeia are translated into Croatian. This thesis contributes to the aquisition of new knowledge in the field of ethnopharmacognosy and points to the need for further research of drugs of animal origin either in order to prove their safety and efficiency or aiming to find new potential drugs.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za farmakognoziju
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ODABRANE DROGE ŽIVOTINJSKOG PORIJEKLA U TRADICIONALNOJ KINESKOJ MEDICINI

Marija Anušić

SAŽETAK

Tradicionalna kineska medicina predstavlja drevni holistički sustav liječenja koji je i danas naveliko prisutan u Kini, a postaje i sve zanimljiviji na Zapadu. Dok su mnogobrojne biljne droge tradicionalno korištene u kineskoj medicini već prisutne u monografijama Europske farmakopeje, droge životinjskog porijekla i dalje su nedovoljno istražene. Ovaj rad donosi pregled osam droga dobivenih iz životinja koljena člankonožaca u kontekstu njihovih izvora, svojstava i primjena u okviru tradicionalne kineske medicine. Dan je pregled rezultata dosadašnjih istraživanja, kao i pregled monografija odabranih droga u desetom izdanju Kineske farmakopeje. Rad doprinosi usvajanju novih znanja u području etnofarmakognozije i ukazuje na potrebu za daljnjim istraživanjima učinkovitosti i sigurnosti primjene droga životinjskog porijekla, kako u smislu dokazivanja učinkovitosti i sigurnosti njihove primjene, tako i u smjeru pronalaska novih potencijalnih lijekova.

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

Rad sadrži: 68 stranica, 11 grafičkih prikaza i 78 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Tradicionalna kineska medicina; droge životinjskog porijekla; Kineska farmakopeja; znanstveni dokazi

Mentor: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Marija Kindl, *viša asistentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Toma Keser, *viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Pharmacognosy
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

SELECTED DRUGS OF ANIMAL ORIGIN IN TRADITIONAL CHINESE MEDICINE

Marija Anušić

SUMMARY

Traditional Chinese medicine (TCM) is an ancient holistic form of healthcare, still widespread in China and becoming more and more popular in the West. While many Chinese medicinal plants are already listed in European Pharmacopoeia monographs, the animal-derived products have not been sufficiently researched. This thesis offers a systematic overview of eight drugs obtained from animals belonging to Phylum Arthropoda. The overview includes drugs' origins, properties and uses in Traditional Chinese medicine, as well as nonclinical and clinical research of their effectiveness conducted up to date. In addition, monographs of the selected drugs taken from the 10th edition of the Chinese Pharmacopoeia are translated into Croatian. This thesis contributes to the aquisition of new knowledge in the field of ethnopharmacognosy and points to the need for further research of drugs of animal origin either in order to prove their safety and efficiency or aiming to find new potential drugs.

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

Thesis includes: 68 pages, 11 figures, and 78 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Traditional Chinese medicine; drugs of animal origin; Chinese Pharmacopoeia; scientific evidence

Mentor: **Biljana Blažeković**, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Blažeković**, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Marija Kindl, Ph.D. *Assistant,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Toma Keser, **Ph.D.** *Assistant,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2018.

.