

Importanza del metodo analitico in fitoterapia

Il caso del *Vaccinium macrocarpon*: correlazione concentrazione/attività

Francesco Di Pierro¹, Stefano Togni², Carmine Candidi³, Alberto Bonetta⁴

¹Direttore Scientifico Velleja Research, Pontenure (PC)

²Direzione Business Development, Indena, Milano

³Medico Medicina Generale, ASL 1 Roma

⁴Unità Radioterapia Oncologica, Ospedale di Cremona

Parole chiave

Standardizzazione

Profilo fitochimico

Vaccinium macrocarpon

Proantocianidine

INTRODUZIONE

Si definiscono 'medicinali' quelle sostanze, o associazioni di sostanze, dotate di proprietà 'curative' o 'profilattiche' e capaci di esercitare azioni di tipo farmacologico, immunologico o metabolico. La medesima norma contrappone ai medicinali i cosiddetti 'dispositivi medici' che, al contrario dei primi, risultano essere strumenti curativi e/o profilattici grazie ad una loro capacità esclusivamente 'meccanica'. Fino a non molti anni fa medicinali e dispositivi medici erano gli unici strumenti a disposizione del terapeuta, fosse esso medico o farmacista o altro ancora.

Più recentemente l'Europa, ma anche i Paesi extraeuropei, ha visto esplodere l'uso di una terza categoria di preparati: gli *integratori alimentari*. Denominati 'alimentari' in quanto realmente ascritti alla categoria degli alimenti, gli integratori vengono definiti come prodotti destinati ad integrare la comune dieta. Ne esistono di 2 tipi: quelli costituiti da una fonte concentrata di sostanze a valore nutrizionale (vitamine, minerali, aminoacidi, acidi grassi) e quelli a valore 'nutraceutico', non nutrizionali, ad effetto fisiologico (fibre, estratti vegetali, probiotici, ecc..) (1). Se la gestione chimica, farmacologica e clinica di un prodotto contenente vitamine non è semplice, è facile immaginare quanto sia ancor più complicata la medesima 'gestione' di una preparazione contenente derivati da piante medicinali, ottenuti per via estrattiva. Tranne poche situazioni infatti, si pensi al caso della *Centella asiatica* contenente 'solo' 3 molecole (acido asiatico, acido madecassico e asiaticoside in rapporto tra loro di 3:3:4) (2), i cosiddetti estratti standardizzati contengono centinaia, in alcuni casi migliaia, di molecole diverse. Tralasciando le preparazioni caratterizzate secondo il cosiddetto rapporto estratto-droga, definibili ormai 'preistoria fitoterapica', si è cercato in tempi meno remoti di ovviare alla difficoltà di gestione chimica di tali preparazioni 'titolando' la preparazione stessa in base alla presenza di una determinata molecola (o di una determinata frazione). Questa, molto spesso, è risultata essere niente di più che un *marker chimico*. Ad esempio di quanto detto è possibile citare i casi

dell'echinacoside o dell'acido cicorico nelle specie di echinacea, degli acidi caffeici nel carciofo, dell'arpagoside nell'artiglio del diavolo, dell'ipericina nell'iperico. I casi sono, ovviamente, ben più numerosi.

Standardizzazione

Una soluzione alternativa, capace di rispondere alle difficoltà di gestione di un estratto, è la *standardizzazione*. Quest'ultima, lungi dal coincidere con la titolazione, deve essere invece riferita ad un bouquet il più ampio possibile di composti, che sono significativi del profilo fitochimico di una pianta. La standardizzazione garantisce costanza di composizione, ripetibilità ed efficacia. E più che mai in questo caso, ripetibilità fa rima con scientificità (3).

La necessità di standardizzazione di una preparazione estrattiva è inoltre tanto più importante quanto meno si riesce a correlare la presenza di una specifica frazione con una determinata azione terapeutica. Potrebbe essere interessante, a scopo puramente esplicativo, discutere di due diverse tipologie di estratti: per alcuni estratti non è stato possibile correlare la presenza di una determinata frazione di costituenti con una specifica azione biologica, per altri, questo è stato invece possibile.

Un esempio del primo tipo è rappresentato dall'estratto di *Ginkgo biloba*. Validato clinicamente, l'estratto è caratterizzato dalla presenza di una frazione flavonglicosidica (24%) e di una terpenica (6%), ma si conosce molto poco sul rimanente 70% dell'estratto. Il prodotto è usato per il trattamento complementare nelle sindromi da declino cognitivo (per es, demenza senile, morbo di Alzheimer), nei deficit circolatori periferici (per es. *claudicatio intermittens*, sindrome di Raynaud) e, in ambito oculistico, nelle microangiopatie diabete-correlate (4). Né, d'altra parte, queste azioni sono state associate ad una frazione specifica. Se fosse, ad esempio, possibile correlare l'azione terapeutica del preparato nel declino cognitivo con la presenza della sola frazione flavonglicosidica, si potrebbe pensare di utilizzarla pura, e non solo al 24%. Allo stesso modo, manca del tutto una correlazione fra la composizione degli estratti di artiglio del diavolo e la loro

attività anti-reumatica (5). Se si potesse trovare questa correlazione, questa frazione potrebbe essere purificata, ottimizzandone il profilo di attività. Esistono, tuttavia, anche estratti in cui la correlazione 'composizione-attività' è stata ben definita. Basti pensare, ad esempio, ai derivati della *Vitis vinifera*, la cui azione flebotropa è fortemente correlata alla presenza di 'oligomeri procianidolici' (6), o ai derivati della *Boswellia serrata*, la cui attività ben si relaziona con il titolo in 'acidi boswellici' e, in particolare, con uno specifico di essi, l'acido alfa-keto-boswellico (AKBA) (7).

ESTRATTO DI VACCINIUM MACROCARPON

In tempi recenti proprio una preparazione di questo tipo, chimicamente caratterizzata dalla presenza di una sola frazione capace di esplicare l'attività dell'intero estratto, ha realmente invaso le farmacie e gli studi medici di tutta Europa: l'estratto di *Vaccinium macrocarpon* (noto anche come estratto di mirtillo rosso o mirtillo americano o *cranberry*). Per il preparato, come è ben noto, viene rivendicata un'azione anti-cistite ricorrente (8).

Anche se nelle monografie della pianta in oggetto si continua a citare la presenza di molecole come l'acido benzoico e il fruttosio capaci, il primo, di trasformarsi in acido ippurico determinando acidificazione delle urine con conseguente effetto antibatterico e, il secondo, di un'azione

diretta sui ceppi di *E.coli* dotati di strutture piliformi di tipo 1 e quindi mannosio-sensibili, è molto difficile che queste due sostanze possano spiegare l'azione della preparazione in ambito urologico (9).

L'estratto di *Vaccinium macrocarpon* è caratterizzato invece dalla presenza di strutture polifenoliche (Fig 1), le cosiddette proantocianidine di tipo A (PAC) e, al contrario, la loro presenza e la loro caratterizzazione, in termini di dosaggio somministrato, è stata messa in forte correlazione con la rivendicata attività anti-cistite ricorrente (10).

PAC e azione anti-cistite ricorrente

La cistite ricorrente, insieme alla cistite acuta (detta anche cistite semplice o incidentale), alla cistite interstiziale, alla prostatite batterica e alla pielonefrite, viene ascritta al gruppo delle UTI (dall'inglese *Urinary Tract Infection*). Si tratta di una patologia provocata da ceppi uropatogenetici di *E. coli*, molto spesso di derivazione intestinale e capaci di proliferare fino a superare la soglia dei 100.000 batteri per ml di urina, determinando la diagnosi di cistite (Fig 2). La vescica necessiterebbe, come ogni altro organo soggetto ad infezione batterica, di antibiotico-terapia. In realtà, come riportato da molti lavori, il ricorso a derivati di *Vaccinium macrocarpon* contenenti PAC è in grado di contrastare efficacemente il disturbo. Ovviamente la terapia si applica a pazienti urino-coltura negativi per i quali però è attesa la nuova positività nell'arco delle successive 4-8 settimane. Questo fenomeno, diverso dalla recidiva dove ad espandersi è ovviamente un clone

batterico residuale non eliminato dalla terapia antibiotica, è detto appunto ricorrenza e nella grande maggioranza dei casi sarebbe legato ad un fenomeno di transmigrazione batterica che avverrebbe per la prossimità anatomica esistente tra intestino e vescica, grazie a batteri capaci di attraversare i setti delimitanti i due organi (11).

Le PAC in questo senso, interagendo direttamente con le strutture fimbriate di tipo P presenti sui ceppi uropatogenetici di *E.coli*, impedirebbero l'aggancio tra le fimbrie stesse e la glicoproteina recettoriale posta sull'epitelio uro-vescicale. Tale impedimento limiterebbe la capacità di adesione, e quindi proliferativa, di *E. coli* che non sarebbe più in grado di determinare colonizzazione efficace e malattia (12) (Fig 3).

La storia recente del Vaccinium macrocarpon

Pur essendo nota, fin dal 1923 (13), l'azione in qualche modo 'anti-batterica' del derivato ottenuto per spremitura dalle bacche del macrocarpon, in tempi recenti si è ridotto, se non abbandonato, l'uso del succo tal quale e, prima attraverso la produzione di prodotti ottenuti per disidratazione del succo stesso, e, poi attraverso le normali procedure estrattive, si sono ottenuti, e nel tempo impiegati, estratti variamente capaci di titolare lo 0.5, il 5, il 30 e anche l'80% in PAC. Oggi le preparazioni al 30% sono quelle, soprattutto per questioni legate al rapporto costo-qualità, maggiormente impiegate.

Proprio in virtù del fatto che in origine, quando ancora l'azione delle PAC non era nota, le preparazioni di macrocarpon 'nascevano' come succo, negli ultimi anni ci si è posti il problema di correlare la quota di PAC contenuta nel succo all'azione clinica, per poter rivendicare l'equivalenza di azione degli estratti.

Nel 1994 Avorn J *et al* (14) hanno pubblicato su JAMA un bellissimo lavoro clinico che risponde finalmente a questa domanda. La risposta è 36 mg. Questa è infatti la quantità di PAC trovata nei 300 mL di succo di macrocarpon che ha dimostrato efficacia clinica su 153 donne anziane afflitte da cistite ricorrente.

Figura 1 Struttura chimica delle proantocianidine di tipo A (presenti nel frutto di macrocarpon) e di tipo B (normalmente presenti nella frutta)

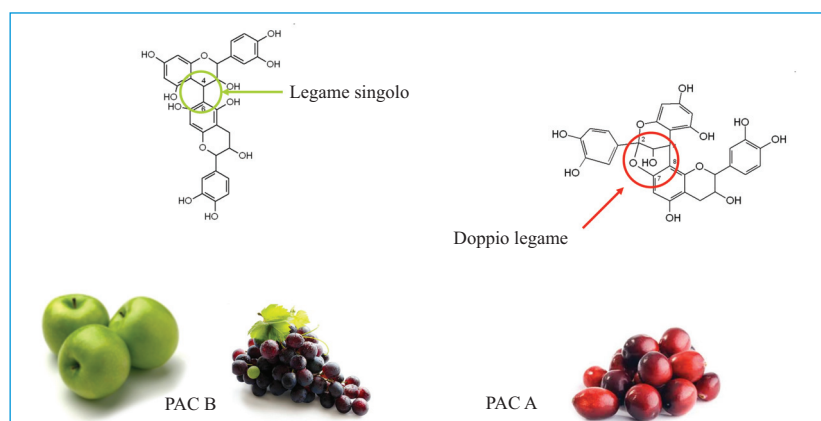


Figura 2 Per convenzione nella diagnosi di UTI si adotta come limite il valore di 100.000 batteri per ml di urina

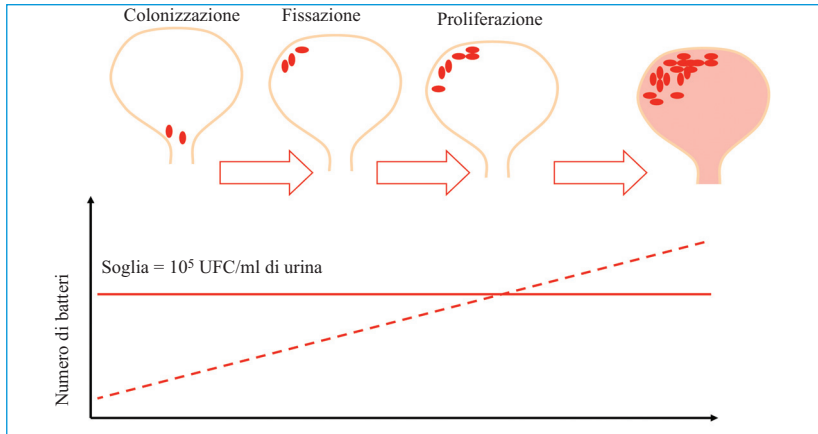


Figura 3 Per convenzione nella diagnosi di UTI si adotta come limite il valore di 100.000 batteri per ml di urina

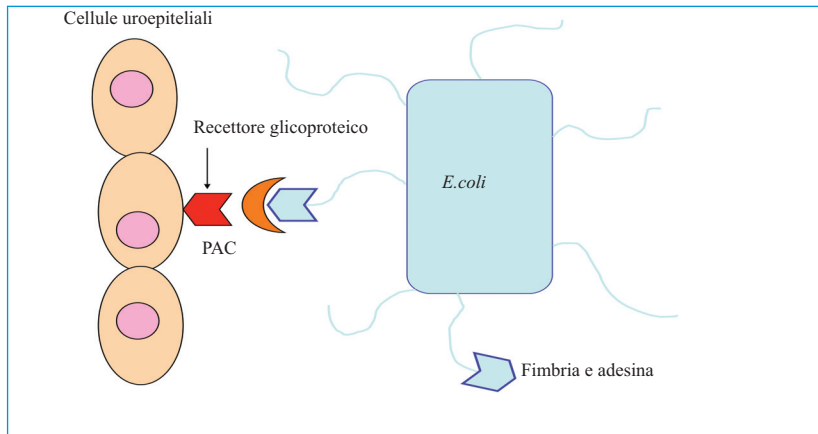
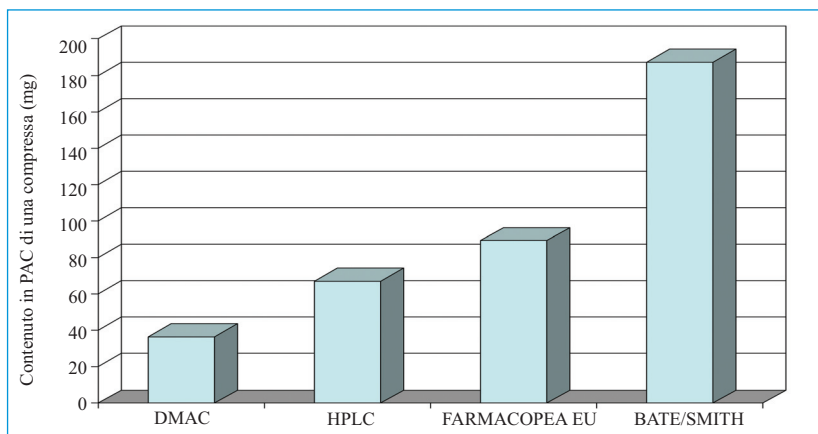


Figura 4 Variazione del contenuto in PAC in relazione al metodo adottato



Questo lavoro, i cui dati furono poi confermati anche da altri Autori, fu sottoposto all'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) perché esprimesse ufficialmente una opinione sulle potenziali

attività degli estratti di mirtillo rosso. In ben 3 occasioni (2004, 2005 e 2007) l'AFSSA pubblicò un'opinione favorevole. L'importanza di questa opinione era notevole, in quanto si trattava della prima che volta

un'azione fisiologica, capace di influenzare in modo positivo una patologia, veniva ufficialmente associata in modo diretto al consumo di un frutto edule. La dichiarazione, tradotta in inglese, suonava così: *the product contributes to decrease the fixation of certain uropathogenic E.coli to the walls of the urinary tract* (il prodotto contribuisce a diminuire la capacità di adesione di determinati ceppi uropatogenetici di *E.coli* alle pareti del tratto urinario). Nel documento l'AFSSA dichiarò che l'attività era strettamente correlata alla presenza di almeno 36 mg di PAC. Dimenticò però di dichiarare il metodo grazie al quale i PAC erano stati rilevati.

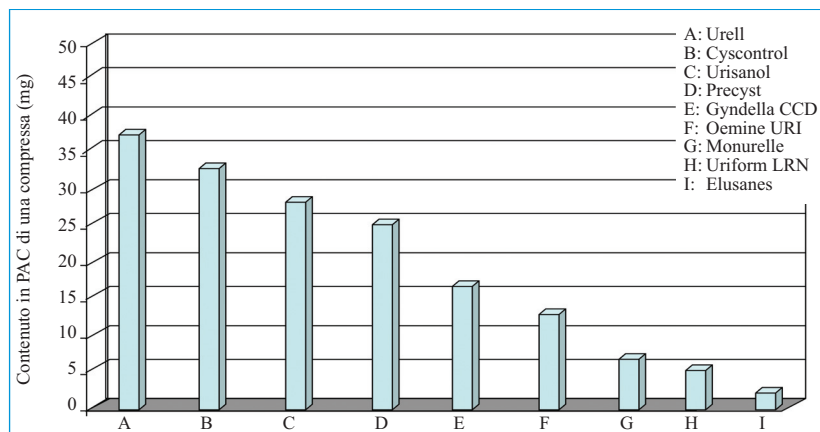
Metodo diverso, concentrazione diversa

L'analisi delle PAC era stata eseguita con un metodo validato e sensibile, noto come DMAC. Tale metodo colorimetrico, che impiega come reagente specifico la dimetilamminocinnamaldeide, era stato sviluppato dall'azienda americana Ocean Spray (Lakeville-Middleboro, MA 02349 USA).

Esistevano però almeno altri tre metodi di analisi delle PAC nei derivati di macrocarpon: il metodo HPLC, il metodo impiegato da Farmacopea Europea e il metodo Bates-Smith. A metodo diverso corrisponde lettura analitica diversa. Un campione quindi di macrocarpon che, letto con il metodo DMAC, dimostra la presenza di 36.4 mg di PAC leggerà infatti, con i tre metodi sopra elencati, rispettivamente: 67.1; 89.2; 187.2 mg (**Fig 4**). Come riportato in **Figura 5**, prodotti europei riportanti in etichetta 36 mg di PAC/dose, se analizzati con il metodo DMAC danno in realtà valori molto diversi, più bassi di quanto dichiarato. E il problema riguarda tutte le nazioni d'Europa, Italia compresa.

In realtà non ci troviamo di fronte ad un problema di contraffazione dolosa delle preparazioni. Né tantomeno ad un problema con risolto legale. Le dichiarazioni in etichetta fanno riferimento tutte a risultati ottenuti con un metodo validato e riconosciuto dalla Farmacopea Europea. Quindi le dichiarazioni non sono mendaci. Scientificamente sono però inappropriate.

Figura 5 Presenza di PAC, secondo metodo DMAC, in vari prodotti europei contenenti estratto di macrocarpon



Per quanto un integratore non debba curare una patologia, ma solo favorire la fisiologia di un recupero naturale, il macrocarpon, per farlo, necessita di un dosaggio giornaliero di 36 mg stabilito mediante analisi DMAC. L'utilizzo di altre metodologie sovradimensiona il valore rendendo il preparato inefficace. Molto probabilmente le preparazioni sono state sviluppate in totale 'buona fede' dai formulatori e l'errore è quindi solo di natura conoscitiva.

Appare ovvio, dopo quanto detto, che qualunque organismo scientifico/regolatorio (ad esempio EFSA), per esprimere un'opinione su una possibile rivendicazione (*claim*, nel gergo) riconducibile ad una preparazione fitoterapica, dovrà considerare non solo la natura dell'estratto, la sua standardizzazione e titolazione, ma anche il metodo analitico utilizzato per stabilire la concentrazione di un attivo correlata all'efficacia clinica.

Macrocarpon e dosaggio delle PAC: un problema comunque risolvibile

Al di là delle problematiche analitiche finora discusse va detto che la questione dell'attività del macrocarpon appare comunque risolvibile, non ricorrendo necessariamente alla possibilità analitica offerta dal metodo DMAC (tra l'altro mai messo commercialmente a disposizione dalla Ocean Spray). Potendo impiegare infatti un prodotto altamente standardizzato, ripetibile cioè in termini chimici nel suo 100% molecolare, è possibile eseguire una semplice curva dose-risposta, test eseguito normalmente

nella sperimentazione di ogni farmaco, che è invece scarsamente impiegata in fitoterapia. Applicandola in questo caso ad un estratto standardizzato e titolato al 30% in PAC (metodo della Farmacopea Europea) è stato possibile evidenziare un'attività dose-dipendente. Questa compare, in maniera statisticamente significativa, a 400 mg/die di prodotto (15).

Considerando il rapporto (3:1) che si ha valutando un prodotto a base di macrocarpon con il metodo della Farmacopea Europea e quello DMAC, si trova che 400 mg al 30%, con 120 mg di PAC dichiarati, in realtà ne contengono 3 volte meno e cioè 40 mg, valore quest'ultimo molto vicino ai 36 mg citati in Avorn J *at al* (14) e dall'AFSSA.

Il passo successivo: uso appropriato delle tecniche di galenica farmaceutica

La vicenda del macrocarpon non si chiude qui, perchè ci sono almeno altre due considerazioni da fare. Le PAC sono strutture polifenoliche con proprietà comunque fortemente antiossidanti. Come tutti gli antiossidanti, le PAC risultano essere piuttosto instabili e una loro gestione industriale e formulativa che non tenga in considerazione questa loro caratteristica tende a ridurre il contenuto (16). Infine non va dimenticato che le PAC sono sostanze capaci di interagire anche con batteri, tipici colonizzatori gastrici, come *H. pilori* (17). La possibile presenza di quest'ultimo nello stomaco di un paziente riduce ovviamente la quota di PAC disponibile per contrastare l'azione di *E. coli*.

Per ovviare a questi problemi è possibile optare per forme in compresse gastroprotette. La gastroprotezione impedisce la disgregazione dei principi attivi nello stomaco, e ne consente il rilascio solo a pH 6.0-6.8 circa, un valore tipico del duodeno. La gastroprotezione minimizza inoltre le perdite di PAC associate al loro legame con le proteine ricche di prolina (come quelle salivari) ed alle membrane biologiche di parti del canale alimentare dove non sono assorbite in modo significativo, come lo stomaco.

Valutazione clinica di forme gastroprotette di Vaccinium macrocarpon

La gastroprotezione di una formulazione contenente l'estratto di *Vaccinium macrocarpon* titolato al 30% in PAC (Monoselect Macrocarpon, Pharm-Extracta, Pontenure, PC) ne ottimizza la resa farmaco-clinica.

Prevenzione della cistite da radioterapia

Questo è stato osservato presso l'Unità Operativa di radioterapia Oncologica dell'Ospedale di Cremona dove, testato su 244 pazienti a rischio di sviluppare cistite durante radioterapia pelvica, ad un dosaggio di 200 mg/die (corrispondente al 50% di quello impiegato per poter somministrare almeno 36 mg di PAC), ha ridotto di più del 50% l'incidenza di cistite rispetto al controllo non trattato (18).

Prevenzione della cistite ricorrente Impiegato, invece, nella prevenzione della cistite ricorrente il preparato ha dimostrato una protezione superiore al 90% già a 200 mg/die, mentre a 400 mg la protezione risulta essere del 100% (18).

Trattamento della cistite acuta

L'osservazione di una correlazione esistente tra forma farmaceutica, dose somministrata ed effetto clinico dimostrato, ha spinto inoltre alcuni ricercatori (ASL 1 di Roma) a sperimentare la preparazione, a vari dosaggi, negli episodi di cistite acuta.

Tradizionalmente infatti le preparazioni a base di macrocarpon vengono somministrate a pazienti che manifestano episodi di ricorrenza su base mensile o bimestrale, in un momento asintomatico e urino-cultura negativo.

Tabella 1 Andamento (UFC/mL) in pazienti con diagnosi di cistite acuta trattati per 5 giorni con 600 mg di preparazione gastroprotetta

Paz	S	t=0	t=5	t=10	T
FM	F	Enterococco > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	<i>E. coli</i> < 50.000	B
GD	F	<i>E. coli</i> > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	O
GB	F	Proteus > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	<i>E. coli</i> < 50.000	O
LP	F	Klebsiella > 100.000	Enterococco > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	O
FP	M	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	O
PS	F	Candida > 100.000	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	O
GS	M	Enterococco > 100.000	Enterococco < 50.000	<i>E. coli</i> < 50.000	O

Paz = paziente; S= sesso; T= tollerabilità; B= buona; O= ottima

Tabella 2 Andamento (UFC/mL) in pazienti con diagnosi di cistite acuta trattati per 5 giorni con 600 mg di preparazione gastroprotetta ogni 12 ore

Paz	S	t=0	t=5	t=10	T
VF	M	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	O
DW	F	Klebsiella > 100.000	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	O
RP	F	Enterococco > 100.000	<i>E. coli</i> > 100.000	<i>E. coli</i> > 100.000	B
GS	F	Candida > 100.000	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	O
RP	M	Proteus > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	O
PG	M	Candida > 100.000	Candida < 50.000	<i>E. coli</i> < 50.000	B
RP	F	<i>E. coli</i> > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	O
LG	F	Enterococco > 100.000	Sterile	Sterile	O

Paz = paziente; S= sesso; T= tollerabilità; B= buona; O= ottima

Nella precedente sperimentazione clinica era stato osservato che la somministrazione del prodotto impediva la manifestazione della ricorrenza.

Si è quindi deciso di verificare l'azione clinica del prodotto gastroprotetto nella cistite acuta arruolando pazienti senza febbre, con sintomatologia (disuria, nicturia, urgenza minzionale, etc) non gravosa e con una urino-coltura positiva (>100.000 UFC/mL).

I pazienti sono stati suddivisi in 3 gruppi di trattamento: 600 mg/die alla sera (180 mg di PAC secondo Farmacopea e 60 mg secondo DMAC), 600 mg ogni 12 ore e 1200 mg/die alla sera (360 mg di PAC secondo Farmacopea e 120 mg secondo DMAC). Per tutti il trattamento durava 5 giorni. Le urino-colture venivano eseguite all'arruolamento, dopo 5 giorni di terapia e dopo ulteriori 5 giorni di wash-out (t=10).

Nelle Tabelle 1-3 vengono riportati l'andamento della carica microbica e la tollerabilità di ogni singolo paziente. Questi dati, per ora preliminari e in corso di rivalutazione nell'ambito di una sperimentazione ospedaliera controllata, mostrano una evidente dose-risposta e suggeriscono come un dosaggio di 120 mg di PAC (valutate con metodo DMAC) possa essere una potenziale valida alternativa all'impiego della antibiotico-terapia almeno per quanto concerne situazioni molto controllate (assenza di febbre, sintomi non gravosi).

Tabella 3 Andamento (UFC/mL) in pazienti con diagnosi di cistite acuta trattati per 5 giorni con 1200 mg di preparazione gastroprotetta

Paz	S	t=0	t=5	t=10	T
GM	M	Enterococco > 100.000	Sterile	Sterile	B
FP	M	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	B
GB	F	Candida > 100.000	Candida < 50.000	<i>E. coli</i> < 50.000	B
MM	M	<i>E. coli</i> > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	B
MJ	F	Enterococco > 100.000	Sterile	Sterile	O
LC	F	Candida > 100.000	Candida < 50.000	<i>E. coli</i> < 50.000	B
SL	F	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	O
PS	F	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	B
RP	F	Enterococco > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	B
MM	M	Candida > 100.000	Candida < 50.000	Sterile	O
RT	F	Candida > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	B
MF	F	<i>E. coli</i> > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	B
MR	F	Enterococco > 100.000	<i>E. coli</i> < 50.000	Sterile	O
AR	F	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	B
GT	F	<i>E. coli</i> > 100.000	Sterile	Sterile	B

Paz = paziente; S= sesso; T= tollerabilità; B= buona; O= ottima

CONCLUSIONI

L'estratto di *Vaccinium macrocarpon* è senza dubbio un prodotto che ben si affianca all'armamentario medico nella terapia delle cistiti ricorrenti da batteri fimbriati. La sua azione è fortemente legata alla presenza delle PAC. La loro presenza per quantitativi di almeno 36 mg è potenzialmente garanzia di successo. Pertanto il metodo analitico deve essere eseguito con cura e i livelli trovati vanno riparametrati, a seconda del metodo utilizzato.

Gli estratti normalmente titolati secondo il metodo della Farmacopea Europea per un contenuto del 30% in PAC manifestano attività clinica a par-

tire dalla dose di 400 mg/die di estratto. Gli estratti titolati al 30% secondo il metodo della Farmacopea Europea resi gastroprotetti, mediante l'impiego di sostanze filmanti di grado alimentare, manifestano attività a partire da 200 mg/die, e a 400 mg/die offrono copertura prossima al 100% dei casi (nella prevenzione della cistite ricorrente). Somministrazioni di 1200 mg/die di prodotto gastroprotetto hanno una buona efficacia clinica anche nella terapia della cistite acuta. Per poter stabilire la reale efficacia di una preparazione di *Vaccinium macrocarpon* è quindi necessario prestare molta attenzione alla metodica analitica usata per determinare la reale correlazione tra presenza di

PAC e attività. Senza questa determinazione, l'azione di un preparato, comunque altamente standardizzato, può essere rivendicata solo dopo aver eseguito una valutazione clinica che tenga conto di una curva dose-effetto. Una sperimentazione contro antibiotico-terapia nel trattamento della cistite acuta (con protocollo approvato dal Comitato Etico locale) è attualmente in corso in sede ospedaliera e i risultati saranno oggetto di valutazione ed interpretazione anche alla luce dei precedenti risultati ottenuti.

Ringraziamenti

Si ringrazia Giovanni Appendino per l'attenta revisione del manoscritto.

BIBLIOGRAFIA

- 1 www.ministerodellasanita.com
- 2 **Gao M, Yuan X, Xiao H (2008)**
Preparation of asiaticoside and madecassoside from the extract of *Centella asiatica* L. Urb using preparative high performance liquid chromatography
Se Pu 26(3) 362-365
- 3 **Shan JJ, Rodgers K, Lai CT, Sutherland SK (2007)**
Challenges in natural health product research: The importance of standardization
Proc West Pharmacol Soc 50 24-30
- 4 **Weinmann S, Roll S, Schwarzbach C, Vauth C, Willich SN (2010)**
Effects of *Ginkgo biloba* in dementia: systematic review and meta-analysis
BMC Geriatr 17 10-14
- 5 **Anonymous (2008)**
Harpagophytum procumbens (devil's claw)
Monograph Altern Med Rev 13(3) 248-252
- 6 **Iriti M, Faoro F (2009)**
Bioactivity of grape chemicals for human health
Nat Prod Commun 4(5) 611-634
- 7 **Sharma A, Gupta NK, Dixit VK (2010)**
Complexation with phosphatidyl choline as a strategy for absorption enhancement of boswellic acid
Drug Deliv 17(8) 587-595
- 8 **Guay DR (2009)**
Cranberry and urinary tract infections.
Drugs 69(7) 775-807
- 9 **Pappas E, Schaich KM (2009)**
Phytochemicals of cranberries and cranberry products: characterization, potential health effects, and processing stability
Crit Rev Food Sci Nutr 49(9) 741-781
- 10 **Howell AB, Botto H, Combescure C, Blanc-Potard AB, Gausa L et al (2010)**
Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study
BMC Infect Dis 14 10-94
- 11 **Rossi R, Porta S, Canovi B (2010)**
Overview on cranberry and urinary tract infections in females
J Clin Gastroenterol 44(Suppl 1) S61-S62
- 12 **Pinzón-Arango PA, Liu Y, Camesano TA (2009)**
Role of cranberry on bacterial adhesion forces and implications for *Escherichia coli*-uroepithelial cell attachment
J Med Food 12(2) 259-70
- 13 **Blatherwick J (1923)**
Vaccinium macrocarpon
J Biol Chem 57 815-818
- 14 **Avorn J, Monane M, Gurwitz JH, Glynn RJ, Choodnovskiy I, Lipsitz LA (1994)**
Reduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry juice
JAMA 271(10) 751-754
- 15 **Bailey DT, Dalton C, Joseph Daugherty F, Tempesta MS (2007)**
Can a concentrated cranberry extract prevent recurrent urinary tract infections in women? A pilot study
Phytomedicine 14(4) 237-241
- 16 **Pappas E, Schaich KM (2009)**
Phytochemicals of cranberries and cranberry products: characterization, potential health effects, and processing stability
Crit Rev Food Sci Nutr 49(9) 741-781
- 17 **Matsushima M, Suzuki T, Masui A, Kasai K, Kouchi T et al (2008)**
Growth inhibitory action of cranberry on *Helicobacter pylori*
J Gastroenterol Hepatol 23(Suppl 2) S175-S180
- 18 **Di Piero F, Bonetta A, Rapacioli G (2009)**
Impiego di un estratto altamente standardizzato e gastroprotetto di *Vaccinium macrocarpon*. Efficacia clinica nelle infezioni vescicali
Integr Nutriz 12(4) 19-23

*Autore per la corrispondenza
Francesco Di Piero
 email f.dipiero@vellejaresearch.com