

# Sadržaj hlapljivih tvari u sirovinama i dodacima prehrani koji se koriste za ublažavanje simptoma menopauze

---

Picig, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:622473>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

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



**Petra Picig**

**Sadržaj hlapljivih tvari u sirovinama i dodacima prehrani  
koji se koriste za ublažavanje simptoma menopauze**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023. godina

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Analitika lijekova Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Ane Mornar Turk.

Zahvaljujem mentorici prof.dr.sc. Ani Mornar Turk na vodstvu, razumijevanju, trudu, pomoći i savjetima tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela te izrade diplomskog rada.

Najviše zahvaljujem svojoj obitelji na pružanju bezuvjetne podrške, potpore i motivacije tijekom cijelog studiranja, a posebice mami i tati. Vi ste razlog zbog kojeg danas čvrsto stojim na svojim nogama. Veliko hvala Marina, Krunoslave, Ljiljana, Dragica, Siniša, Antonio, Mihaela, Leone, Lana, Štefica i Vinko. Bez vas dosad postignuto ne bi bilo moguće.

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Menopauza.....	1
1.1.1. Simptomi menopauze.....	1
1.1.2. Liječenje simptoma menopauze.....	2
1.2. Biljne vrste koje se koriste za ublažavanje simptoma menopauze.....	3
1.2.1. Aloe vera - Aloe barbadensis, Asphodelaceae.....	3
1.2.2. Crvena riža.....	4
1.2.3. Lan - Linum usitatissimum, Linaceae.....	4
1.2.4. Soja – Glycine max, Fabaceae.....	5
1.2.5. Konopljika – Vitex agnus-castus, Verbenaceae.....	6
1.2.6. β-glukani.....	6
1.2.7. Obični grah - Phaseolus vulgaris, Fabaceae.....	7
1.2.8. Hmelj – Humulus lupulus, Cannabaceae.....	8
1.2.9. Ljekovita kadulja – Salvia officinalis, Lamiaceae.....	9
1.2.10. Kineski čajevac - Camellia sinensis, Theaceae.....	10
1.3. Farmakopeja.....	10
1.3.1. Hrvatska farmakopeja.....	11
1.3.2. Europska farmakopeja.....	12
1.3.3. Farmakopeja Sjedinjenih Američkih država.....	13
1.3.4. Japanska farmakopeja.....	14
1.3.5. Harmonizacija.....	14
1.4. Gubitak sušenjem.....	15

2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	18
3. MATERIJALI I METODE.....	19
3.1. Materijali.....	19
3.1.1. Uzorci.....	19
3.1.2. Radni instrumenti.....	22
3.1.3. Specifičan pribor.....	22
3.2. Metode.....	22
3.2.1. Priprema uzoraka.....	22
3.2.2. Analiza uzoraka.....	22
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	23
5. ZAKLJUČAK.....	28
6. LITERATURA.....	29
7. SAŽETAK/SUMMARY.....	34

# 1.UVOD

## 1.1. MENOPAUAZA

Menopauza je jedan od značajnijih događaja u životu žene, karakterizirana gubitkom reproduktivne sposobnosti. Smatra se da je žena ušla u menopauzu ukoliko je od posljednje menstruacije proteklo 12 mjeseci. Reproductivno starenje definira se poremećajem u regulaciji osi hipotalamus-hipofizajajnik. Hipotalamus luči GnRH koji se veže za svoj receptor na hipofizi, pri čemu ona luči FSH. FSH cirkulacijom dolazi do jajnika, pri čemu on luči estrogene. Izlučivanje estradiola iz folikula u razvoju pridonosi kontroli negativne povratne sprege FSH djelujući na hipotalamus, uz dodatno izlučivanje inhibina B i inhibina A čime se osigurava inhibicija FSH u hipofizi. Inhibicija FSH je nužna kako bi se osiguralo da samo jedan folikul sazrije, ovulira i bude spreman za oplodnju. U ranim fazama reproduktivnog starenja dolazi do pada razine inhibina B i posljedičnog povećanja koncentracije FSH što negativno utječe na mogućnost ovulacije i trudnoće, ali se ona još može dogoditi. Daljnjim gubitkom funkcije jajnika postoji izrazita varijabilnost u dinamici ciklusa te razinama estradiola i FSH, a nakon posljednje menstruacije razine estradiola zadržavaju se na vrlo niskim razinama. Prosječna dob ulaska u menopauzu iznosi 51 godinu (Hall, 2015).

### 1.1.1. Simptomi menopauze

Najčešći simptomi menopauze su vazomotorni, valunzi i noćno znojenje koji se javljaju u oko polovine žena, a mogu potrajati i do 5 godina. Navala vrućine, takozvani valung, je prolazni subjektivan osjećaj vrućine koji traje u prosjeku od 4 do 10 minuta. Često je praćen razdražljivošću, tjeskobom, palpitacijama srca, panikom i crvenilom lica. Smatra se da je uzrok valunga povišenje tjelesne temperature uz suženje termoneutralne zone koja snižava prag znojenja, a glavni uzrok je povećana koncentracija noradrenalina i serotonina u mozgu. Noradrenalin djeluje preko svojih  $\alpha_2$  adrenergičkih receptora uzrokujući perifernu vazodilataciju i pad temperature, dok serotonin povećanom aktivacijom svojih 5-HT<sub>2A</sub> receptora mijenja termoregulaciju u hipotalamusu (Albertazzi, 2006). Posljedično dolazi do vazodilatacije, odnosno širenja krvnih žila i znojenja. Ostali simptomi poredani od najučestalijih su glavobolja, vrtoglavica, palpitacije srca, vaginalna suhoća, nesanica, depresija i povećanje tjelesne težine. Svega 10% žena ne osjeća simptome menopauze (McKinlay i Jefferys, 1974). Većina simptoma povezana je uz smanjenu koncentraciju

estrogena. Nadalje, smanjen je i protektivni učinak estrogena za nastanak kardiovaskularnih bolesti, a riziku dodatno doprinose pušenje, smanjena tjelesna aktivnost, alkohol i genetika. Potiče se aktivacija osteoklasta uz smanjenje funkcije osteoblasta što za posljedicu nosi rizik od prijeloma i osteoporoze, što je i najčešća indikacija za uvođenje terapije. Sluznica rodnice je tanka i suha što uzrokuje bolne odnose, a podložna je i infekcijama. Osim navedenog, koža je gruba, suha i gubi elastičnost budući da nema protektivnog učinka estrogena na prokrvljenost. Najnovije istraživanje pokazuje kako su simptomi menopauze više izraženi ovisno o geografskom položaju. Sukladno tome, bolovi u zglobovima su najčešće tegobe u žena u Aziji i SAD-u; depresija, seksualne disfunkcije i bolovi u Južnoj Americi; vazomotorni simptomi i seksualna disfunkcija u Australiji; depresivni poremećaji u Aziji, a poremećaji spavanja u Europi (Pop i sur., 2023).

### **1.1.2. Liječenje simptoma menopauze**

Najučinkovitija terapija liječenja simptoma menopauze je hormonska nadomjesna terapija koja može sadržavati samo estrogensku komponentu ili estrogensku u kombinaciji s progesteronom. Terapija estrogenima primijenit će se u žena u kojih je učinjena histerektomija, dok će žene s maternicom morati primjenjivati kombiniranu terapiju zbog protektivnog učinka progesterona u kombinaciji s estrogenom koji potvrđeno povećava rizik od karcinoma endometrija, jajnika i dojke. Hormonska nadomjesna terapija mora se uzimati u što kraćem vremenu i u minimalnoj dozi u indikaciji smanjenja valunga i noćnog znojenja. U razdoblju od 2002.-2009. godine zbog straha od estrogenske komponente i karcinoma, potražnja za oralnom hormonskom nadomjesnom terapijom pala je za 70 %, dok se istovremeno povećao interes za primjenu transdermalnih i vaginalnih načina primjene (krema i vaginaleta). Estradiol ne utječe na simptome depresije i promjena raspoloženja, no smanjit će bol u zglobovima i smanjiti rizik od fraktura. Iduća terapijska mogućnost je intranazalni progesteron, koji poboljšava kvalitetu spavanja. Ukoliko žena u postmenopauzi boluje od osteoporoze, lijekovi izbora su bisfosfonati. Međutim, suradljivost pacijentica je smanjena zbog čestih gastrointestinalnih nuspojava i loše apsorpcije, što vodi i izostanku učinka (Pop i sur., 2023). Zbog strahova od primjene lijekova i njihovih neželjenih učinaka, žene su sklone uzimanju prirodnih preparata, fitoestrogena. Fitoestrogeni su prirodne sastavnice biljaka čiji su aktivni metaboliti strukturno slični estradiolu. Novija istraživanja ukazuju na učinkovitost fitoestrogena u smanjenju intenziteta i učestalosti valunga, smanjenju vaginalne atrofije, zdravlju kostiju i

poboljšanju kognitivnih sposobnosti. Iako su prijašnja istraživanja ukazivala na mogući povećani rizik od raka dojke i hiperplazije endometrija njihovom upotrebom, novija tu tezu opovrgavaju. Fitoestrogeni su sigurna i učinkovita alternativa hormonskoj nadomjesnoj terapiji, no ne preporučuju se ženama koje u anamnezi imaju karcinom dojke i karcinom reproduktivnih organa ovisan o estrogenu (Bedell i sur., 2014).

## **1.2. BILJNE VRSTE KOJE SE KORISTE ZA UBLAŽAVANJE SIMPTOMA MENOPAUZE**

### **1.2.1. Aloe Vera - *Aloe barbadensis*, Asphodelaceae**

Aloe vera je grmolika kserofitna višegodišnja biljka i raste u suhim područjima Europe, Azije, Afrike i Amerike. Biljka ima mesnate listove nazubljenih vrhova, a svaki od njih sastoji se od 3 sloja: vanjskog debelog koji je zapravo kora i ima zaštitnu ulogu, srednjeg gorkog žutog sloja koji je sok te sadrži antrakinone i glikozide, i unutarnjeg prozirnog sloja koji sadrži 99 % vode, aminokiseline, sterole, lipide i vitamine. Aloe vera sadrži oko 75 aktivnih sastojaka pretežno iz unutarnjeg sloja. Najčešća indikacija za primjenu aloe vere je zacjeljivanje rana i oštećenje kože uzrokovano UV-zrakama. Dokazano je da nakon lokalne i oralne primjene aloe vere glukomanan i hormon rasta giberelin potiču proliferaciju fibroblasta, čime se posljedično povećava sinteza i unakrsno povezivanje kolagena. Nadalje, povećava se sinteza hijaluronske kiseline i dermatan sulfata u tkivu rane koja zacjeljuje. Nakon lokalne primjene u koži se stvara protein metalotionein koji hvata hidroksilne radikale i posljedično smanjuje reakciju preosjetljivosti uzrokovane UV-zračenjem (Surjushe i sur., 2008). Aloe vera klinički dokazano djeluje na simptom vaginalne atrofije u žena u postmenopauzi. Prema dvostruko slijepom randomiziranom istraživanju, vaginalna krema koja sadrži aloe veru jednako je učinkovita kao krema u kojoj je estrogen aktivna tvar (Poordast i sur., 2021). Osim toga, vaginalna krema s aloe verom može se koristiti dulje vrijeme, prije spolnog odnosa i ne utječe na funkcionalnost mehaničke zaštite, dok se kreme s estradiolom smiju koristiti maksimalno 4 tjedna.



### **1.2.2. Crvena riža**

Crvena riža dobiva se fermentacijom i uzgojem crvenog kvasca *Monascus Purpureus* na riži. U usporedbi s placebom, crvena riža pokazala je bolji učinak na sprječavanje infarkta miokarda te ukupnih kardiovaskularnih događaja i smrti. Studije su pokazale sniženje ukupnog kolesterola, LDL-kolesterola, triglicerida te povećanje HDL-kolesterola čime je potvrđen učinak na dislipidemiju. Međutim, budući da crvena riža sadrži monakolin K (lovastatin) kao djelatnu tvar, postoje brojne kontroverze oko sigurnosti primjene. Lovastatin kao lijek za snižavanje kolesterola u krvi povučen je s tržišta zbog učestalih mialgija, miozitisa i rabdomioliza, no sastavni je dio dodataka prehrani. Meta-analiza iz 2022. godine zaključila je da je crvena riža učinkovitija od statina u snižavanju triglicerida, usporediva u sniženju LDL-a i povišenju HDL-a, te manje učinkovita u sniženju ukupnog kolesterola. Konačno, doze 200-4800 mg dnevno su sigurne i učinkovite, no autori ostavljaju prostor kliničkim ispitivanjima duljeg razdoblja promatranja kako bi se ustanovila sigurnost i učinkovitost crvene riže kao lijeka u kroničnoj terapiji (Li i sur., 2022). Menopauza kod žena vodi do promjena u metabolizmu koje utječu na profil lipida. Naime, estrogen potiče održavanje razine zdravih lipida, a opadanjem njegove razine gubi se prirodni obrambeni mehanizam. Niz studija je pokazao kako kod žena u menopauzi dolazi do povišenja razine kolesterola i triglicerida; u prve dvije godine menopauze koncentracija LDL-a naraste oko 9%, a ukupnog kolesterola za 6,5%. Nadalje, podatci upućuju na pozitivan učinak crvene riže na osteoporozu, umor i pamćenje koji su jedni od karakterističnih simptoma menopauze (Yang i sur., 2012).

### **1.2.3. Lan-Linum usitatissimum, Linaceae**

Lan je jednogodišnja zeljasta biljka te jedna od najstarije uzgajanih biljaka korištena za dobivanje tekstilnog vlakna. Sastoji se od uspravne stabljike, uskih listova, plavih cvjetova i plodova koji daju plosnate sjemenke smeđe boje. Sjemenke sadrže sluzi, vitamine, minerale, fitosterole, bjelančevine i 40 % masnog ulja (linolenska, linolna, oleinska, palmitinska i stearinska kiselina). Lignan je jedan od sastojaka koji strukturno slični estrogenu, veže se za njegove receptore na tkiva žene u menopauzi i reducira pojavnost simptoma. Studije pokazuju pozitivnu korelaciju korištenja sjemenki lana i smanjenja intenziteta i pojavnosti valunga, u kojem se koristilo 15 grama lanenih sjemenki tijekom 7 tjedana. Intenzitet simptoma menopauze smanjio se za 9,8 %, dok je kvaliteta

života posljedično porasla (Nowak i Jeziorek, 2023). Ključno je pravilno informirati i educirati žene o menopauzi kako bi kvaliteta života ostala na visokoj razini unatoč simptomima koji su neminovno prisutni u tom prijelaznom razdoblju (Cetils i sur., 2015).

#### **1.2.4. Soja – *Glycine max*, Fabaceae**

Soja je jednogodišnja zeljasta biljka uspravne, razgranate i dlakave stabljike koja može doseći visinu i do 2 metra. Plod je od 3 do 8 cm duga mahuna koja sadrži glatke spljoštene sjemenke žute ili crne boje. Sjemenka soje sadrži brojne aktivne sastavnice koje djeluju povoljno na ljudski organizam. Jedan od njih su inhibitori tripsina, odnosno inhibitori proteaze koji imaju dokazano antitumorsko djelovanje čiji mehanizam nije potpuno jasan, no pretpostavlja se da suzbijaju početnu i naprednu fazu kancerogeneze. Glavna sastavnica inhibitora proteaze je lunazin, peptid građen od 43 aminokiseline koji inhibira tumorigenezu kože kada se primijeni lokalno. Isti učinak na karcinogenezu posjeduju i lektini, no oni smanjuju staničnu diobu tumorskih stanica. Saponini soje zbog svoje amfifilne strukture imaju hemolitičko, hipokolesterolemijsko i imunostimulirajuće djelovanje. U kontekstu menopauze najznačajnije su sastavnice sojini izoflavonoidi daidzein, genistein i glicitin. Izoflavoni imaju dualni učinak; oni prvenstveno ispoljavaju djelotvorne učinke preko estrogenskih receptora što rezultira smanjenju učestalost raka dojke, kardiovaskularnih bolesti i osteoporoze, no djeluju i kao inhibitori tirozin kinaze što ih svrstava u kategoriju dobrih antioksidansa (Barac i sur., 2005). Nadalje, istraživanja pokazuju pozitivan učinak izoflavonoida i proteina soje iz prehrane na rast mišićne mase te sprječavanje razvoja osteosarkopenije uz istovremeni utjecaj na metabolizam glukoze i smanjenje tjelesne težine. Naime, fitoestrogeni će djelovati pozitivno na osteoblaste i spriječiti moguće prijelome, i poticati će oksidaciju masti u skeletnim mišićima čime će doći do inhibicije stvaranja masti u jetri i nakupljanja visceralne masti. Posljedično pada rizik od kardiovaskularnih oboljenja i smrti (Tang i sur., 2020). Daidzeni, genistein i S-ekvol smanjuju valunge i druge vazomotorne simptome, normaliziraju krvni tlak i glikemiju, ublažavaju simptome depresije, smanjuju rizik od raka dojke, debelog crijeva, endometrija i mokraćnog mjehura. Međutim, nije dokazana povezanost konzumacije soje i pozitivnog djelovanja na urogenitalni i kognitivni sustav (Chen i Chen, 2021).

### 1.2.5. Konopljika – *Vitex agnus-castus*, Verbenaceae

Konopljika je listopadni grm koji može narasti i do 2 metra u visinu. Sastavni dijelovi su dlanasto razdijeljeni listovi, plavoljubičasti cvjetovi i plodovi koji su sive okruglaste koštunice. Bioaktivni spojevi konopljike iridoidi, diterpeni, ekdisteroidi i flavonoidi posjeduju antibakterijska, antitumorska, antifungalna i protuupalna svojstva. Biljka je poznata po svojoj tradicionalnoj uporabi u prevenciji raka i pomoći kod zdravstvenih problema povezanih sa ženskim stanjima (Kamal i sur., 2022). Studije potvrđuju činjenicu da konopljika smanjuje anksioznost i vazomotorne te ukupne menopauzalne simptome. Smatra se da flavonoid viteksin izravno utječe na hipofizu, posebice na dio koji je zaslužan za lučenje luteinizirajućeg hormona. Posljedica je povećanje koncentracije progesterona i smanjenje simptoma povezanih s padom razine spolnih hormona. Dodatni učinak flavonoida konopljike je vezanje za dopaminski receptor na hipofizi i inhibicija oslobađanja prolaktina. Ukoliko je prisutna previsoka razina prolaktina dugotrajno, mogu se očekivati problemi s inzulinskom rezistencijom, hiperinzulinemijom, poremećenim metabolizmom glukoze i lipida, pretilošću, osteoporozom i aterosklerotskim bolestima, iz čega se zaključuje da konopljika djeluje blagotvorno na navedena stanja (Nasseri i sur., 2019). Ekstrakt konopljike pokazao se učinkovitim u pravilnom funkcioniranju jetre te očvršćivanju kortikalne i trabekularne kosti u postmenopauzalnih žena (Rafieian i Movahedi, 2017).

### 1.2.6. Beta glukani

$\beta$ -glukani su topljiva dijetalna vlakna, polisaharidi sastavljeni od velikog broja molekula D-glukoze povezane (1,3), (1,4) i (1,6)  $\beta$ -glikozidnim vezama. Izvori  $\beta$ -glukana su stanične stijenke mekinja žitarica, poput ječma, raži, pšenice i zobi, i stijenke algi, kvasaca, bakterija i gljiva, poput Maitake, Reishi i Shiitake. Fiziološki učinak  $\beta$ -glukana ostvaruje se fizikalno-kemijskom strukturom  $\beta$ -glukana i njegove sposobnosti stvaranja viskozne otopine u gornjem dijelu gastrointestinalnog trakta te fermentaciji u debelom crijevu. Dosad provedene studije utvrđuju da  $\beta$ -glukani stimuliraju stanični i humoralni imunitet, što dokazuju *in vitro* povećanom aktivnosti makrofaga, mononuklearnih stanica, neutrofila i NK stanica. Danas je povećan interes za razumijevanje povezanosti suplementacije  $\beta$ -glukanima i metaboličkog sindroma. Studije na ljudima i životinjama pokazuju korelaciju konzumiranja  $\beta$ -glukana tijekom 8 tjedana sa sniženjem serumske koncentracije ukupnog kolesterola, uz povećanje HDL-kolesterola. Nadalje, istraživanja upućuju i

na smanjenje postprandijalne glukoze u krvi što se objašnjava odgođenim pražnjenjem želuca i apsorpcijom zbog viskoznosti sadržaja u crijevima. Viskozni sadržaj onemogućava difuziju probavnih enzima i smanjuje transport glukoze do enterocita.  $\beta$ -glukan u debelom crijevu razgrađuju anaerobne bakterije do kratkolančanih masnih kiselina. To su prvenstveno propionska i maslačna kiselina koje povećavaju ekspresiju GLUT-4 transportera za ulazak glukoze u mišićne stanice. Time se objašnjava činjenica da  $\beta$ -glukani povoljno djeluju na inzulinsku rezistenciju. Učinak  $\beta$ -glukana na sniženje arterijskog tlaka objašnjen je preko posrednih mehanizama djelovanja. Inzulinska rezistencija, povećana tjelesna težina i ukupni kolesterol uzroci su povećanog tlaka, a  $\beta$ -glukani djelujući na uzroke rješavaju i konačni problem. Učinak  $\beta$ -glukana na pretilost objašnjava se činjenicom da viskozni sadržaj u crijevima rezultira osjećajem sitosti, no i otpuštanjem peptida uzrokovano fermentacijom i nastajanjem kratkolančanih masnih kiselina. Iz intestinalnih L-stanica pojačano se luče PYY (anoreksik koji smanjuje apetit), GLP-1 (inkretinomimetik, stimulira lučenje inzulina), dok se iz I-stanica luči kolekistokinin (hormon sitosti). S druge strane, grelin kao oreksigeni peptid koji povećava apetit je inhibiran djelovanjem kratkolančanih masnih kiselina (El Khoury i sur., 2012). Iako nema provedenih istraživanja na ženama u postmenopauzi, može se zaključiti da bi suplementacija  $\beta$ -glukanima imala povoljan utjecaj na probleme koji su prisutni u tom životnom razdoblju. Provedeno istraživanje na ženskim miševima kojima je izvršena ovarijektomija pokazalo je da suplementacija  $\beta$ -glukanom smanjuje broj degeneriranih neurona koji nastaju uslijed povećane produkcije reaktivnih kisikovih radikala i posljedično oksidacijskog stresa zbog nedostatka estrogena. Zaključno,  $\beta$ -glukan smanjuje oksidativni stres u tkivu mozga u postmenopauzi i djeluje pozitivno na kognitivne sposobnosti (Selli i sur., 2016).

### **1.2.7. Obični grah - *Phaseolus vulgaris*, Fabaceae**

Obični grah je jednogodišnja zeljasta biljka koja ovisno o sorti može biti penjačica ili grmolika biljka. Glavni dijelovi biljke su tanka i uspravna stabljika koja može narasti do 3 metra, vretenasti korijen, listovi sastavljeni od tri lisice te cvjetovi bijele, žute i ljubičaste boje. Plodove predstavljaju od 10 do 20 cm dugačke mahune u kojima se nalaze sjemenke bubrežastog oblika raznih boja ovisno o vrsti - zelene, smeđe, žute, crvene i bijele. Flavonoidi i fenolne kiseline sadržane u sjemenkama graha imaju kardioprotektivna, antidijabetička, antihipertenzivna, hipolipidemijska,

antioksidacijska i protuupalna te antiproliferativna svojstva protiv razvoja karcinoma. Antocijani, poput delfinidina, petunidina i malvidina korisni su u kontroli glikemije te smanjuju rizik nastanka kardiovaskularnih bolesti. Fermentacijom složenih vlakana i škrobova u debelom crijevu nastaju kratkolančane masne kiseline koje uzrokuju osjećaj sitosti i s time povezani gubitak tjelesne težine, smanjuju inzulinsku rezistenciju i pozitivno utječu na crijevni mikrobiom (Mullins i Arjmandi, 2021). Osim navedenog, grah je bogat važnim mikronutrijentima, uključujući kalij, magnezij, cink, željezo, folnu kiselinu, bakar, fosfor i mangan (Messina, 2014). Istraživanje provedeno na ovarijektiranim miševima kojima su ponuđene sjemenke graha rezultiralo je smanjenom pojavom osteopenije izazvanu nedostatkom estrogena bez utjecaja na endometrij (Shirke i Sarika, 2009). Budući da sadrži flavonoide koji pokazuju estrogensku aktivnost, grah smanjuje intenzitet valunga, vaginalnu suhoću i ukupne menopauzalne tegobe, dok istovremeno povećava mineralnu gustoću kostiju (Anderson i sur., 1999).

### **1.2.8. Hmelj – *Humulus lupulus*, Cannabaceae**

Hmelj je biljka karakterizirana kao trajna penjačica zahvaljujući stabljici koja se dlakama penje za druge biljke u smjeru kazaljke na satu i može doseći ukupnu visinu od 9 metara. Ima vretenasti korijen, nasuprotno i dlanasto urezane listove i cvjetove koji se razlikuju jer je hmelj dvodomna biljka. Plodovi hmelja su sivi jajasti oraščići veličine od 2 do 3 mm. Aktivne sastavnice hmelja su ksantohumol i terpeni koji pokazuju izraziti antioksidativni potencijal, zatim humulon i lupulon koji djeluju antimikrobno, posebice protiv sojeva MRSA-e, zbog čega se hmelj i koristi u pivu kao prirodni konzervans. Gorke kiseline i polifenoli pokazuju snažan protuupalni učinak inhibicijom NF- $\kappa$ B koji je uključen u ekspresiju proupalnih citokina (Karabín i sur., 2016). Spomenuti ksantohumol je identificiran kao noviji agens uspješan u liječenju različitih vrsta raka temeljen na apoptozi ljudskog alveolarnog adenokarcinoma (Yong i sur., 2015). Provedene su i studije koje potvrđuju tezu da ksantohumol u ekstraktu hmelja inducira staničnu smrt ljudskih stanica raka dojke ovisnu o kaspazi 8 (Roehrer i sur., 2019). Hmelju se pripisuju i druge bioaktivnosti, uključujući neuroprotektivne, kardioprotektivne i antidijabetičke (Astray i sur., 2020). Učinak na menopauzu pripisuje se snažnom fitoestrogenu, 8-prenilnaringenininu koji se svojom polifenolnom strukturom veže na estrogene receptore. Smatra se da je 8-prenilnaringenin 8 puta jači od ostalih fitoestrogena iz drugih biljnih vrsta (Abdi i sur., 2016). Uporaba hmelja rezultira smanjenjem

intenziteta i učestalosti valova vrućine, znojenja, nesаницe i palpitacija srca. Osim toga, katehin u hmelju koristan je u liječenju anksioznosti, glavobolje, edema, poremećaja spavanja i smanjenju bolova u zglobovima (Abdi i sur., 2016). Studija iz 2023. godine dokazuje dodatan benefit primjene hmelja u menopauzi, a to je smanjenje seksualne disfunkcije. Ekstrakt hmelja primjenjivao se u obliku vaginalete i pokazao jednaku učinkovitost smanjenja seksualne disfunkcije kao i estrogen u hormonskoj nadomjesnoj terapiji, ali bez nuspojava (Vahedpoorfard i sur., 2023).

### **1.2.9. Ljekovita kadulja – *Salvia officinalis*, Lamiaceae**

Kadulja je višegodišnja biljka karakterizirana stabljikom koja doseže visinu do 70 cm, razvijenim korijenom, sivkastozelenim eliptičnim dlakavim listovima i cvjetovima plave do ljubičaste boje. Plod kadulje je kalavac koji se dijeli na od 2 do 3 mm glatke oraščiće tamnosmeđe boje. Ljekovita kadulja i njezine aktivne sastavnice istraživane su u brojnim studijama i dokazane su učinkovitosti (Ghorbani i Esmaeilizadeh, 2017). Potencijalno antitumorsko djelovanje pripisuje se terpenima kariofilenu i humulenu te ursolinskoj i ružmarinskoj kiselini. Ružmarinska kiselina inhibira rast stanica raka dojke, debelog crijeva, malih stanica pluća i kroničnu mijeloičnu leukemiju (Yesil-Celiktas i sur., 2010). Karnozol, ružmarinska kiselina, karnozinska kiselina, kafeinska kiselina i rozmanol pokazuju snažan antioksidativni učinak čime preveniraju nastanak bolesti uzrokovanih oksidativnim stresom, poput tumora, kardiovaskularnih poremećaja, neuroloških bolesti i dijabetesa (Cuvelier i sur., 1996). Provedene farmakološke studije pokazale su da ekstrakt kadulje ima protuupalno i antinociceptivno djelovanje te da pomaže u kontroli neuropatske boli kod kemoterapije, što je vrlo dobra alternativa za nesteroidne protuupalne lijekove i izbjegavanje njihovih nuspojava (Mansourabadi i sur., 2015). Nadalje, postoji sve više dokaza da eterično ulje kadulje ima učinak na poboljšanje pamćenja i kognitivnih sposobnosti kod zdravih sudionika, kao i kod pacijenata s kognitivnim oštećenjem (Miroddi i sur., 2014). Konzumiranje lista kadulje ima povoljan utjecaj i na metabolički status budući da smanjuje koncentraciju ukupnog kolesterola, triglicerida, LDL i VLDL-kolesterola te postprandijalnu glukozu (Kianbacht i sur., 2011). Mogući mehanizmi hipoglikemijskog učinka su inhibicija glukoneogeneze hepatocita i smanjenje inzulinske rezistencije stimulacijom PPAR $\gamma$ -recetora (Christensen i sur., 2010). Studije provedene na ženama u menopauzi rezultirale su poboljšanjem pamćenja i kognitivnih sposobnosti što se

pripisuje antioksidativnom učinku kadulje na neurone mozga. Također, primjena kadulje reducirala je učestalost i intenzitet napadaja vrućine, napadaje crvenila te nesanicu (Zeidabadi i sur., 2020).

#### **1.2.10. Kineski čajevac - *Camellia sinensis*, Theaceae**

Kineski čajevac je vazdazeleni grm bijelih ili ružičastih cvjetova i listovima koji sadrže kofein, teobromin, tanine i teofilin. Najviše se uzgaja u Kini, Japanu, Nepal, Južnoj Koreji, Vijetnamu i Novom Zelandu. Prema legendi, kineski car Shen Nong davne 2700. godine prije Krista prokuhavao je vodu odmarajući ispod stabla. Kad je u lonac upalo nekoliko listića ove biljke, car je potaknut ugodnim mirisom kušao napitak i od tada se nalazi u primjeni kineskog naroda, a razvojem trgovine stigao je na sve kontinente. Lišće se suši u struji toplog zraka, usitnjava, podliježe fermentaciji pri kontroliranim uvjetima temperature i vlage te suši vrućim zrakom koji dovodi do prekida fermentacije. Tim postupkom dobiva se crni čaj, dok se za dobivanje zelenog čaja korak fermentacije izostavlja. Istraživanje na ovarijektiranim miševima pokazalo da ekstrakt zelenog čaja ima antidepresivni učinak budući da smanjuje stres u životinjskom modelu menopauze (Ye i sur., 2019). Budući da sadrži bogatstvo flavonoida i katehina, epigalokatehina i epikatehina, zeleni čaj koristan je u liječenju pretilosti, stresa, depresije i Parkinsonove bolesti, dok prisutni antioksidansi sprječavaju tumorigenezu. Epigalokatehin u ovarijektiranim miševima pokazuje dodatni učinak, sprječava gubitak koštane mase čime je reduciran rizik od osteoporoze i povezanih prijeloma. Zaključak studije je činjenica da zeleni čaj može biti učinkovit za jačanje kostiju i smanjenje rizika od prijeloma, osobito kod žena u menopauzi stoga se preporuča njegova konzumacija ili primjena u obliku čajeva i dodataka prehrani (Wu i sur., 2018).

### **1.3. FARMAKOPEJA**

Sastavljena od državnih ili regionalnih stručnih povjerenstava na temelju rezultata znanstvenih istraživanja, farmakopeja je državni akt službenih propisa koji utvrđuju zahtjeve i postupke za izradu i provjeru kakvoće lijeka. Sve farmaceutske sirovine koje se koriste u izradi gotovog lijeka ili magistralnih i galenskih pripravaka moraju odgovarati zahtjevima važeće farmakopeje. Sve sastavnice su kvantitativno i kvalitativno standardizirane kako bi postojalo odgovarajuće osiguranje kvalitete optimalno za zdravlje krajnjih potrošača. Farmaceutska tvar nema kakvoću

ako ne udovoljava svim zahtjevima monografije važeće farmakopeje. Sastavni dijelovi farmakopeje su *opći dio* koji se sastoji od uvoda, uputa, definicija i drugih općih propisa koji se odnose za sve monografije te *materia medica* koja obuhvaća monografije svih oficinalnih lijekova, ljekovitih tvari i droga. Svaka monografija sadrži naziv lijeka, opis ljekovite tvari (formula, simbol, molekulska ili atomska masa), definiciju (propisani sadržaj tvari), značajke, identifikaciju (mikroskopsku, makroskopsku i ostale tehnike), ispitivanje čistoće (ukupni pepeo, strane primjese, gubitak sušenjem), određivanje sadržaja i opća ispitivanja. Nadalje, monografije sadrže informacije o dozama, djelovanju i upotrebi, načinima sterilizacije, mogućim inkompatibilitetima i čuvanju. Najčešće preporučene i primjenjivane farmakopeje su europska (engl. *European Pharmacopoeia*, Ph. Eur.), američka (engl. *United States Pharmacopoeia*, USP), britanska (engl. *British Pharmacopoeia*, BP), japanska (engl. *Japanese Pharmacopoeia*, JP), njemačka (njem. *Deutsches Arzneibuch*, DAB) i švicarska (*Pharmacopoea Helvetica*, Ph. Helv.). Većina država ima i prati propise vlastite, nacionalne farmakopeje, a lijekovi i ljekovite tvari obrađene u farmakopeji karakteriziraju se kao oficinalni. Za države koje taj dokument ne posjeduju, svjetska zdravstvena organizacija savjetuje korištenje internacionalne farmakopeje (engl. *International Pharmacopoeia*, IP). Prvom službenom farmakopejom u svijetu smatra se djelo *Dispensatorium Valeriusa Cordusa* odobreno i tiskano u Nürnbergu davne 1546. godine.

### 1.3.1. Hrvatska farmakopeja

Hrvatska kao zemlja bogate povijesti ljekarništva, tada u sastavu Habsburške monarhije koristi njihove službene farmakopeje: *Pharmacopoeia Augustana*, *Dispensatorium Pharmaceuticum Austriaco-Viennense*, *Pharmacopoea Austriaco-Provincialis*, *Pharmacopoea Austriaca* te vojna farmakopeja *Pharmacopoea Austriaco-Castrensis*. Krajem 19. stoljeća raste otpor hrvatskih intelektualaca mađarizaciji na svim poljima, što rezultira objavljivanjem prve hrvatske farmakopeje na hrvatskom i latinskom jeziku 1888. godine po nazivom *Pharmacopoea Croatico-Slavonica*. Iako je dokument zapravo bio prijevod mađarske farmakopeje, farmakopeja na hrvatskom olakšala je rad većini ljekarnika i studenata. Prva izvorno hrvatska farmakopeja objavljena 1901. godine napisana je hrvatskim i latinskim jezikom pod nazivom *Hrvatsko-slavonski ljekopis*. Nova farmakopeja izostavila je 70-ak monografija zbog toksičnosti i nepouzdanosti, a uvela 75 novih monografija na temelju ankete koju je organizirao Ljekarnički



zbor uz potporu Hrvatskog farmaceutskog društva Aesculap. Opći, kemijski i galenski dio farmakopeje napisao je profesor Gustav Janeček, a farmakognosijski dio profesor Julije Domac (Inić i Kujundžić, 2013). Razdoblje od 1910. do 1990. urodilo je izdavanjem četiriju jugoslavenskih farmakopeja (*Pharmacopoea Jugoslavica* 1933., 1951., 1972. te 1984.). Potpisivanjem Konvencije o izradi Europske farmakopeje iz 1964. godine, Republika Hrvatska se 1994. obvezala primjenjivati i implementirati norme za lijekove objavljene u Europskoj farmakopeji. Kao potpisnica Protokola o izradi Europske farmakopeje, Hrvatska radom delegata sudjeluje u izradi i revidiranju europske farmakopeje ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Stoga su suvremene *Hrvatske farmakopeje* (1999., 2007., 2013. te 2019.) usklađene s Europskom farmakopejom. Sukladno Zakonu o lijekovima iz 2013. godine Hrvatsku farmakopeju izrađuje, izdaje i revidira Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode, HALMED (Narodne novine, br. 76/13).

### **1.3.2. Europska farmakopeja**

Europska farmakopeja podijeljena je na nekoliko poglavlja: opća poglavlja, opće monografije, monografije za cjepiva, imunoserume, radiofarmaceutike, biološke lijekove, antibiotike, biljne tvari i homeopatske pripravke te specifične monografije aktivnih farmaceutskih tvari, pomoćnih tvari i gotovih oblika lijekova.

Prvu europsku farmakopeju objavilo je Europsko ravnateljstvo za kakvoću lijekova i zdravstvenu skrb (engl. *European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare*, EDQM) 1964. godine na temelju Konvencije o izradi Europske farmakopeje u Strasbourgu te je sadržavala 120 monografija. Uredba i obveza konvencije bila je izraditi farmakopeju koja bi zemljama potpisnicama služila kao službeni standard izravnom implementacijom u nacionalno zakonodavstvo ili neizravnom implementacijom nacionalnim prijevodom. Norme koje zahtijeva Europska farmakopeja u monografijama su kvalitativna i kvantitativna ispitivanje kakvoće aktivne farmaceutske supstancije, svih sirovina koje se koriste u proizvodnji lijekova te međuprodukata u procesu sinteze. Svi proizvođači lijekova ili sirovina za farmaceutsku uporabu moraju slijediti propisane standarde kvalitete. U protivnom, neće moći plasirati i distribuirati proizvode na tržište država potpisnica Konvencije ([www.edqm.eu](http://www.edqm.eu)). Europsku farmakopeju izrađuje Komisija Europske farmakopeje, radno tijelo Vijeća Europe formirano pri EDQM. Komisiju Europske farmakopeje čine delegati zemalja potpisnica Konvencije, pri čemu svaka delegacija ima najviše 3 člana i 3

zamjenika postavljenih na temelju njihove kompetencije. Zadatak članova delegacije je redovno prisustvovati sjednicama Komisije Europske farmakopeje u EDQM-u u Strasbourgu, davanje prijedloga za uvođenje, ukidanje ili reviziju monografije, imenovanje stručnjaka u stručne grupe te komunikacija s Nacionalnim farmakopejskim tijelom (engl. *National Pharmacopoeia Authorities*, NPA). Nacionalni prijedlozi vezani uz uvođenje, reviziju ili ukidanje monografije ili općeg poglavlja Europske farmakopeje šalju se NPA-u koji daje konačnu odluku na temelju dokumentacije hoće li prijedloge putem delegacije proslijediti tajništvu Komisije Europske farmakopeje na usvajanje. NPA u Republici Hrvatskoj je Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode, HALMED preko koje se formalno odvija komunikacija s EDQM-om. U HALMED-u je 2014. godine osnovano i Povjerenstvo za farmakopeju Agencije za lijekove i medicinske proizvode koje usko surađuje s tijelima ostalih zemalja potpisnica i Komisijom Europske farmakopeje. Povjerenstvo se u pravilu sastaje 4 puta godišnje. Komisija Europske farmakopeje formira stalne stručne grupe i povremena radna tijela čiji je zadatak detaljno procijeniti predloženi novi tekst, ispravak ili reviziju monografije. Nakon toga Komisija može usvojiti prijedlog isključivo jednoglasno ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Do sada je izdano 11. izdanja Ph. Eur. Posljednje izdanje dostupno od srpnja 2022. godine sadrži preko 3000 monografija. Kako bi se omogućio što širi pristup Ph. Eur. te pojednostavilo njeno korištenje i redovito ažuriranje, danas je dostupna i u elektroničkom obliku kao on-line verzija te PDF dokument ([www.edqm.eu](http://www.edqm.eu)).

### **1.3.3. Farmakopeja Sjedinjenih Američkih Država (USP)**

USP je neprofitna znanstvena organizacija koja provodi kontrolu identiteta, kvalitete i čistoće lijekova i dodataka prehrani. 1820. godine održan je prvi sastanak USP konvencije, na kojem je 11 liječnika vijećalo kako uspostaviti jednake standarde za lijekove neovisno o mjestu stanovanja pacijenata. USP-om upravljaju tri volonterska tijela iz cijelog svijeta: Članstvo USP konvencije, Upravni odbor te Vijeće stručnjaka i njegovi stručni odbori ([www.usp.org](http://www.usp.org)). Najvažniji dokument konvencije je farmakopeja Sjedinjenih Američkih Država (USP). USP-u je 1975. godine dodan Nacionalni formular (engl. *National Formulary*, NF), stoga se svake godine izdaje kombinirani akt USP-NF (Williams, 2006). Monografije USP-a odnose se na aktivne tvari, farmaceutske oblike i složene pripravke. Standarde za lijekove provjerava Agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA). O izrazito dobrim i razvijenim standardima USP-a govori činjenica

da USP surađuje s vladinim agencijama, ministarstvima i regulatornim tijelima na globalnoj razini. Rezultat je implementacija USP standarda u zakone i regulatorne odredbe brojnih zemalja. Suradnja USP-a i Ph. Eur. temelj je harmonizacije smjernica s ciljem postizanja globalnih standarda identiteta, kvalitete i čistoće lijekova, dodataka prehrani i hrane. Kao i Ph. Eur. USP se revidira svake tri godine. Od prvog izdanja iz 1820. godine do danas dostupno je bilo 43 izdanja. USP je najavio kako je izdanje USP 43–NF 38 posljednje dostupno u tiskanom obliku te USB memorije. Nova izdanja bit će dostupna samo u on-line verziji kako bi se ubrzalo uvođenje promjena te olakšalo korištenje farmakopeje ([www.usp.org](http://www.usp.org)).

#### **1.3.4. Japanska farmakopeja (JP)**

Japanska farmakopeja je propis službenih farmaceutskih standarda u Japanu koji priprema tajništvo Agencije za lijekove i medicinske proizvode (engl. *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency*, PMDA), a objavljuje ministar zdravstva, rada i socijalne skrbi. Prva japanska farmakopeja prvi je puta objavljena 1886. godine, nekoliko puta revidirana, a najnovije je 18. izdanje iz 2021. godine. PMDA je japanska regulatorna agencija formirana 2004. godine koja djeluje zajedno s Ministarstvom zdravstva, rada i socijalne skrbi s ciljem opskrbe stanovništva sigurnim, učinkovitim i djelotvornim lijekovima i medicinskim proizvodima. Nadalje, provjerava odobrenja za stavljanje lijekova u promet i prati postmarketinšku sigurnost. U slučaju nuspojava, odgovornost agencije je naknada štete ([www.pmda.go.jp](http://www.pmda.go.jp)).

#### **1.3.5. Harmonizacija**

Međunarodno vijeće za usklađivanje tehničkih zahtjeva za lijekove za ljudsku upotrebu (engl. *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*, ICH) od trenutka osnivanja 1990. godine u Bruxellesu do danas okuplja američka, japanska i europska regulatorna tijela i farmaceutske industrije s ciljem postizanja globalne harmonizacije kako bi se osiguralo da se sigurni, učinkoviti i visokokvalitetni lijekovi registriraju uz što manje resursa. 2015. godine donesena je reforma po švicarskom zakonu prema kojoj je ICH neprofitna organizacija. Ciljevi ICH-a su promicanje javnog zdravlja međunarodnom harmonizacijom, sprječavanje nepotrebnih udvostručavanja kliničkih ispitivanja, razvoj,

proizvodnja, registracija i nadzor novih lijekova te smanjenje nepotrebnih ispitivanja na životinjama. Najvažniji uspjesi ICH-a su uspostavljanje dobre kliničke prakse (engl. *Good Clinical Practice*, GCP), prema kojoj klinička ispitivanja provedena u jednoj ICH regiji vrijede i u ostalima. Nadalje, uspostava Zajedničkog tehničkog dokumenta (engl. *Common Technical Document*, CTD) omogućila je objedinjene informacije o sigurnosti, učinkovitosti i kvaliteti lijekova. Konačno, Medicinski rječnik za regulatorne aktivnosti (engl. *Medical Dictionary for Regulatory Activities*, MedDRA) je standardizirana medicinska tehnologija razvijena kako bi se olakšalo dijeljenje regulatornih informacija. ICH je postavio ukupno 72 smjernice o tehničkim zahtjevima za sigurnost (16), kvalitetu (25), učinkovitost (22) te multidisciplinarne smjernice (9) ([www.ich.org](http://www.ich.org)).

#### **1.4. GUBITAK SUŠENJEM**

Gubitak sušenjem (engl. *Loss On Drying*, LOD) opisan je u 2. poglavlju Ph. Eur., kao analitička metoda koja se najčešće koristi u svrhu određivanja sadržaja vlage u uzorcima ([www.edqm.eu](http://www.edqm.eu), poglavlje 2.2.32.). Ispitivanje je uključeno u veliki broj monografija u svrhu ispitivanja čistoće uzorka, ali i za potvrdu identiteta hidrata odnosno razlikovanje bezvodnih i hidratnih uzoraka. Definira se kao gubitak mase pod određenim uvjetima izražen u postotku (m/m). Gubitak sušenjem je termogravimetrijska metoda temeljena na principu zagrijavanja tvari dok ne prestane gubiti težinu, odnosno dok se potpuno ne osuši. Masa se određuje na početku i nakon što se postigne konstantna masa, a omjer masa predstavlja sadržaj vlage u uzorku. Određivanje sadržaja vlage ključno je u određivanju roka trajanja sirovina i konačnog proizvoda. Pri tom se pojam vlaga odnosi na sve sastavnice uzorka koje mogu ishlapiti, uključujući vodu, masti, alkohol i hlapljiva otapala. Prema farmakopeji, propisana količina ispitivane tvari suši se do konstantne mase ili kroz propisano vrijeme na temperaturi sušenja uz granicu raspona  $\pm 2$  °C. Europska farmakopeja propisuje sušenje u eksikatoru (sušenje iznad difosforova pentoksida pri atmosferskom tlaku i sobnoj temperaturi), u vakuumu (sušenje iznad difosforova penoksida pri tlaku od 1,5 do 2,5 kPa na sobnoj temperaturi ili određenom temperaturnom rasponu), pod visokim vakuumom (iznad difosforova pentoksida pri tlaku ne većem od 0,1 kPa na temperaturi propisanoj u monografiji) ili u sušnici (u određenom temperaturnom rasponu propisanom u monografiji). Ako su propisani drugi uvjeti, postupak koji će se koristiti za određivanje sadržaja vlage u cijelosti je opisan u monografiji. Za postizanje isparavanja vlage moguće je koristiti nekoliko tehnika, uključujući pećnicu za

sušenje grijanu plinom koja radi na mehanizmu konvencije ili pećnice koje rade pomoću infracrvenog ili mikrovalnog zračenja (Thomas, 2019). Prednost tehnike sušenja plinom u pećnici su visoka razina ponovljivosti i pouzdanost rezultata zbog čega je ta tehnika i standard u mnogim proizvodnim postupcima. Međutim, veliki nedostatak je predugo vrijeme trajanja analize. Sušenje uzorka mikrovalnim zračenjem je brzo, budući da mikrovalovi zagrijavaju i isparavaju vlagu za nekoliko minuta iz uzorka koji može biti u većim količinama. Nedostatak je nemogućnost sušenja uzoraka koji se razgrađuju na visokim temperaturama, moguće strukturne promjene ili izmjene u sastavu koje mogu dovesti do pogrešnog tumačenja rezultata. Sušenje infracrvenim zračenjem pogodno je samo za vrlo male uzorke težine od 0,1 do 120 grama. Postupak zahtijeva malo vremena, no zbog male količine uzorka povećava se mogućnost pogrešaka te je uzorak podložan vrlo visokim temperaturama koje mogu dovesti do njegova raspada. Jedna od jednostavnijih metoda određivanja gubitka sušenjem je analizator vlage koji se sastoji od vage i jedinice za grijanje. Uzorak se izvaže prije zagrijavanja, a temperatura se održava ispod točke taljenja i razgradnje. Zagrijavanje se postiže halogenom lampom koja emitira infracrveno zračenje. Nakon početnog vaganja i pokretanja analizatora vlage, uzorak se istovremeno suši i važe pri čemu vaga bilježi težine, a kad se postigne stalna masa, vaga se isključuje. Zatim iz konstantne i početne mase uzorka analizator vlage sam preračuna i pokaže rezultat postotka vlage na pokazivaču. Postupak se mora ponoviti nekoliko puta pod istim uvjetima kako bi se osigurala ponovljivost mjerenja i pouzdanost pristiglih podataka. Analizator vlage zahtijeva homogene, fino pripremljene uzorke koji se moraju ravnomjerno rasporediti po posudi kako bi se izložila maksimalna površina sušenju (Thomas, 2019).

Gubitak sušenjem u USP-u opisan je u poglavlju 731. Određivanje sadržaja vlage provodi se na uzorku mase od 1 do 2 grama, osim ako u monografiji nije drugačije navedeno. Ako je uzorak u obliku velikih čestica potrebno je smanjiti veličinu čestica na oko 2 milimetra drobljenjem ili mljevenjem. Posudicu za vaganje s poklopcem potrebno je sušiti 30 minuta pod istim uvjetima pod kojima će se analizirati uzorak i ohladiti na sobnu temperaturu u eksikatoru te tarirati. Uzorak se mora što ravnomjernije postaviti na posudicu za vaganje, staviti poklopac i izvagati. Zatim se ispitivani uzorak postavi u komoru za sušenje, a poklopac se otvori i ostavi u komori. Temperatura i vrijeme sušenja navedeni su u monografiji. Nakon isteka vremena sušenja, posudica s uzorkom odmah se poklopi i stavi u eksikator kako bi se postigla sobna temperatura prije vaganja. Ako se testiraju tablete ili kapsule, potrebno je koristiti sadržaj od minimalno 4 tableta ili kapsula. Ako je

u monografiji drugačije navedeno, moguće je primijeniti i druge metode sušenja uzoraka do konstantne mase (sušenje u vakuumu, sušenje pomoću mikrovalnih ili infracrvenih zraka). Da bi se uzorak smatrao osušenim do konstantne mase, razlika u masi između 2 uzastopna vaganja ne smije se razlikovati za više od 0,5 mg ([www.usp.org](http://www.usp.org)).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

U trenutku kad osjete prve simptome menopauze, većina žena potražiti će pomoć ljekarnika u odabiru prikladnog dodatka prehrani. Razlozi su njihova dobra djelotvornost, mogućnost nabave bez recepta i odlaska ginekologu, no i strah od nuspojava hormonske nadomjesne terapije. Dodaci prehrani pripadaju kategoriji prehrambenih proizvoda čiju zdravstvenu i sanitarnu ispravnost kontrolira Ministarstvo zdravstva. Iako zahtjevi za dodatke prehrani nisu tako striktni kao za lijekove, cilj je ženskoj populaciji osigurati kvalitetne, sigurne i učinkovite preparate koji će im unaprijediti kvalitetu života. Sadržaj vlage jedan je od čimbenika provjere čistoće u dodacima prehrani, posebice u biljnim sirovinama koje se koriste za njihovu pripremu. Najveći dozvoljeni gubitak mase sušenjem za pojedine droge propisan je u važećoj farmakopeji. U ovom radu ispitan je gubitak vlage za sirovine kao i za gotove proizvode koji se koriste u ublažavanju simptoma menopauze, a rezultati su se uspoređivali s limitima definiranim u pojedinim monografijama. Svaka sirovina i dozirni oblik sadrži određenu količinu vlage koja ovisi o konzistenciji aktivnih i djelatnih tvari te o vlažnosti atmosfere u kojoj se ono čuva. Osim stupnja čistoće, sadržaj vlage određuje se jer voda može potaknuti razgradnju bioaktivnih tvari čime se njihov učinak smanjuje ili gubi. Nadalje, veći udio vlage dovodi do razvoja plijesni i drugih mikroorganizama, što rezultira kraćim rokom trajanja. Cilj ovog diplomskog rada je ispitati sadržaj vlage u sirovinama (biljnim ekstraktima) i dodacima prehrani u obliku tableta i kapsula analitičkom metodom gubitka sušenjem.

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. MATERIJALI

##### 3.1.1. Uzorci

Ispitivani uzorci sirovina navedeni su u Tablici 1, dok su dodaci prehrani prikazani u Tablici 2. Opis uzoraka uključuje naziv proizvoda, proizvođača, zemlju porijekla, biljnu vrstu prisutnu u uzorku, vrstu uzorka te za dodatke prehrani preporučenu dnevnu dozu kao i veličinu pakiranja.

**Tablica 1.** Popis ispitivanih biljnih sirovina

Oznaka	Naziv proizvoda	Proivodač	Vrsta uzorka	Biljna vrsta
DP1	Ekstrakt sojinih izoflavonoida	Specchiasol, Italija	prašak	soja - <i>Glycine max</i> (L.)
DP2	Suhi ekstrakt graha	Specchiasol, Italija	prašak	grah - <i>Phaseolus vulgaris</i> (L.)
DP3	Suhi ekstrakt hmelja	Specchiasol, Italija	prašak	hmelj - <i>Humulus lupulus</i> (L.)
DP4	Suhi ekstrakt kadulje	Specchiasol, Italija	prašak	kadulja - <i>Salvia officinalis</i> (L.)
DP5	Suhi ekstrakt konopljike	Nutraceuticals, Italija	prašak	konopljika - <i>Vitex agnus-castus</i> (L.)
DP6	Suhi ekstrakt lana	Nutraceuticals, Italija	prašak	lan - <i>Linum usitatissimum</i> (L.)



**Tablica 2.** Popis ispitivanih dodataka prehrani

Oznaka	Naziv proizvoda	Proizvođač	Vrsta uzorka	Preporučena dnevna doza	Veličina pakiranja	Biljna vrsta
DP7	Aloe vera	Esi, Italija	tablete	2 tablete	30 tableta	aloj - <i>Aloe barbadensis</i> (L.)
DP8	Menopause relief	Natural Wealth, Hrvatska	tablete	1 kapsula	30 tableta	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.
DP9	Vitality for Women	Kal, SAD	tablete	2 tablete	30 tableta	konopljika - <i>Vitex agnus-castus</i> (L.)
DP10	Crvena riža	Encian, Hrvatska	kapsule	1 kapsula	30 kapsula	riža - <i>Oryza sativa</i> (L.)
DP11	Fem flax	Cool Products LLC, Belgija	kapsule	6 kapsula	180 kapsula	lan - <i>Linum usitatissimum</i> (L.)
DP12	Herbal female	Solgar, SAD	kapsule	3 kapsule	50 kapsula	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.
DP13	Maxi Life Mega Soy	Twinlab, SAD	kapsule	1 kapsula	60 kapsula	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.
DP14	MiVita Beta Glukan AKUT	Hamapharm, Hrvatska	kapsule	3 kapsule	20 kapsula	kineski čajevac - <i>Camellia sinensis</i>
DP15	Natural Max, Premenstual Solution	InterHealth Nutraceuticals Inc., SAD	Fast-caps kapsule	1 kapsula	60 kapsula	konopljika - <i>Vitex agnus-castus</i> (L.)
DP16	PhytoEstrogen one daily	Solaray, SAD	želatinske kapsule	1 kapsula	30 kapsula	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.

DP17	Sojini izoflavoni	NBTY group, SAD	kapsule	1 kapsula	150 kapsula	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.
DP18	Vitex	Solaray, Utah, SAD	želatinske kapsule	1 kapsula	100 kapsula	konopljika - <i>Vitex agnus- castus</i> (L.)

### **3.1.2. Radni instrumenti**

- vlagomjer DBS-60-3 (Kern and Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- analitička vaga AG245 s mogućnošću očitavanja 0,01 mg (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska)

### **3.1.3. Specifičan pribor**

- posudice za vaganje okrugle AI (90 mm, 4 mm) (Kern and Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)

## **3.2. METODE**

### **3.2.1. Priprema uzoraka**

Tablete i prašci su prije obrade usitnjeni u tarioniku. Kapsule su otvorene i iz njih je uzet praškasti sadržaj. Prije analize uzorci su homogenizirani, a ukupna količina uzoraka uzeta u postupak homogenizacije iznosila je najmanje 5 grama.

### **3.2.2. Analiza uzoraka**

Za određivanje vlage u analizu je uzeto 1,0 g uzorka koji se sušio na 105 °C do konstantne mase, odnosno dok razlika između dviju odvaga nije bila manja od 0,5 mg. Nakon toga je zabilježen gubitak mase koji odgovara udjelu hlapljivih tvari. Sva mjerenja su provedena u duplikatu.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U provedeno istraživanje uključene su biljne sirovine te dodaci prehrani koji se koriste za ublažavanje simptoma menopauze. U ispitivanje je uključeno 6 uzoraka iz skupine biljnih sirovina te 12 uzoraka dodataka prehrani u obliku tableta i kapsula. Ispitani uzorci sadrže raznovrsne biljne vrste. U prethodnim istraživanjima provedenim na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova odabranim uzorcima određena je količina aktivnih farmaceutskih tvari kao i toksičnih tvari poput teških metala (Mornar i sur., 2020; Buhač i sur., 2020). Nadalje, određen je sadržaj ukupnih fenola kao i antioksidativni učinak (Amidžić Klarić i sur., 2022). Provedena istraživanja upućuju na odstupanje sadržaja djelatnih tvari u odnosu na deklarirane vrijednosti. U sklopu ovog diplomskog rada istraživanja su proširena na utvrđivanje sadržaja vlage. Naime, rezultati ispitivanja dodataka prehrani koji se koriste u terapiji upalne bolesti crijeva upućuju na važnost redovite provjere sadržaja vlage kako u sirovinama tako i u formulacijama koje se koriste u izradi dodataka prehrani. Uočeno je kako biljne sirovine dostavljene u PVC foliji koja ne predstavlja prikladnu zaštitu od vlage za biljni materijal imaju sadržaj vlage koji nije u skladu s farmakopejskim monografijama. U **Tablici 3.** prikazan je gubitak sušenjem ispitivanih biljnih sirovina, dok **Tablica 4.** navodi gubitak sušenjem ispitivanih kapsula, a u **Tablici 5.** nalaze se podaci o gubitku sušenjem ispitivanih tableta. Potrebno je istaknuti kako biljne sirovine sadrže samo jednu biljnu vrstu dok se kod kapsula i tableta u uzorku mogu nalaziti i raznovrsne pomoćne tvari. Vrijednosti za sirovine bile su u rasponu od 4,00 % (DP2) do 6,97 % (DP5 i DP6), dok je za tablete raspon je bio od 4,05 % (DP8) do 6,34 % (DP9). Nešto veće vrijednosti gubitka sušenjem dobivene su za uzorke u obliku kapsula, od 5,45 % (DP17) do 9,77 % (DP14). Srednja vrijednost gubitka sušenjem za sirovine iznosila je 5,84 %, tablete 5,34 % te za kapsule 7,29 % (**Slika 1.**). U **Tablicama 3.-5.** su prikazane i standardne devijacije (engl. *Standard Deviations*, SD) kao i relativne standardne devijacije (engl. *Relative Standard Deviation*, RSD) mjerenja. RSD vrijednosti bile su manje od 9,25 % (DP1), odnosno za više od 75 % uzoraka manje od 5 %. Konačno, dobivene vrijednosti za biljne sirovine uspoređene su s limitima navedenim u Ph. Eur. u pojedinim monografijama. Moguće je utvrditi kako sve ispitane biljne sirovine odgovaraju propisima farmakopeje.

**Tablica 3.** Gubitak vlage u biljnim sirovinama.

OZNAKA	UZORAK	BILJNA VRSTA	w (% , n = 2)	SD <sup>1</sup>	RSD (%) <sup>2</sup>	Ph. Eur. limit (%)
DP1	Ekstrakt sojinih izoflavonoida	soja - <i>Glycine max</i> (L.)	4,43	0,41	9,25	N/D <sup>3</sup>
DP2	Suhi ekstrakt graha	grah - <i>Phaseolus vulgaris</i> (L.)	4,00	0,16	4,00	N/D
DP3	Suhi ekstrakt hmelja	hmelj - <i>Humulus lupulus</i> (L.)	5,96	0,29	4,87	10
DP4	Suhi ekstrakt kadulje	kadulja - <i>Salvia officinalis</i> (L.)	6,70	0,02	0,30	10
DP5	Suhi ekstrakt konopljike	konopljika - <i>Vitex agnus-castus</i> (L.)	6,97	0,06	0,86	10
DP6	Suhi ekstrakt lana	lan - <i>Linum usitatissimum</i> (L.)	6,97	0,40	5,74	8

<sup>1</sup>SD – standardna devijacija

<sup>2</sup>RSD – relativna standardna devijacija

<sup>3</sup>N/D – nije dostupno

**Tablica 4.** Gubitak vlage dodataka prehrani u obliku tableta

UZORAK	UZORAK	BILJNA VRSTA	w (% , n = 2)	SD <sup>1</sup>	RSD (%) <sup>2</sup>
DP7	Aloe vera	aloe - Aloe barbadensis (L.)	5,63	0,40	7,10
DP8	Menopause relief	soja - Glycine max (L.) Merr.	4,05	0,13	3,21
DP9	Vitality for Women	konopljika - Vitex agnus-castus (L.)	6,34	0,25	3,94

<sup>1</sup>SD – standardna devijacija

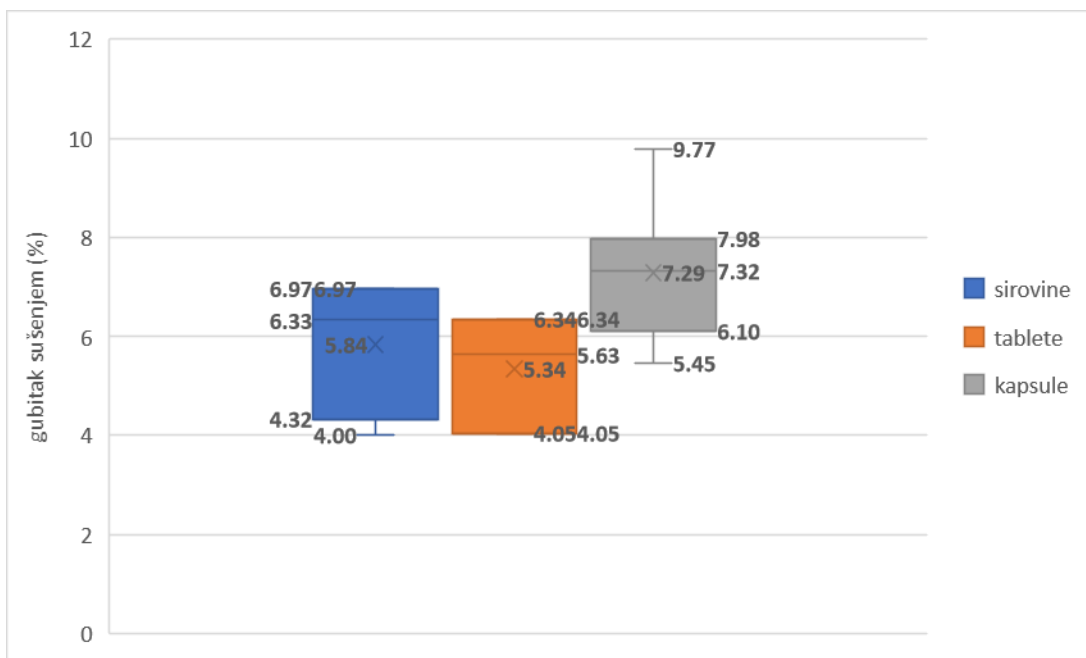
<sup>2</sup>RSD – relativna standardna devijacija

**Tablica 5.** Gubitak vlage dodatka prehrani u obliku kapsula

OZNAKA	UZORAK	BILJNA VRSTA	w (% , n = 2)	SD <sup>1</sup>	RSD (%) <sup>2</sup>
DP10	Crvena riža	riža - <i>Oryza sativa</i> (L.)	8,21	0,08	0,97
DP11	Fem flax	lan - <i>Linum usitatissimum</i> (L.)	7,32	0,07	0,96
DP12	Herbal female	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	7,75	0,16	2,06
DP13	Maxi Life Mega Soy	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	5,77	0,05	0,87
DP14	MiVita Beta Glukan AKUT	čajevac - <i>Cammelia sinensis</i> (L.)	9,77	0,04	0,41
DP15	Natural Max, Premenstual Solution	konopljika - <i>Vitex agnus-castus</i> (L.)	7,71	0,03	0,39
DP16	PhytoEstrogen one daily	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	6,43	0,05	0,78
DP17	Sojini izoflavoni	soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	5,45	0,42	7,71
DP18	Vitex	konopljika - <i>Vitex agnus-castus</i> (L.)	7,18	0,13	1,81

<sup>1</sup>SD – standardna devijacija

<sup>2</sup>RSD – relativna standardna devijacija



**Slika 1.** Gubitak sušenjem (%) ispitanih sirovina, tableta i kapsula



## 5. ZAKLJUČAK

U ovom diplomskom radu ispitan je gubitak sušenjem biljnih sirovina i dodataka prehrani koji se koriste za ublažavanje simptoma menopauze.

U ispitivanje je uzeto 18 uzorka, od kojih je 6 biljnih sirovina u praškastom obliku, 3 uzoraka tableta i 9 uzoraka kapsula.

Vrijednosti za sirovine bile su u rasponu od 4,00 % do 6,97 %, za tablete od 4,05 % do 6,34 % te za kapsule od 5,45 % do 9,77 %.

Srednja vrijednost gubitka sušenjem za sirovine iznosila je 5,84 %, tablete 5,34 % te za kapsule 7,29 %.

Relativne standardne devijacije bile su manje od 10 %.

Svi ispitani uzorci sirovina odgovaraju propisima Ph. Eur. s obzirom na gubitak sušenjem.

## 6. LITERATURA

Abdi F, Kazemi F, Ramezani Tehrani F, Roozbeh N. Protocol for systematic review and meta-analysis: hop (*Humulus lupulus* L.) for menopausal vasomotor symptoms. *BMJ Open*, 2016, 6, e010734.

Abdi F, Mobedi H, Roozbeh N. Hops for Menopausal Vasomotor Symptoms: Mechanisms of Action. *J Menopausal Med*, 2016, 22, 62-64.

Albertazzi P. Noradrenergic and serotonergic modulation to treat vasomotor symptoms. *J Br Menopause Soc*, 2006, 12, 7-11.

Amidžić Klarić D, Mornar A, Kovačić J, Jeličić ML, Brusač E, Brletić I, Klarić I. Polyphenol content and antioxidant activity of phytoestrogen containing food and dietary supplements: DPPH free radical scavenging activity by HPLC. *Acta Pharm*, 2022, 72, 375-388.

Amidžić Klarić D, Kovačić J, Jeličić M-L, Zubčić S, Stankov V, Gulan Čičak M, Bučar B, Klarić I, Mornar A. Assessment of Physicochemical Parameters and Contaminants in Herbal Dietary Supplements Used in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Pharmaceuticals*, 2023, 16, 893.

Anderson JW, Smith BM, Washnock CS. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. *Am J Clin Nutr*, 1999, 70(3), 464S-474S.

Astray G, Gullón P, Gullón B, Munekata PES, Lorenzo JM. *Humulus lupulus* L. as a Natural Source of Functional Biomolecules. *Applied Sciences*, 2020, 10, 5074.

Barac MB, Pešić M, Stanojević S. Biologically active components of soybeans and soy protein products-A review. *Acta Periodica Technologica*, 2005, 36, 155-168.

Bedell S, Nachtigall M, Naftolin F. The pros and cons of plant estrogens for menopause. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2014, 139, 225-236.

Buhač T, Amidžić Klarić D, Klarić I, Nigović B, Brusač E, Jeličić M-L, Mornar A. Assessment of Active Ingredients and Metal Impurities in Phytoestrogen-containing Food and Dietary Supplements. *J Food Nutr Res*, 2020, 59, 87-97.

Cetisli NE, Saruhan A, Kivcak B. The effects of flaxseed on menopausal symptoms and quality of life. *Holist Nurs Pract*, 2015, 29, 151-157.

Chen LR, Chen KH. Utilization of Isoflavones in Soybeans for Women with Menopausal Syndrome: An Overview. *Int J Mol Sci*, 2021, 22, 3212.

Christensen KB, Jørgensen M, Kotowska D, Petersen RK, Kristiansen K, Christensen LP. Activation of the nuclear receptor PPAR $\gamma$  by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L). *J Ethnopharmacol*, 2010, 132, 127–133.

Cuvelier ME, Richard H, Berset C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J Am Oil Chemists' Soc*, 1996, 73, 645–652.

El Khoury D, Cuda C, Luhovyy BL, Anderson GH. Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. *J Nutr Metab*, 2012, 2012, 85136.

European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, <https://edqm.eu/en/>, pristupljeno 08.07.2023.

Ghorbani A, Esmaeilizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med*, 2017, 7, 433-440.

Grdinić V. Ilustrirana povijest farmekopeje. Zagreb, Medika, 2001.

Hall JE. Endocrinology of the Menopause. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2015, 44, 485-496.

Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode, <https://halmed.hr/Lijekovi/Farmakopeja/Hrvatska-farmakopeja/>, pristupljeno 08.07.2023. i <https://halmed.hr/Lijekovi/Farmakopeja/Europska-farmakopeja/>, pristupljeno 08.07.2023.

ICH Harmonisation, <https://ich.org/>, pristupljeno 09.07.2023.

Inić S, Kujundžić N. The original Croatian pharmacopoeia from 1901. *Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012, 67, 652-657.

Kamal N, Mio Asni NS, Rozlan INA, Mohd Azmi MAH, Mazlan NW, Mediani A, Baharum SN, Latip J, Assaw S, Edrada-Ebel RA. Traditional Medicinal Uses, Phytochemistry, Biological Properties, and Health Applications of *Vitex* sp. *Plants (Basel)*, 2022, 11, 1944.

Karabín M, Hudcová T, Jelínek L, Dostálek P. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*, 2016, 15, 542–567.

Kianbakht S, Abasi B, Perham M, Hashem Dabaghian F. Antihyperlipidemic effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract in patients with hyperlipidemia: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res*, 2011, 25, 1849-1853.

Li P, Wang Q, Chen K, Zou S, Shu S, Lu C, Wang S, Jiang Y, Fan C, Luo Y. Red Yeast Rice for Hyperlipidemia: A Meta-Analysis of 15 High-Quality Randomized Controlled Trials. *Front Pharmacol*, 2022, 12, 819482.

Mansourabadi AM, Sadeghi HM, Razavi N, Rezvani E. Anti-inflammatory and analgesic properties of salvigenin, *Salvia officinalis* flavonoid extracted. *Adv Herb Med*, 2015, 1, 31–41.

McKinlay SM, Jefferys M. The menopausal syndrome. *Br J Prev Soc Med*, 1974, 28, 108-115.

Messina V. Nutritional and health benefits of dried beans. *Am J Clin Nutr*, 2014, 1, 437S-442S.

Miroddi M, Navarra M, Quattropani MC, Calapai F, Gangemi S, Calapai G. Systematic review of clinical trials assessing pharmacological properties of *Salvia* species on memory, cognitive impairment and Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20, 485–495.

Mornar A, Buhač T, Amidžić Klarić D, Klarić I, Sertić M, Nigović B. Multi-targeted Screening of Phytoestrogens in Food, Raw Material, and Dietary Supplements by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal Methods*, 2020, 13, 482–495.

Mullins AP, Arjmandi BH. Health Benefits of Plant-Based Nutrition: Focus on Beans in Cardiometabolic Diseases. *Nutrients*, 2021, 13, 519.

Naseri R, Farnia V, Yazdchi K, Alikhani M, Basanj B, Salemi S. Comparison of *Vitex agnus-castus* Extracts with Placebo in Reducing Menopausal Symptoms: A Randomized Double-Blind Study. *Korean J Fam Med*, 2019, 40, 362-367.

Nowak, W.; Jeziorek, M. The Role of Flaxseed in Improving Human Health. *Healthcare*, 2023, 11, 395.

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, <https://pmda.go.jp/>, pristupljeno 09.07.2023.

Pop AL, Nasui BA, Bors RG, Penes ON, Prada AG, Clotea E, Crisan S, Cobelschi C, Mehedintu C, Carstoiu MM, Varlas VN. The Current Strategy in Hormonal and Non-Hormonal Therapies in Menopause-A Comprehensive Review. *Life (Basel)*, 2023, 13, 649.

Poordast T, Ghaedian L, Ghaedian L, Najib FS, Alipour S, Hosseinzadeh M, Vardanjani HM, Salehi A, Hosseinimehr SJ. Aloe Vera; A new treatment for atrophic vaginitis, A randomized double-blinded controlled trial. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270, 113760.

Rafieian-Kopaei M, Movahedi M. Systematic Review of Premenstrual, Postmenstrual and Infertility Disorders of Vitex Agnus Castus. *Electron Physician*, 2017, 9, 3685-3689.

Roehrer S, Stork V, Ludwig C, Minceva M, Behr J. Analyzing bioactive effects of the minor hop compound xanthohumol C on human breast cancer cells using quantitative proteomics. *PLoS One*, 2019, 14, e0213469.

Selli J, Unal D, Mercantepe F, Akaras N, Kabayel R, Unal B, Atilay H. Protective effects of beta glucan in brain tissues of post-menopausal rats: a histochemical and ultra-structural study. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32, 234-239.

Shirke SS, Jadhav SR, Jagtap AG. Osteoprotective effect of Phaseolus vulgaris L in ovariectomy-induced osteopenia in rats. *Menopause*, 2009, 16, 589-596.

Surjushe A, Vasani R, Saple DG. Aloe vera: a short review. *Indian J Dermatol*, 2008, 53, 163-166.

Tang S, Du Y, Oh C, No J. Effects of Soy Foods in Postmenopausal Women: A Focus on Osteosarcopenia and Obesity. *J Obes Metab Syndr*, 2020, 29, 180-187.

Thomas L. Loss-on-Drying Method (LOD), *News Medical*, 2019., [https://www.news-medical.net/life-sciences/Loss-on-Drying-Method-\(LOD\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Loss-on-Drying-Method-(LOD).aspx), pristupljeno 10.07.2023.

Vahedpoorfard Z, Ferdosi S, Rahimi H, Motedayyen H. Effect of Humulus lupulus L. (Hop) on Postmenopausal Sexual Dysfunction: A Randomized Clinical Trial. *Int J Clin Pract*, 2023, 2023, 9528335.

Williams RL. 2000-2005 Reference Standards Committee of the USP Council of Experts and Its Advisory Panel; USP Staff and Consultant. Official USP Reference Standards: metrology concepts, overview, and scientific issues and opportunities. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40, 3-15.

Wu X, Xie CQ, Zhu QQ, Wang MY, Sun B, Huang YP, Shen C, An MF, Zhao YL, Wang XJ, Sheng J. Green tea (*Camellia sinensis*) aqueous extract alleviates postmenopausal osteoporosis in ovariectomized rats and prevents RANKL-induced osteoclastogenesis in vitro. *Food & nutrition research*, 2018, 62, 10.

Yang CW, Mousa SA. The effect of red yeast rice (*Monascus purpureus*) in dyslipidemia and other disorders. *Complement Ther Med*, 2012, 20, 466-474.

Ye M, Jang D, Kim JS, Kim K, Shim I. Effects of *Camellia Sinensis* Extract on Repeated Restraint Stress-Induced Ovariectomized Female Rats. *Biomed Res Int*, 2019, 2019, 1926352.

Yesil-Celiktas O, Sevimli C, Bedir E, Vardar-Sukan F. Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines. *Plant Foods Hum Nutr*, 2010, 65, 158-163.

Yong WK, Ho YF, Malek SNA. Xanthohumol induces apoptosis and S phase cell cycle arrest in A549 non-small cell lung cancer cells. *Pharmacogn. Mag*, 2015, 11, S275–S283.

Zakon o lijekovima, 2013, Zagreb, Narodne novine, broj 76 (NN/76/13).

Zeidabadi A, Yazdanpanahi Z, Dabbaghmanesh MH, Sasani MR, Emamghoreishi M, Akbarzadeh M. The effect of *Salvia officinalis* extract on symptoms of flushing, night sweat, sleep disorders, and score of forgetfulness in postmenopausal women. *J Family Med Prim Care*, 2020, 9, 1086-1092.

## 7. SAŽETAK/SUMMARY

Fitoestrogeni su prirodne sastavnice biljaka koje potvrđeno ublažavaju simptome menopauze i poboljšavaju kvalitetu života žena u menopauzi. Zbog straha od nuspojava sintetskih lijekova, većina žena poseže za fitoestrogenima kao prvom linijom liječenja. Biljne vrste koje se najčešće primjenjuju zbog sadržaja fitoestrogena opisane su i analizirane u ovom radu: aloe vera, crvena riža, lan, soja, konopljika,  $\beta$ -glukan iz kineskog čajevca, grah, hmelj i kadulja. Njihova se učinkovitost i djelotvornost temelje na velikom broju provedenih istraživanjima te na dugotrajnoj tradicionalnoj primjeni.

Cilj ovog rada je ispitati sadržaj vlage u biljnim ekstraktima i dodacima prehrani koji sadrže navedene biljne vrste u različitim oblicima (tablete i kapsule) analitičkom metodom gubitka sušenjem. Ispitivanje je provedeno kako bi se utvrdilo jesu li sirovine odgovarajućeg stupnja čistoće što prati sigurnost primjene. Ispitivanjem je potvrđeno da sve ispitivane biljne sirovine odgovaraju zahtjevima europske farmakopeje s obzirom na gubitak sušenjem.

Phytoestrogens are natural components of plants that have been proven to alleviate menopause symptoms and improve the quality of life of menopausal women. Due to the fear of side effects of synthetic drugs, most women turn to phytoestrogens as the first line of treatment. The plant species that are most often used due to their phytoestrogen content are described and analyzed in this paper: aloe vera, red rice, flax, soy, hemp,  $\beta$ -glucan from the Chinese tea tree, beans, hops and sage. Their efficiency and effectiveness are based on a large number of conducted researches and long-term traditional application.

The aim of this paper is to examine the moisture content of plant extracts and food supplements containing the mentioned plant species in different forms (tablets and capsules) using the analytical method of loss on drying. The test was carried out in order to determine whether the raw materials are of an appropriate degree of purity, which follows the safety of use. The test confirmed that all tested herbal raw materials correspond to the requirements of the European pharmacopoeia with regard to loss on drying.

# Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Zavod za analitiku i kontrolu lijekova  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

## Sadržaj hlapljivih tvari u sirovinama i dodacima prehrani koji se koriste za ublažavanje simptoma menopauze

**Petra Picig**

### SAŽETAK

Fitoestrogeni su prirodne sastavnice biljaka koje potvrđeno ublažavaju simptome menopauze i poboljšavaju kvalitetu života žena u menopauzi. Zbog straha od nuspojava sintetskih lijekova, većina žena poseže za fitoestrogenima kao prvom linijom liječenja. Biljne vrste koje se najčešće primjenjuju zbog sadržaja fitoestrogena opisane su i analizirane u ovom radu: aloe vera, crvena riža, lan, soja, konopljika,  $\beta$ -glukan iz kineskog čajevca, grah, hmelj i kadulja. Njihova se učinkovitost i djelotvornost temelje na velikom broju provedenih istraživanjima te na dugotrajnoj tradicionalnoj primjeni.

Cilj ovog rada je ispitati sadržaj vlage u biljnim ekstraktima i dodacima prehrani koji sadrže navedene biljne vrste u različitim oblicima (tablete i kapsule) analitičkom metodom gubitka sušenjem. Ispitivanje je provedeno kako bi se utvrdilo jesu li sirovine odgovarajućeg stupnja čistoće što prati sigurnost primjene. Ispitivanjem je potvrđeno da sve ispitivane biljne sirovine odgovaraju zahtjevima europske farmakopeje s obzirom na gubitak sušenjem.

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

Rad sadrži: 34 stranice, 1 grafički prikaz, 5 tablica i 53 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: fitoestrogeni, suhi ekstrakti, dodaci prehrani, gubitak sušenjem

Mentor: **Dr. sc. Ana Mornar Turk**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Ana Mornar Turk**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Danijela Amidžić Klarić**, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Domagoj Kifer**, viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: kolovoz 2023.



## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Department of Pharmaceutical analysis  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### The content of volatile substances in raw materials and dietary supplements used to alleviate menopausal symptoms

**Petra Picig**

#### SUMMARY

Phytoestrogens are natural components of plants that have been proven to alleviate menopause symptoms and improve the quality of life of menopausal women. Due to the fear of side effects of synthetic drugs, most women turn to phytoestrogens as the first line of treatment. The plant species that are most often used due to their phytoestrogen content are described and analyzed in this paper: aloe vera, red rice, flax, soy, hemp,  $\beta$ -glucan from the Chinese tea tree, beans, hops and sage. Their efficiency and effectiveness are based on a large number of conducted researches and long-term traditional application.

The aim of this paper is to examine the moisture content of plant extracts and food supplements containing the mentioned plant species in different forms (tablets and capsules) using the analytical method of loss on drying. The test was carried out in order to determine whether the raw materials are of an appropriate degree of purity, which follows the safety of use. The test confirmed that all tested herbal raw materials correspond to the requirements of the European pharmacopoeia with regard to loss on drying.

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

Thesis includes: 34 pages, 1 figure, 5 tables and 53 references. Original is in Croatian language.

Keywords: phytoestrogens, dry extracts, nutritional supplements, loss on drying

Mentor: **Ana Mornar Turk, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Ana Mornar Turk, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Danijela Amidžić Klarić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Domagoj Kifer, Ph.D.** *Senior Assistant*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: October 2023.