Konopljika i žensko zdravlje

Deanković, Lorena

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:306500

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Lorena Deanković

Konopljika i žensko zdravlje

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom prof.dr.sc. Sande Vladimir-Knežević.

Srdačno se zahvaljujem prof.dr.sc. Sandi Vladimir-Knežević na stručnom vodstvu i savjetima pri izradi diplomskog rada, kao i svojoj obitelji i prijateljima koji su me podržavali i bodrili tokom cijelog školovanja.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. Botanički podaci o vrsti *Viex agnus-castus* L. 1

1.2. Tradicionalna primjena konopljike 4

1.3. Fitokemijski sastav konopljike 5

2. OBRAZLOŽENJE TEME 7

3. MATERIJALI I METODE 8

4. REZULTATI I RASPRAVA 9

4.1. Neklinička ispitivanja 9

4.2. Klinička istraživanja 12

4.2.1. Predmenstrualni sindrom 12

4.2.2. Insufincijencija žutog tijela/hiperprolaktinemija 16

4.2.3. Poremećaji menstrualnog ciklusa 18

4.2.4. Mastodinija/mastalgija 20

4.2.5. Liječenje akni 21

4.2.6. Učinci na laktaciju 21

4.2.7. Menopauza 21

4.3. Toksikologija 22

4.3.1. Ispitivanje toksičnosti (akutna, subakutna i kronična toksičnost) 22

4.3.2. Reproduktivne i razvojne studije 23

4.4. Doziranje i trajanje terapije 24

4.5. Nuspojave 25

4.6. Posebna upozorenja i mjere opreza 25

4.8. Trudnoća i laktacija 26

5. ZAKLJUČCI 27

6. LITERATURA 28

7. SAŽETAK/SUMMARY 33

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

1.1 Botanički podaci o vrsti *Vitex agnus-castus* L.

Porijeklo imena

Konopljika (*Chaste tree*) je dobila ime prema tradicionalnom uvjerenju da promiče čednost (*chastity*). Botanički naziv biljke potječe od grčke riječi „*agnos*“ i latinske riječi „*castus*“, a obje riječi znače nevin ili čedan. Dioskorid pri uporabi naziva odbacuje od „*agnos*“ (nevin, čist) slovo „*a*“ i tako dobiva „*gonos*“, što znači potomstvo, a to se povezuje s antiafrodizijskim djelovanjem te biljke. U antičkoj Grčkoj i Rimu plodovi konopljike su se koristili kako bi suprimirali seksualnu želju u muškaraca i žena. U Homerovu epu Ilijada, biljka je simbol čistoće koja može odstraniti zlo. Redovnici i opatice su u srednjem vijeku nosili amulete od konopljike kako bi lakše podnosili suzdržavanje od spolnih aktivnosti. Biljka se uzgajala u samostanskim vrtovima i zbog ljuta okusa plodova upotrebljavala kao začin, umjesto vrlo skupog papra. Zbog toga su plodovi konopljike poznati pod nazivom redovnički papar, a u Njemačkoj se naziv *Mönchspfeffer* zadržao sve do danas. Prema nekim podacima u južnoj Italiji redovnicima prije polaganja zavjeta posipaju put od samostana do crkve lišćem ili lišćem i cvijećem konopljike**.** Naš najraširenij naziv je konopljika jer list biljke nalikuje listu konoplje. U literaturi se spominje i kao monaška konopljika, a u Dalmaciji ima i drugih naziva kao što je divlji biber, otočna konopljika, poljski biber ili oštra šibika (Kuštrak, 2005; Toplak Galle, 2009).

Morfološka obilježja

Konopljika je razgranjeni, aromatični grm ili nisko stablo visoko od 1 do 4 metra. Sivkasta ili svijetlosmeđa kora debla je pločasto ispucana, a ogranci tanki, šibasti, četverobridni, slabije spljošteni, blago sivkasto maljavi, na vrhu redovito odumrli. Grančice su gotovo potpuno okružene listovima koji su dlanasto sastavljeni od 5 do 7 linearno suličastih liski, do 9 cm dugih, oštra ušiljena vrha i cjelovita ruba. Liske su odozgo gole i tamnozelene, a odozdo bjelkasto pustenaste. Listovi imaju duge peteljke i poredani su na stabljici križno-nasuprotno. Pupovi su sitni, široko jajasti, zaobljeni, često nepravilni, svijetlosivi, maljavi. Vršni pup većinom nije razvijen. Cvjetovi se razvijaju u gustim račvastim cvatovima na vrhovima grana, a oni u vršne metlice duge 10-15 cm (slika 1). Plod konopljike je više-manje obavijen zelenosivom vrčastom čaškom. Čaška sastavljena od 5 malih zubaca okružuje vjenčić koji je ljubičast, a rjeđe ružičast ili čak bijel, dug 8-10 mm, izvana pusten. Zrelo, mesnato usplođe je suho i tamnosmeđe boje. Koštunica je mesnata, sivkasta, okruglasta,

promjera 3-4 mm, na stapci, ostaje na biljci tijekom zime (slika 2). U unutrašnjosti sadrži četverobridnu koštunicu. Svaki od četiri dijela sadrži jednake, masne sjemenke s mekim sjemenim lupinama. Konopljika cvate od lipnja do kolovoza, odnosno sušnog razdoblja, a plodovi se skupljaju u jesen. Pri usitnjavanju plodova se osjeća miris koji podsjeća na miris kadulje, a okus je oštar, ljut i pomalo gorak (Kuštrak, 2005).

Stanište i rasprostranjenost

Konopljika raste na pjeskovitim morskim i riječnim obalama i često stvara guste šikare. Vrlo dobro podnosi slana pjeskovita tla uz morsku obalu jer joj je za opstanak presudna podzemna voda. Na samoj morskoj obali konopljiku možemo pronaći zajedno s oleandrom i tamarisom. Areal obuhvaća Europu (Francuska, Pirinejski, Apeninski i Balkanski poluotok, Krim), sjeverozapadnu Afriku, Tursku, Kavkaz, Iran i srednju Aziju. Uzgaja se u umjereno toplim regijama svijeta, prvenstveno na Mediteranu, a posebice u Albaniji i Maroku. U kontinentalnom dijelu Europe ju nalazimo u parkovima i na zelenim površinama, kao ukrasni grm lijepih cvatova, listova, gipke krošnje i ugodna mirisa. Razlog je i taj što konopljika cvate u srpnju i kolovozu kad su ostali grmovi već odavno ocvali. Česta je biljka užeg obalnog područja Jadranskog mora, osobito na mjestima gdje se ulijevaju povremeni potoci, uz Cetinu, Baćinska jezera, donji tok Neretve te u okolici Donjih Brela i Komina. Raste i na krševitim strminama oko Senja i Karlobaga. Konopljika je zastupljena u flori Biokova, a ima je i na našim otocima Krku, Košljunu, Cresu, Lošinju i Hvaru (Kuštrak, 2005; WHO, 2009).



Slika 1. Konopljika (*Vitex agnus-castus* L.)

(https://hr.wikipedia.org)



Slika 2. Konopljika u razdoblju stvaranja plodova

(https://apps.cals.arizona.edu)

1.2. Tradicionalna primjena konopljike

Konopljika se kroz povijest primjenjivala u liječenju, a njeno je drvo služilo u izradi namještaja. Stari grčki i rimski liječnici su pisali o njenoj ljekovitosti. Plinije je rekao da je napitak od sjemenki ukusan poput vina i koristio se za smanjivanje vrućine i poticanje znojenja. Piće se koristilo na sličan način kao i danas, za poticanje menstruacije, „čišćenje maternice“ i povećanje laktacije u dojilja. Sjemenke konopljike su služile za uklanjanje nadutosti iz crijeva, poticanje mokrenja, u liječenju dijareje i bolesti slezene. Tijekom povijesti postala je cijenjeno sredstvo za smanjenje seksualne želje. Rečeno je da oni koji drže grančicu u ruci ili oko pojasa „ne pate od trzaja između bedara“. Dioskorid u svom djelu *De Materia Medica* piše da su žene stavljale mirisne grane iznad kreveta kako bi odvratile muškarce. Hipokrat navodi uporabu plodova i lišća konopljike kao lijeka protiv ozljeda, različitih upala te kod oticanja slezene (www.christopherhobbs.com; Kuštrak, 2005).

Perzijanaci su također poznavali ljekovitost konopljike, što se vidi u dva prevedena rada: *Medicinska formula* Al-Samarquandija iz 1200. godine i *Medicinska formula* od Al-Kindija iz druge polovice 9. stoljeća. Oni spominju da konopljika u kombinacijama s drugim biljkama liječi "ludost“, moždani udar i epilepsiju. U iranskoj tradicionalnoj medicini lišće i plodovi se koriste za povećanje laktacije. Indijska tradicionalna medicina ističe konopljiku kao sredstvo protiv zmijskog ugriza i uboda škorpiona, ali i kao stomahik te lijek za očne bolesti (www.christopherhobbs.com; Kuštrak, 2005; Rani i Sharma, 2013).Većina srednjovjekovnih liječnika je rabila listove i plodove konopljike u terapiji slezene i jetre. Gerard, jedan od najvećih renesansnih herbalista, spominje da je to sredstvo za one „koji žele živjeti čisto“. Također ga navodi kao lijek protiv nadutosti. Piše da su sjemenke i listovi dobri u liječenju boli i upale maternice, da će dovesti do menstruacije i ublažiti glavobolju. Podaci govore da su se gorki i aromatični plodovi krajem 19. st. u Francuskoj koristili za poboljšanje probave i uklanjanje tegobe u trbušnoj šupljini, za poticanje diureze i smanjenje nadutosti (www.christopherhobbs.com).

U novije doba, konopljikini plodovi su se koristili za ublažavanje ženskih tegoba, uključujući menstrualne poremećaje (amenoreju, dismenoreju), predmenstrualni disforični poremećaj, insuficijenciju žutog tijela, hiperprolaktinemiju, akne, menopauzu, poremećenu laktaciju, cikličke bolove u grudima i cikličku mastalgiju, upalna stanja, proljev i nadutost. Nadalje, tradicionalna primjena je također uključivala liječenje cista, neplodnosti, izbacivanje placente nakon poroda, prevenciju pobačaja tijekom prvog trimestra zbog insuficijencije

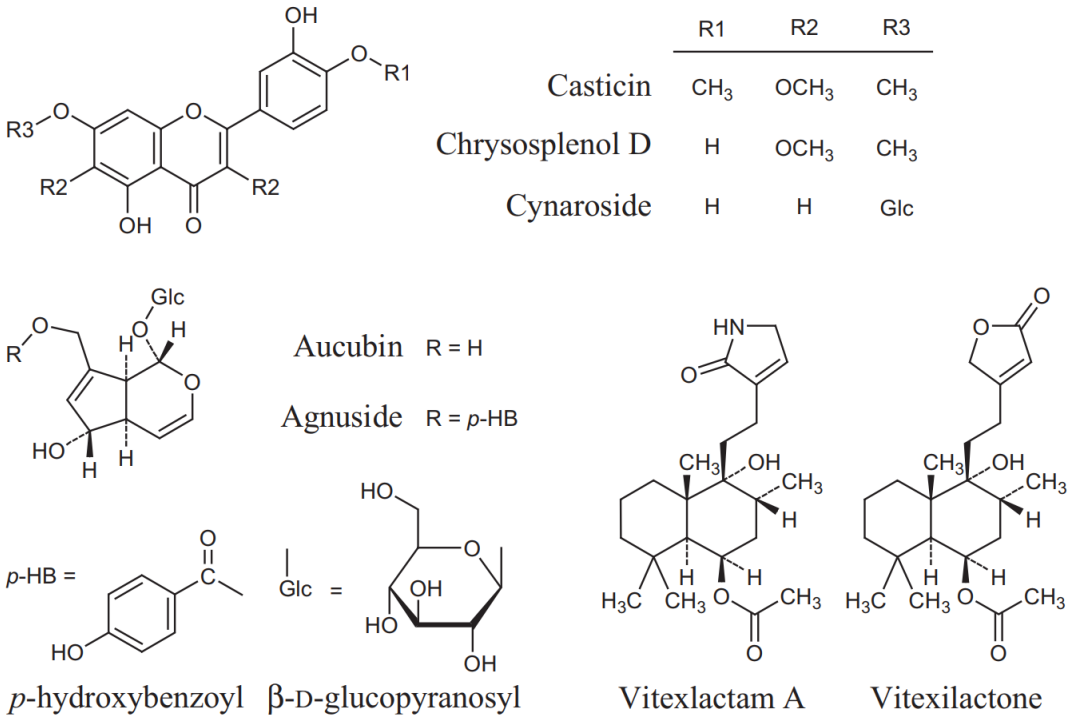
progesterona. Konopljika je služila kao digestiv, sedativ i protiv infekcija (Blumenthal, 2003; Rani i Sharma, 2013).

1.3. Fitokemijski sastav konopljike

Zreli plodovi konopljike sadrže 0,4-0,7 % eteričnog ulja, koje se sastoji uglavnom od 1,8-cineola, limonena, α- i β-pinena, a u manjim količinama bornil-acetata, β-kariofilena, kamfora, *p*-cimena i sabinena.

Flavonoidi, iridoidi i diterpeni predstavljaju glavne skupine sekundarnih sastojaka koji se nalaze u plodu konopljike (slika 3). Kasticin se smatra glavnim flavonoidom, a od ostalih flavonoidnih derivata su prisutni krizosplenetin, krizosplenol D, cinarozid, kvercetagetin, kempferol, izoviteksin, izoramnetin i 7-C-glikozidi luteolina (izoorientin). Među iridoidima ističu se agnozid, aukubin i agnukastozidi A-C. Diterpeni labdanskog tipa su: rotundifuran, viteksilakton, viteksilaktam A, vitetrifolin B i C te 6β,7β-diacetoksi-13-hidroksi-labda-8,14-dien. U ekstraktima listova, plodova i cvatova su identificirani Δ^4-3-ketosteroidi. Spektrometrijom masa identificiran je progesteron u ekstraktu cvata.

U ekstraktima listova, cvjetova i plodova detektirani su progesteroni, 17-α-hidroksiprogesteron u slobodnom i konjugiranom obliku. Testosteron i epitestosteron vidljivi su samo u slobodnom obliku, a androstendion je detektiran u ekstraktima listova. U biljci su također pronađeni trigliceridi s α-linolenskom, palmitinskom, oleinskom, stearinskom i linolnom kiselinom, alkaloid vitricin i klerodadienoli (Hoberg i sur., 1999; Blumenthal, 2003; Kuštrak, 2005).



Slika 3. Glavne kemijske sastavnice ploda konopljike (WHO, 2009)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Biljna vrsta *Vitex agnus-castus* L. se tradicionalno koristi u liječenju u mnogih ženskih tegoba među kojima su predmenstrualni sindrom, mastalgija, menstrualni poremećaji i hiperprolaktinemija. Zbog široke primjene i velikog broja žena koje pate od takvih tegoba, provedena su mnoga znanstvena istraživanja. Na temelju dosadašnjih znanstvenih dokaza, Europska agencija za lijekove podupire primjenu biljnih lijekova na bazi konopljikinih plodova za ublažavanje simptoma predmenstrualnog sindroma (HMPC, 2010). Danas su u ljekarničkoj praksi prisutni različiti pripravci s konopljikom, većinom registrirani kao dodaci prehrani, a preporučuju se za brojne tegobe vezane za žensko zdravlje. Stoga je u okviru ovog diplomskog rada napravljen pregled relevantnih istraživanja konopljike.

3. MATERIJALI I METODE

Za pisanje ovog diplomskog rada koji je teorijskog karaktera korištena je stručna i znanstvena literatura vezana uz primjenu konopljike *Vitex agnus-castus* L u ljekarničkoj praksi. Literaturni izvori su bili različiti, od dostupnih knjiga iz područja farmakognozije i fitofarmacije, preko relevantnih znanstvenih članaka do internetskih stranica kao što su European Medicines Agency i World Health Organization. Odabrani znanstveni članci rezultat su pretraživanja bibliografskih baza podataka *PubMed*, *ScienceDirec*t, i Scopus.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Neklinička ispitivanja

Dostupno je nekoliko publikacija koje opisuju *in vitro* dopaminergične učinke ekstrakata konopljikinih plodova kao i djelovanje na sekreciju prolaktina. Pokusima vezanja radioaktivnih liganada i superfuzijskim eksperimentima je procijenjeno vezanje etanolnog ekstrakta plodova i raznih frakcija ekstrakata različitih polarnosti na receptore. Relativno snažna inhibicija vezanja je opažena na dopaminskim D2 receptorima i μ i κ opiodnim receptorima s IC_{50} vrijednostima između 40 i 70 μg/mL ekstrakta. Iz heksanske (lipofilne) frakcije ekstrakta su izolirani diterpeni rotundifuran (IC_{50} = 45 μg/mL) i 6β,7β-diacetoksi-13-hidroksi-labda-8,14-dien (IC_{50} = 79 μg/mL) koji su pokazali inhibitornu aktivnost, dok aukubin ili flavonoidi (izoorientin i kasticin) nisu imali učinka na vezanje ^{3}H-spiroperidola na dopaminski D2 receptor. Uz to je antagonist D2 receptora (spiperon) antagonizirao učinak ekstrakta, što ukazuje na dopaminergičku aktivnost posredovanu aktivacijom D2 receptora. Uočeno je da diterpen labdanskog tipa (α-acetoksi-13-hidroksilabdadien), izoliran iz ekstrakta plodova, odstranjuje ^{125}I-sulpirid s veznih mjesta rekombinantnog humanog D2 receptora u ovisnosti o koncentraciji. Primjenom ^{3}H-naloksona kao liganda koji se veže na μ i κ opioidne receptore i etanolnog ekstrakta kao inhibitora ustanovljene su IC_{50} vrijednosti 30 i 20 μg/mL. Smatra se da je lipofilna frakcija odgovorna za aktivnost na μ i κ opioidnim receptorima, dok u vodi topljiva frakcija pokazuje snažnu aktivnost na δ opioidnim receptorima. Pretpostavljeno je da ekstrakt ima i kolinergičku aktivnost jer je u drugom ispitivanju inhibirano oslobađanje acetilkolina. Slični rezultati su uočeni i za vodenu frakciju metanolnog ekstrakta (Meier i sur., 2000; HMPC, 2010).

Korištenjem hipofiznih stanica štakora može se pokazati da etanolni ekstrakt sadrži sastojke koji inhibiraju otpuštanje prolaktina putem interakcije s D2 podtipom dopaminskog receptora eksprimiranog u laktotropnim stanicama. Rotundifuran je u koncentraciji od 100 mM značajno inhibirao izlučivanje prolaktina te je u koncentracijskom rasponu od 10 do 100 mM inhibirao forskolinom inducirano lučenje prolaktina i sekreciju cikličkih adenozin monofosfata (cAMP) u stanicama hipofize štakora. Biciklički diterpeni klerodanskog tipa su također izolirani iz ekstrakta plodova i za njih je utvrđeno da izravnim vezanjem za D2 receptore imaju 10 puta veću aktivnost od rotundifurana u inhibiciji sinteze cAMP-a i oslobađanju prolaktina iz laktotropnih sekrecijskih stanica hipofize štakora (Wuttke i sur., 2003; Christoffel i sur., 2005; Jarry i sur., 2006).

Etanolni ekstrakt ploda (1:10) u koncentracijskom rasponu od 0,41 do 3,3 mg/mL, kao i sintetički dopaminski agonist lisurid, su značajno inhibirali bazalnu sekreciju prolaktina kao i onu potaknutu tireotropin oslobađajućim hormonom (TRH) u primarnim staničnim kulturama hipofize štakora. U koncentraciji od 3,3 mg/mL inhibirano je 80 % bazalne sekrecije i 65 % stimuliranih sekrecija. Ovi rezultati su potvrđeni u drugoj studiji koja pokazuje značajnu inhibiciju otpuštanja prolaktina iz stanica hipofize štakora pomoću ekstrakta u koncentracijama od 0,5 mg/mL za bazalnu sekreciju i 0,125 mg/mL za stimulirane sekrecije. Nadalje, inhibicija lučenja prolaktina iz stanica hipofize štakora također je opažena nakon tretmana ekstraktom plodova u koncentracijama od 460 μg/mL za bazalnu sekreciju i 115 μg/mL za stimuliranu sekreciju (Sliutz i sur., 1993).

Etanolni ekstrakt nije značajno inhibirao mjesto vezanja na histaminskim H1, benzodiazepinskim i OFQ receptorima za orfanin, kao ni na serotoninskim (5-HT) transporterima (Meier i sur., 2000).

Ustanovljeno je da različiti ekstrakati konopljike pokazuju slabe estrogenske učinke, što upućuje da konopljika može utjecati na ravnotežu između estrogena i progesterona. U testu vezanja etanolnog ekstrakta na rekombinantni humani estrogenski receptor dokazano je preferencijalno vezanje na β estrogenski receptor u odnosnu na α receptor (HMPC, 2010). Flavonoidi penduletin i apigenin iz ekstrakta su identificirani kao „estrogenski“ spojevi (Jarry i sur., 2006). Etanolni ekstrakt je, ovisno o dozi, inhibirao izlučivanje progesterona iz humanih granuloza stanica čiji je učinak posredovan vezanjem na β estrogenski receptor budući da se može blokirati tamoksifenom. Metanolni ekstrakt je pokazao značajno kompetitivno vezanje na α estrogenski receptor (IC50 = 46 μg/mL) i β estrogenski receptor (ICso = 64 μg/mL) (Liu i sur., 2001). Nadalje, ekstrakt je inducirao ekspresiju estrogen ovisnih gena progesteronskih receptora i pS2 (presenilin-2) u Ishikawa stanicama (estrogen ovisna stanična linija endometrijskog adenokarcinoma), dok se aktivnost alkalne fosfataze nije promijenila. Na osnovi izolacije vođene biološkim testovima linolna kiselina je identificirana kao „estrogenska“ komponenta koja se također veže na α i β estrogenski receptor (Liu i sur., 2004). Primjenom metanolnog ekstrakta kod kvasaca dobivenih genetičkim inženjeringom nije pronađena nikakva estrogenska bioaktivnost (Oerter Klein i sur., 2003).

Normalni humani melanociti (R6-NHEM-2) su bili inkubirani različitim koncentracijama ekstrakta (0,06, 0,13 i 0,25 %) tijekom 10 dana. Melanocitna proizvodnja

melanina se povećala za 47 %. Budući da je β-endorfin povezan s regulacijom pigmentacije, to je bilo vidljivo kao β-endorfinu slična aktivnost (Schmid i sur., 2006).

Stanične linije karcinoma želuca (KATO III), dojke (MCF-7), cerviksa (SKG-3a), kolona (COLO 201), jajnika (SKOV-3) i pluća malih stanica (Lu-134-A-H), kao i fetalni fibroblasti (HE-21) su korišteni za ispitivanje učinaka induciranja apoptoze i citotoksičnosti primjenom etanolnog ekstrakta konopljikinih plodova (1 i 100 μg/mL). Ekstrakt nije djelovao citotoksično na HE-21 stanicama. Za sve druge stanice citotoksični učinak je ovisio o brzini rasta stanica. U SKOV-3, KATO III, COLO 201 i Lu-134-A-H stanicama se mogao pokazati učinak induciranja apoptoze primjenom ekstrakta (Ohyama i sur., 2003). Koristeći KATO III staničnu liniju za daljnja istraživanja, pokazalo se da su unutarstanični oksidacijski stres i oštećenje mitohondrijske membrane odgovorni za apoptozu uzrokovanu konopljikom (Ohyama i sur., 2005). Ispitao se i antiproliferativni učinak etanolnog ekstrakta (60 % EtOH) na različitim epitelnim staničnim linijama humane prostate. Učinak proliferacije i indukcije apoptoze ovih stanica je ovisio o koncentraciji s IC_{50} vrijednostima ispod 10 μg/mL (Weisskopf i sur., 2005).

U starijim pokusima na životinjama konopljikin plod se testirao na jajnicima što je rezultiralo smanjenjem cista i krvarenja folikula. U drugim pokusima na životinjama promatrala se inhibicija laktacije i normalizacija stresom izazvane hiperprolaktinemije. U jednoj studiji se utvrđivao utjecaj konopljike na sadržaj β-endorfina u krvi ženki štakora. Prvi dan se izmjerio sadržaj β-endorfina u krvi. Nakon toga su štakori, podijeljeni u tri skupine, oralno primjenjivali ekstrakt *Vitex agnus-castus* tijekom tri uzastopna dana (20, 30 i 60 mg/kg). Četvrti dan se ponovno mjerio sadržaj β-endorfina. Primjenom najniže doze, sadržaj β-endorfina se povećao za oko 50 %, dok se u druge dvije skupine sadržaj 100 % povećao (Fleming, 2000; HMPC, 2010).

Jedna *in vivo* studija je pokazala da se u štakorica kojima su odstranjeni jajnici djelovanjem ekstrakta konopljikinih plodova (doza nije navedena) povećao rast maternice i ekspresija razine c-myc mRNA uterusa i mRNA jetrenog ceruloplazmina, što ukazuje na estrogeno djelovanje (WHO, 2009).

Inhibicijski učinak ekstrakta plodova na izlučivanje prolaktina ispitivan je u muških štakora. Intravenska primjena 53 %-tnog etanolnog ekstrakta plodova, koji sadrži 20 mg/mL u vodi topljivih sastojaka, značajno je inhibirala stresom inducirano izlučivanje prolaktina u usporedbi s početnom vrijednošću (HMPC, 2010).

4.2. Klinička istraživanja

4.2.1. Predmenstrualni sindrom

Predmenstrualni sindrom (PMS) se odnosi na redovnu pojavu afektivnih simptoma poput depresivnog raspoloženja, razdražljivosti, tjeskobe, konfuzije i socijalnog povlačenja, kao i somatskih simptoma, uključujući napetost i bol u grudima, nadutost, želju za slatkim, umor i glavobolju koji traju najmanje pet dana prije menstruacije tijekom tri menstrualna ciklusa. Provedeno je mnogo istraživanja učinaka konopljike na simptome PMS-a.

Otvorena (nekontrolirana) studija koja je uključila 36 žena s PMS-om je procijenila učinak 58 %-tnog etanolnog ekstrakta plodova (Agnolyt®) na upravljanje simptomima. Ispitanice su uzimale 40 kapi ekstrakta dnevno tijekom tri ciklusa. Ishodi mjerenja su bili smanjenje fizičkih i psihičkih simptoma kao što su glavobolja, otečenost i osjetljivost grudi, nadutost, umor, povećan apetit, želja za slatkim, nervoza i nemir, anksioznost, iritabilnost, nedostatak koncentracije, depresija, nekontrolirano plakanje, promjene raspoloženja i agresivnost. Nakon tri mjeseca tretmana, 69 % žena je osjetilo značajno smanjenje fizičkih, a 80 % psihičkih simptoma. Trajanje luteinske faze se produžilo s 5,4 na 11,4 dana (HMPC, 2010).

U opservacijskoj, nekontroliranoj, multicentričnoj studiji se pratio učinak Agnolyt® preparata u 1542 ispitanice s PMS-om (13-62 godine starosti) u prosječnoj dozi od 42 ± 9,3 kapi dnevno. Trajanje primjene preparata je variralo između 7 dana i 16 godina. Samo 4,5 % ispiztanica i 4,4 % liječnika nisu bili zadovoljni liječenjem. U 32 slučaja su prijavljene nuspojave kao što je mučnina, proljev, neuobičajeno trajanje mjesečnice, akne i eritem (HMPC, 2010).

Provedena je randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana studija koja je uključila 217 žena sa samodijagnosticiranim PMS-om prema modificiranoj inačici upitnika za menstrualne poremećaje koja pokriva većinu glavnih simptoma. Procijenjena je učinkovitost plodova konopljike na simptome predmenstrualnog sindroma. Ispitanice su uzimale prašak osušenih plodova (tri puta dnevno po dvije tablete od 300 mg; n = 105) ili placebo na bazi soje (n =112) u trajanju od tri mjeseca. Osim statistički značajne razlike u djelovanju na simptom "osjećaj nervoze i nemira", nijedan drugi statistički značajan rezultat nije dokazan, uz napomenu da je soja loš izbor placebo jer se ne smatra biološki inertnom (HMPC, 2010).

Multicentrično, randomizirano, dvostruko slijepo, kontrolirano kliničko ispitivanje uspoređivalo je učinkovitost suhog etanolnog ekstrakta ploda u odnosu na piridoksin (vitamin B6) u liječenju žena s PMS-om (n = 127). Prva skupina je dobivala jednu kapsulu ekstrakta (3,5-4,2 mg suhog ekstrakta plodova) i jednu placebo kapsulu tijekom tri ciklusa, dok je druga skupina dobivala jednu placebo kapsulu dva puta dnevno od 1. do 15. dana ciklusa, nakon čega je slijedila jedna kapsula piridoksina (100 mg) dva puta dnevno od 16. do 35. dana ciklusa. Terapijski odgovor je procijenjen korištenjem *Premenstrual Tension Syndrome* skale, *Clinical Global Impressions* skale te praćenjem šest karakterističnih simptoma (osjetljivost grudi, edem, unutarnja napetost, glavobolja, zatvor i depresija). Na kraju ispitivanja je terapijska učinkovitost procijenjena od strane liječnika i obje skupine pacijenata. Primjenom *Premenstrual Tension Syndrome* skale nije ustanovljena značajna razlika među skupinama. *Clinical Global Impressions* skala je pokazala da se u 77,1 % žena koje su primale konopljiku i 60,6 % tretiranih piridoksinom pokazalo poboljšanje. Nuspojave su bile rijetke i uključivale su gastrointestinalne tegobe, kožne reakcije i prolaznu glavobolju (Lauritzen i sur., 1997).

Otvoreno (nekontrolirano) kliničko ispitivanje, koje je uključivalo 50 žena (od kojih je 43 završilo studiju) s PMS-om je procijenilo učinak etanolnog ekstrakta plodova na simptome. Trinaest ispitanica su istodobno uzimale oralne kontraceptive. Nakon dva mjeseca osnovnog promatranja, primjenjivana je jedna tableta dnevno (20 mg ekstrakta) tijekom tri ciklusa, nakon čega je slijedila post-tretman faza koja je također trajala tri ciklusa. Učinkovitost liječenja je procijenjena pomoću upitnika za menstrualne poremećaje i vizualne analogne ljestvice. Upitnik za menstrualne poremećaje su pacijentice popunjavale na kraju prvog ciklusa i opet tijekom trećeg i šestog ciklusa. Vizualno-analogna ljestvica se mjerila dva puta po ciklusu, jednom u kasnoj luteinskoj fazi kada su simptomi bili najizraženiji i jednom nakon menstruacije tijekom folikularne faze. Na kraju trećeg ciklusa, rezultati dobiveni upitnikom su pokazali smanjenje simptoma za 42,5 %, odnosno smanjenje od 50 % u 20-43 ispitanice. Na kraju post-tretman faze, rezultati su približno ostali 20 % ispod bazalne linije. Glavna prijavljena poboljšanja su se odnosila na simptome osjetljivosti grudi, promjene ponašanja, slabog raspoloženja i edema. Prosječni rezultat dobiven vizualno-analognom ljestvicom tijekom kasne luteinske faze je pokazao smanjenje za 47,2 % tijekom tri mjeseca liječenja te je ostao na razini od 21,7 % ispod bazalne linije tijekom post-tretman faze. Nasuprot tome, rezultat folikularne faze se nije značajno promijenio. Broj dana sa simptomima PMS-a se neznatno smanjio s 7,5 na 6 dana, a istodobna uporaba oralnih kontraceptiva nije imala značajnijeg učinka na bilo koji od ispitanih parametara. Dvadeset

pacijentica (47 %) je prijavilo 37 nuspojava tijekom liječenja i post-tretman faze (Berger i sur., 2000).

Multicentrično, neintervencijsko ispitivanje obuhvatilo je podatke od 1634 ispitanice koji pate od PMS-a i koje su liječene jednom Femicur® kapsulom dva puta dnevno, što odgovara 40 mg droge. Upotrijebljen je novo razvijen upitnik za određivanje učinka na psihičke i somatske simptome. Nakon razdoblja liječenja od tri menstrualna ciklusa, 42 % žena je izvijestilo izostanak simptoma PMS-a, 51 % smanjenje simptoma, a 1 % povećanje. Četrdeset nuspojava je dokumentirano u 37 pacijentica, a od toga se 23 nuspojave povezuju s primjenom biljnog pripravka (samo one spomenute više od jedanput) vezanih za kožu, sluznicu i zdjelicu te gastrointestinalni trakt (Loch i sur., 2000).

Provedena je multicentrična, randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana studija. Ispitanice (n=86) s PMS-om (prosječni menstrualni ciklus 28 dana; prosječno trajanje menstruacije 4,5 dana) su jednom dnevno dobivale tabletu koja je sadržavala 20 mg 60 %-tnog etanolnog ekstrakta plodova konopljike u obliku proizvoda nazvanog "Ze440" ili placebo (n=84) tijekom tri uzastopna menstrualna ciklusa. Dijagnoza je napravljena prema Dijagnostičkom i statističkom priručniku za mentalne poremećaje. Primarna varijabla učinkovitosti bila je promjena od početne vrijednosti do krajnje točke (kraj trećeg ciklusa) u samoprocjeni šest simptoma (iritabilnost, promjena raspoloženja, ljutnja, glavobolja, povećanje grudi i drugih simptoma uključujući nadutost). Poboljšanje simptoma prilikom samoprocjene pacijenatica je bilo značajno veće u žena koje su uzimale ekstrakt plodova konopljike nego u onih koje su primale placebo. Sekundarna varijabla učinkovitosti je bila promjena u tzv. *Clinical Global Impressions* skali gdje su se mjerili određeni čimbenici kao što su ozbiljnost stanja, globalno poboljšanje te odnos rizika i koristi. Rezultati za svaki od ta tri čimbenika su također otkrili značajnu superiornost biljnog pripravka u odnosu na placebo. Stope odgovora (> 50 % smanjenja simptoma) bile su 52 % za tretman i 24 % za placebo. Nuspojave prijavljene u aktivnoj skupini liječenja (n=4) uključuju akne, višestruke apscese, intermenstrualno krvarenje i urtikariju, a u placebo skupini (n=3) akne, preuranjenu menstruaciju i želučane poremećaje (Schellenberg, 2001).

Randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje je usporedilo učinkovitost fluoksetina (selektivni inhibitor ponovne pohrane serotonina) s ekstraktom droge. Pacijentice (n=41) s predmenstrualnim disforičnim poremećajem prema Dijagnostičkom i statističkom priručniku o mentalnim poremećajima su razvrstane ili u skupinu koja prima fluoksetin ili u onu koja prima ekstrakt. Nakon dva mjeseca tertmana, 68,4 % pacijentica je reagiralo na fluoksetin i

57,9 % na ekstrakt droge. Nije bilo statistički značajne razlike između skupina u stopi odgovora na terapiju. Međutim, fluoksetin je bio učinkovitiji u ublažavanju psihičkih, dok je ekstrakt smanjio somatske simptome (Atmaca i sur., 2003).

U prospektivnom, dvostruko slijepom, placebo kontroliranom, multicentričnom kliničkom ispitivanju, pacijenticama su nasumično dodijeljeni VAC (*Vitex agnus-castus* ekstrakt koji odgovara 40 mg biljne droge) i placebo skupina tijekom tri menstrualna ciklusa. Učinkovitost je procijenjena korištenjem kineske verzije PMS-dnevnika (PMSD) i PMTS-a (*Premenstrual tension syndrome*). S ispitivanjem je započelo 217 žena, od kojih su 202 ispitanice došle do završne faze ispitivanja (101 u VAC, 101 u placebo). Srednja vrijednost ukupnog PMSD rezultata se smanjila s 29,23 na početku (nulti ciklus) na 6,41 na završetku (treći ciklus) u VAC skupini te s 28,14 na 12,64. Ukupni PMSD rezultat 3. ciklusa bio je znatno niži od osnovnih vrijednosti u objema skupinama. Razlika u srednjim vrijednostima od nultog do trećeg ciklusa u VAC skupini (22,71 ± 10,33) bila je znatno veća u odnosu na placebo (15,50 ± 12,94). Rezultati PMTS-a su bili slični. U ovom ispitivanju je utvrđen placebo učinak od 50 % te nisu zabilježeni ozbiljni štetni događaj (He i sur., 2009).

Prospektivna, randomizirana, dvostruko slijepa studija je procijenila učinkovitost ekstrakta (VAC, BNO 1095) u liječenju kineskih žena (n = 67) koje pate od umjerenog do teškog PMS-a. Dnevno su dokumentirana 4 simptoma (loše raspoloženje, retencija vode, žudnja za hranom i bol). Ukupni PMSD rezultat je smanjen s 29,38 ± 7,63 na početku na 4,28 ± 5,76 u trećem ciklusu u VAC skupini te s 28,76 ± 8,23 na 11,79 ±11,78 u placebo skupini. Težina sva četiri simptoma je značajno smanjena u trećem ciklusu (60%). Najznačajnija razlika je bila u smanjenju negativnog raspoloženja i retencije vode (Ma i sur., 2010).

U multicentričnoj, randomiziranoj, dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj studiji, 162 pacijentice s PMS-om (18-45 godina) su koristile ili placebo ili različite doze preparata „Ze440“ (8, 20 i 30 mg) tijekom tri menstrualna ciklusa. Korištenjem vizualno analogne ljestvice, pacijentice su procijenile ozbiljnost simptoma kao što su razdražljivost, promjene raspoloženja, ljutnja, glavobolja, nadutost i napetost u grudima. Poboljšanje ukupnog broja simptoma u skupini koja je primala 20 mg preparata, je bilo značajno veće, u odnosu na placebo i skupinu koja je uzimala 8 mg. S druge strane, veća doza od 30 mg, nije značajno smanjila težinu simptoma u usporedbi s tretmanom od 20 mg (Schellenberg 2012).

Randomizirano, placebo kontrolirano, dvostruko slijepo istraživanje, procijenilo je učinak konopljike u 128 žena (62 u *Vitex* skupini, 66 u placebo skupini). Sve pacijentice su

prije studije procijenile težinu svojih simptoma (glavobolja, ljutnja, razdražljivost, depresija, nadutost i napetost u dojkama) tijekom predmenstrualnog perioda. Četrdeset kapi ekstrakta ili odgovarajućeg placeba se primjenjivalo šest dana prije menstruacije tijekom 6 uzastopnih ciklusa. Pacijentice su nakon toga opet procijenile težinu svojih simptoma. Svaka stavka ocijenjena je pomoću vizualno analogne ljestvice (VAS). Uočena je značajna razlika u smanjenju simptoma između ispitivane skupine i placeba (Zamani i sr., 2012).

U otvorenoj kliničkoj studiji se istraživao učinak ekstrakta konopljike u smanjenju migrena u žena koje pate od PMS-a. Promatrani su učinci na PMS i glavobolju. Od 107 žena, 100 ih je završilo tromjesečno liječenje ekstraktom (40 mg/dan). Intenzivno smanjenje simptoma PMS-a zabilježeno je u 66 žena, u 26 blago smanjenje, a u 8 ispitanica nije bilo učinka. Što se tiče migrene, u 42 % žena smanjenje je bilo više od 50 % u pojedinačnim mjesečnim napadajima, a 57 % žena je imalo je smanjenje više od 50 % u određenim danima s glavoboljom u mjesecu. Nuspojava nije bilo (Ambrosini i sur., 2013).

Provedena je multicentrična, prospektivna, otvorena studija, koja je obuhvatila 69 japanskih žena s PMS-om u dobi od 18 do 44 godine. Pacijentice su primale Prefemin® koji sadrži 20 mg konopljikinog ekstrakta, jednom dnevno, tijekom tri menstruacijska ciklusa. Učinkovitost je ispitana na temelju bilježenja intenziteta deset simptoma (razdražljivost, depresivno raspoloženje, ljutnja, glavobolja, nadutost, osjetljivost grudi, poremećaji kože, umor, pospanost i nesanica) putem vizualno analogne ljestvice (VAS). Nadalje, zabilježeni su rezultati procjene liječnika (*Physician´s Global Assessment* - PGA). Nakon prvog menstrualnog ciklusa, zabilježeno je statistički značajno smanjenje ukupnog VAS rezultata, a rezultat se nastavio smanjivati za dva sljedeća ciklusa. Svih deset simptoma se značajno smanjio na isti način. U trećem menstrualnom ciklusu su gotovo sve pacijentice bile bez simptoma (91 %) ili su pokazivale blage simptome temeljene na PGA. U 8 pacijentica su se javile nuspojave, među kojima i jedan alergijski dermatitis (momoeda i sur., 2014).

4.2.2. Insufincijencija žutog tijela/hiperprolaktinemija

Luteinska faza je jedna od faza menstrualnog ciklusa koju obilježava žuto tijelo (*corpus luteum*), a traje od ovulacije do početka idućeg menstrualnog krvarenja. Za to vrijeme, sluznica maternice obično zadebljava kako bi se pripremila za moguću trudnoću. Ukoliko postoji defekt tijekom te faze, sluznica ne može ispravno rasti svaki mjesec. To može otežati ženama da ostanu trudne ili da zadrže trudnoću. Do defekta luteinske faze može doći ukoliko jajnici ne otpuštaju dovoljno progesterona ili ako sluznica maternice ne reagira na

hormone. Ovo stanje je povezano s mnogim zdravstvenim problemima, uključujući anoreksiju, endometriozu, intenzivno vježbanje, hiperprolaktinemiju, pretilost, sindrom policističnih jajnika te poremećaje štitnjače. U mnogo slučajeva, ako se korigiraju ti problemi, korigira se i defekt luteinske faze. Prolaktin (PRL) igra središnju ulogu u raznim reproduktivnim funkcijama. U početku je ovaj hormon isključivo bio povezan s laktacijom u žena, a u posljednje se vrijeme istražuje njegov učinak na reprodukciju. Hiperprolaktinemija je stanje povišene razine prolaktina u krvi koja može biti fiziološka, patološka ili idiopatska. Povišena razina prolaktina može bi biti povezana s ozbiljnim kliničkim manifestacijama ili biti sasvim asimptomatska.

U otvorenoj, nekontroliranoj studiji, proučavao se učinak preparata Agnolyt® (68 %-tni etanolni ekstrakt *konopljike*) u 18 žena (24-39 godina) koje nisu mogle zatrudnjeti više od dvije godine. Svaka od njih je primala 40 kapi dnevno tijekom tri mjeseca. Kriteriji su uključivali normalne razine prolaktina, normalne testove TRH stimulacije i abnormalno smanjenu razinu progesterona u serumu. Liječenje se smatralo uspješnim ako su se razine progesterona vratile u normalu ili je postojao jasan trend prema normalizaciji. Liječenje je bilo uspješno u 13-18 žena, od kojih su 2 žene ostale trudne, u 7 žena je razina progesterona porasla iznad 12 ng/mL, a u 4 žene je bio očiti trend prema normalizaciji (HMPC, 2010).

U otvorenoj, nekontroliranoj studiji, koja je uključivala 48 žena koje nisu mogle biti trudne zbog disfunkcije luteinske faze, određivala se učinkovitost Agnolyta® u normalizaciji koncentracije progesterona. U kriterije je uključeno smanjene razine progesterona (7-12 ng/mL) i skraćena hipertermna faza krivulje bazalne temperature. Nakon uzimanja 40 kapi dnevno tijekom tri mjeseca, u 25 od 45 žena (3 su isključene zbog istovremene primjene hormona) je zabilježena normalizacija razine serumskog progesterona (> 12 ng/mL), sedam žena je ostalo trudno i u sedam žena je uočen trend normalizacije (HMPC, 2010).

Učinkovitost Strotan® soft-gel kapsula, koje sadrže 20 mg konopljikinog etanolnog ekstrakta je ispitivana u randomiziranom, placebo kontroliranom, dvostruko slijepom ispitivanju koje je obuhvatilo 52 žene (19-42 godine starosti) s defektima luteinske faze uslijed latentne hiperprolaktinemije. Dnevna doza je bila jedna Strotan® kapsula ili placebo. Cilj studije je bio saznati može li se smanjiti povišena razina hipofiznog prolaktina i mogu li se normalizirati deficiti u duljini luteinske faze i sinteza progesterona. Krv za hormonsku analizu je uzimana između 5. i 8. dana i 20. dana menstrualnog ciklusa, prije i nakon tri mjeseca terapije. Latentna hiperprolaktinemija je analizirana praćenjem otpuštanja prolaktina 15 i 30 minuta nakon i.v. ubrizgavanja 200 µg TRH-a. Trideset i sedam ispitanica je

uključeno u konačnu statističku analizu. Otpuštanje prolaktina je smanjeno nakon 3 mjeseca terapije, skraćene luteinske faze su se normalizirale i deficiti sinteze luteinskog progesterona su uklonjeni. Ove promjene su bile značajne i pojavile su se samo u ispitivanoj skupini. Svi ostali hormonski parametri ostali su nepromijenjeni, osim razine 17-β-estradiola, koja se povećala tijekom luteinske faze tretiranih žena. Ukupna dužina menstrualnog ciklusa nije bila promijenjena, što ukazuje da je došlo do odgovarajućeg skraćenja folikularne faze. Nuspojave nisu bile vidljive, a dvije žene su zatrudnile (HMPC, 2010).

Opisan je slučaj pacijentice s blagom hiperprolaktinemijom i menstruacijskim poremećajima (oligomenoreja) kod koje se razvila intolerancija na bromokriptin te joj je zbog toga u terapiju uveden ekstrakt konopljike. U laboratorijskim testovima je uočen relativni hipoestrogenizam, a magnetska rezonanca je isključila prisutnost adenoma hipofize. Terapija konopljikinim ekstraktom se pokazala učinkovitom u olakšavanju simptoma i poboljšanjem hormonskih testova (Męczekalski i Czyżyk, 2015).

4.2.3. Poremećaji menstrualnog ciklusa

Za većinu žena se normalni menstrualni ciklus kreće od 21 do 35 dana. No, 14-25 % žena ima nepravilne menstrualne cikluse, što znači da su ciklusi kraći ili dulji od normalnih, teži ili lakši ili povezani s drugim problemima poput grčeva u stomaku. Nepravilni ciklusi mogu biti ovulacijski i anovulacijski. Najčešći menstrualni poremećaji su: amenoreja (izostanak menstruacije), oligomenoreja (produženi menstrualni ciklus), menoragija (obilna menstruacija), produljeno menstrualno krvarenje i dismenoreja (bol u zdjelici za vrijeme menstruacije). Dodatne menstrualne nepravilnosti uključuju polimenoreju (učestale menstruacije), nepravilne menstrualne cikluse, skraćeno i intermenstrualno krvarenje.

Učinak Agnolyt® preparata se proučavao u studiji koja je bila otvorenog, komparativnog karaktera. Tijekom 5-24 mjeseca, 82 žene (57 u *Vitex* skupini i 25 u *Vitex*/estrogen kombiniranoj skiupini) je uzimalo 15 kapi tinkture konopljike, 3 puta dnevno, odnosno jednu tabletu etinilestradiola s konopljikom u istoj dozi. U *Vitex* skupini 87,7 % žena je pokazalo normalizaciju krvarenja u menstrualnom ciklusu u usporedbi s 52 % žena u *Vitex* /estradiol kombiniranoj skupini. Od spomenutih 87,7 % žena *Vitex* skupine s dijagnosticiranim anovulacijskim ciklusom, 50 % ima sekundarnu amenoreju i 44 % oligo-hipomenoreju. Nakon tretmana, u svih je zabilježeno povećanje krivulje bazalne temperature. Isto je zabilježeno i u 16 % žena u kombiniranoj skupini (HMPC, 2010).

Učinak Agnolyt® preparata se također proučavao u otvorenoj studiji koja je uključivala 126 žena (35 s oligomenorejom, 33 s polimenorejom i 58 s menoragijom) tijekom 2-3 mjeseca. Pacijentice su uzimale 15 kapi, tri puta dnevno s vodom, 30 minuta prije obroka. U 58 pacijentica s menoragijom je postignuto statistički značajno skraćivanje razdoblja krvarenja. U 33 pacijentice s polimenorejom trajanje između razdoblja krvarenja se u prosjeku produžilo s 20,143 (±2,35) na 26,27 dana (±2,304). U 33 slučaja oligomenoreje, prosječni ciklus se skratio s 39 (±2,64) na 31,14 dana (±2,82). Zatrudnjelo je 14 pacijentica (WHO, 2009).

Dvadeset žena sa sekundarnom amenorejom su tretirane Agnolyt® preparatom (40 kapi s tekućinom, ujutro, natašte) u otvorenoj prospektivnoj, nekontroliranoj studiji. Studiju je završilo15 žena tretiranih najmanje šest mjeseci. U 10 od 15 žena se ciklički ponovo pojavilo krvarenje. Vrijednosti progesterona i LH su se povećale, a vrijednosti FSH su se neznatno smanjile ili se nisu promijenile (WHO, 2009).

U dvije opservacijske, nekontrolirane studije (s prospektivnim i retrospektivnim podacima) preparatom Agnolyt® (tinktura ploda konopljike) je tretirano 2447 žena s različitim poremećajima menstrualnog krvarenja. Vrijeme trajanja studije je bilo 9 godina, a prosječno trajanje terapije 5 mjeseci. Žene su uzimale 42 kapi tinkture na dan. I pacijenti i liječnici su uočili poboljšanje simptoma. Od ukupnog broja pacijenata, 90 % ih je imalo jako dobre, dobre ili zadovoljavajuće rezultate, dok je 2,3 % doživjelo manje nuspojave (WHO, 2009).

U otvorenoj, nekontroliranoj studiji su se proučavali učinci Strotan® soft-gel kapsula (20 mg hidroalkoholnog suhog ekstrakta ploda konopljike) u 120 žena sa sindromom hormonskog poremećaja, kao što su oligomenoreja, insuficijencija žutog tijela i polimenoreja tijekom 6 mjeseci. U 63 % od ukupnog broja ispitanica se normalizirao ciklus (uglavnom u žena s produljenom folikularnom fazom i poremećenim temperaturama tijekom ciklusa). Pacijentice s vrlo niskim progesteronom su posebno imale koristi, a 29 % ih je postalo trudno (HMPC, 2010).

Ukupno 60 žena s teškom primarnom dismenorejom i 30 zdravih žena (kontrola) je bilo uključeno u komparativnu, prospektivnu studiju kako bi se usporedila učinkovitost etinilestradiol/drospirenona i ploda konopljike mjereći protok krvi maternične ili uterine arterije pomoću Doppler ultrasonografije. Trideset pacijentica se tretiralo etinilestradiol (0,03 mg)/drospirenonom (skupina 1), a drugih 30 s plodom konopljike (skupina 2) tijekom tri

menstruacijska ciklusa. Rezultati vizualne analogne ljestvice (VAS) prije i na kraju trećeg mjeseca terapije, indeks pulsatilnosti (PI) i indeks otpora (RI) maternične arterije su zabilježeni prije i nakon primanja terapije prvog dana menstruacijskog ciklusa. Srednje vrijednosti PI i RI u pacijentica s teškom primarnom dismenorejom su bile znatno više nego u kontrolnim skupinama prvog dana menstruacijskog ciklusa. Srednje vrijednosti PI i RI su bile značajno niže nakon tretmana u obje skupine u usporedbi s prethodnim vrijednostima. Nakon tri menstruacijska ciklusa, VAS rezultati su značajno pali u obje skupine u usporedbi s vrijednostima prije terapije, međutim, nije bilo značajnih razlika u pogledu Doppler nalaza između skupina (Aksoy i sur., 2014).

4.2.4. Mastodinija/mastalgija

Mastalgija (mastodinija) predstavlja bol i napetost u grudima koja može biti ciklička (povezana s menstrualnim ciklusom) ili neciklička (nije povezana s menstrualnim ciklusom). Mastodinija kao simptom PMS-a je ispitivana je u dalje navedenim studijama.

Randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano kliničko ispitivanje, koje je uključilo 104 žene s cikličkom boli u dojkama (tijekom najmanje 3 ciklusa), je procijenilo učinke pripravaka plodova konopljike (tinktura 1:5 ekvivalent za 2 g plodova u 53 %-tnom etanolu) u liječenju cikličke boli u dojkama. Pacijentice su primale placebo, tinkturu (30 kapi dva puta dnevno) ili tablete (jedna tableta dva puta dnevno) tijekom tri ciklusa. Pacijentice su pomoću vizualno-analogne ljestvice procijenile intenzitet boli u dojkama, jednom tijekom svakog ciklusa, te bilježile prisutnost menstrualnog krvarenja i intenzitet boli u dnevniku. Razine prolaktina su također mjerene tijekom prvog i trećeg ciklusa u predmenstrualnom tjednu. Na kraju trećeg ciklusa je zabilježeno značajno smanjenje boli u dojkama tretiranih pacijentica u odnosu na one koje su primale placebo. Niti tablete niti tinktura nisu imale utjecaja na koncentracije progesterona, folikul stimulirajućeg hormona ili luteinizirajućeg hormona. Iako se razina bazalnog prolaktina smanjila u obje skupine, to nije bilo statistički značajno u usporedbi s placebom (HMPC, 2010).

Provedena je randomizirana, komparativna studija, koja je uključila 40 žena s cikličkom mastalgijom i 40 žena s blagom hiperprolaktinemijom, kako bi se usporedila učinkovitost ploda konopljike (Agnucaston®) s terapijom bromokriptina (Parlodel®, dopaminski agonist). acijentice su dobivale ili bromokriptin (2,5 mg dva puta dnevno) ili plod konopljike (40 mg jednom dnevno) tijekom tri mjeseca. Učinkovitost je procijenjena uspoređivanjem razina prolaktina u serumu između 5. i 8. dana menstrualnog ciklusa prije i

nakon tretmana te bolova u dojkama procijenjenih vizualnom analognom ljestvicom. Obje skupine su pokazale značajno niže razine prolaktina nakon tretmana te značajno manju bol u dojkama, bez značajne razlike među njima. Nije bilo nuspojava koje su se odnosile na primjenu konopljike, a 12,5 % pacijentica liječenih bromokriptinom je pretrpjelo mučninu i povraćanje (Kilicdag i sur., 2004).

4.2.5. Liječenje akni

Jedna kontrolirana, komparativna studija, koja je uključivala 161 pacijenta (30 % muškaraca i 70 % žena), je proučavala učinak tinkture konopljike (Agnolyt®) u usporedbi sa konvencionalnom terapijom u liječenju akni. Tinkturu je uzimalo 118 osoba (20 kapi, dva puta dnevno, tijekom 4-6 tjedana, a zatim 15 kapi, dva puta dnevno, tijekom 1-2 godine), a 43 ispitanika konvencionalnu terapiju za akne. Pacijenti (uglavnom žene) liječeni tinkturom su prijavili bržu stopu iscjeljenja nakon 6 tjedana i nakon 3 mjeseca terapije, a 70 % je imalo potpuno ozdravljenje (HMPC, 2010).

4.2.6. Učinci na laktaciju

Provedena je studija u kojoj je ispitan utjecaj vitamina B1 i Agnolyt® na laktaciju u pacijentica postnatalnog odjela. Vitamin B1 (tiamin, doza nije navedena) uzimale su 102 pacijentice, dok su 353 pacijentice primale Agnolyt® (15 kapi tri puta dnevno), a 362 pacijentice su pripadale kontrolnoj skupini. Na kraju studije, utvrđene su količine majčinog mlijeka koje je novorođenčad pila. Laktacija se u svim skupinama povećavala do 10. dana nakon poroda, a od 10. do 20. dana je zabilježeno smanjenje u žena u tiamin i kontrolnoj skupini. Učinak tiamina nije zadovoljio autore studije i stoga više nisu analizirali ove slučajeve. Od Agnolyt® i kontrolnih pacijenata, samo su procijenjene ispitanice koje su ostale u bolnici 12 dana ili dulje (Agnolyt®: 62 pacijenta, kontrola: 79 pacijenata). Majke koje su primale konopljiku su nakon 14 dana postpartum imale veću proizvodnju mlijeka od onih u ostalim skupinama, izuzev onih s teškim komplikacijama ili mastitisom. Nisu provedene statističke analize (HMPC, 2010).

4.2.6 Menopauza

Utvrđivala se učinkovitost preparata koji sadrži ekstrakte konopljike i magnolije kombiniranih s izoflavonima soje (SI) i laktobacilima na vazomotorne simptome i poremećaje spavanja u postmenopauzalnih žena. Ova kombinacija (ESP skupina) je uspoređivana s formulacijom koja sadrži samo izoflavone (C skupina) pri preporučenoj dozi. Kuppermannov

indeks (obuhvaća 9 menopauzalnih simptoma), Pittsburghov indeks kvalitete spavanja (PSQI) i *Short Form 36* (SF-36; mjera zdravstvenog stanja) su određeni na početku, nakon 3, 6 i 12 mjeseci. Debljina endometrija, gustoća dojki i funkcija jetre su procijenjeni na početku i nakon 12 mjeseci. U studiju je upisano 180 žena (100 u ESP skupini i 80 u C skupini). Na kraju studije nisu uočene značajne razlike u gustoći dojki, debljini endometrija i funkciji jetre između skupina. Kuppermannov indeks i sklonost napadajima vrućine su se značajno smanjivali u ESP skupini u odnosu na C skupinu. Istodobno je uočeno i značajno poboljšanje kvalitete spavanja i psihofizičkih *wellness* parametara u ESP skupini. Nisu zabilježene nuspojave (De Franciscis i sur., 2017).

Provedeno je dvostruko slijepo, randomizirano, placebo kontrolirano ispitivanje čiji je cilj bio procijeniti učinkovitost kombinacije crnog kima (*Nigella sativa*) i konopljike s citalopramom u kontroli napadaja vrućine u 46 zdravih žena (40-60 godina) u menopauzi tijekom 8 tjedana. Pacijentice su u prosjeku imale više od četiri napadaja vrućine dnevno, zabilježenih od srpnja 2016. do lipnja 2017. godine. Podaci o jačini vazomotornih simptoma prikupljeni su krajem osmog tjedna. Pacijentice su uzimale jednom dnevno (ujutro) kombinaciju ili placebo. Na kraju razdoblja tretmana od 8 tjedana, dokazana je superiornost biljnih kombinacija s citalopramom nad placebom i citalopramom, uključujući vazomotornu, fizičku i psihosocijalnu domenu, te nisu zabilježene značajne razlike u seksualnoj funkciji (Molaie i sur., 2018).

4.3. Toksikologija

4.3.1. Ispitivanje toksičnosti (akutna, subakutna i kronična toksičnost)

U studiji akutne toksičnosti, tinktura konopljike se davala mužjacima i ženkama štakora i miševa u dozi od 2000 mg/kg. Ponašanje i povećanje tjelesne težine su ostali nepromijenjeni tijekom čitave studije (vrijeme promatranja 14 dana). Nekropsija nije otkrila makroskopske lezije (HMPC, 2010).

U studiji subakutne toksičnosti, tinktura se davala mužjacima i ženkama štakora (0, 10, 100, 1000 mg/kg) tijekom 4 tjedna. Svi parametri (ponašanje, opće stanje, tjelesna težina, potrošnja hrane, hematološki, krvni, biokemijski i analitički parametri urina) su ostali nepromijenjeni. Cjelokupna patologija, analiza težine organa i histopatologija nisu pokazali nalaze koji se mogu pripisati doziranju (HMPC, 2010).

Tijekom dva ispitivanja toksičnosti nakon ponovljene doze, opaženi su znakovi hepatotoksičnosti. U istraživanju koje je trajalo 26 tjedna, uočeni su toksični učinci kod svih ispitanih doza. Budući da je proizvod indiciran za liječenje tijekom najmanje tri mjeseca i nije vremenski ograničen, zaključeno je da je potrebna daljnja detaljna procjena (HMPC, 2010).

Srednja letalna doza etanolnog ekstrakta plodova nakon jedne intragastrične ili intraperitonealne primjene je bila veća od 2,0 g/kg tjelesne težine (tt) u štakora i miševa. Nije bilo prijavljenih uginuća. U 28-dnevnoj studiji subakutne toksičnosti, NOEL (*no observed effect level*) ili doza koja nije izazvala nikakve promjene, bila je 50,0 mg/kg tt. Kronična primjena tijekom 26 tjedana rezultirala je NOEL-om od 40,0 mg/kg tt. Nije bilo opaženih genotoksičnih učinaka kada je isti ekstrakt ispitan testom mutacije timidin kinaze u staničnim linijama sisavaca, testom neplaniranog popravka DNA u štakorskim hepatocitima ili mikronukleus testom u mišjim stanicama koštane srži (WHO, 2009).

4.3.2.Reproduktivne i razvojne studije

Etanolni ekstrakt konopljike (80 % EtOH) se injektirao intraperitonealno u koncentracijama 65, 165, 265, 365 i 465 mg/kg tjelesne težine u odrasle mužjake tijekom 30 dana da bi se proučio njegov učinak na luteinizirajući hormon (LH) i testosteron te njegova interakcija s dopaminergičkim sustavom. Za usporedbu učinaka su se koristili haloperidol (antagonist dopaminskih receptora) i bromokriptin (agonist dopaminskih receptora). U usporedbi s kontrolnom skupinom, smanjile su se razine LH i testosterona primjenom ekstrakta u koncentracijama od 165, 265 i 365 mg/kg tjelesne težine. Isti učinci su bili vidljivi primjenom bromokriptina, dok je haloperidol povećao razine LH i testosterona. Istovremena primjena ekstrakta s haloperidolom i ekstrakta s bromokriptinom je smanjila razne LH i testosterona (Nasri i sur., 2007).

Trudne ženke Wistar štakora (odabrane na bazi prethodno stabilnog estrusnog ciklusa) su tretirane od 5. dana laktacije nakon prirodnog poroda pa sve do 8. dana postpartum s 2 x 5 mL/kg pripravka konopljike (1:20 razrijeđena početna tinktura ili tinktura svježe biljke). Kontrolne skupine su primale otopinu NaCl (0,9 %) ili bromokriptin (5 mg/kg) jednom dnevno. Životinje su praćene do 14. dana postpartum. Zabilježen je broj mladunaca sa i bez vidljivog mlijeka u želucu kao i njihova smrtnost. Tjelesna težina majki se nije promijenila tijekom promatranog razdoblja. Nakon drugog dana liječenja, broj mladunaca bez vidljivog mlijeka u želucu se povećao u grupama koje su primale tinkturu i bromokriptin. Mortalitet je porastao u obje skupine (*Vitex* i bromokriptin) u istoj mjeri. Nakon tretmana, preživjeli

mladunci *Vitex* skupine su pokazali ubrzan rast tjelesne težine. Učinak inhibiranja laktacije (smanjenje prolaktina) u *Vitex* skupini je bio usporediv s učinkom bromokriptina (HMPC, 2010).

Konopljikine sjemenke u prahu su izazvale blago smanjenje prosječnog broja fetusa kada su se davale ženkama štakora s utvrđenom trudnoćom u koncentracijama od 1 ili 2 mg/kg u usporedbi s kontrolnom skupinom. Nadalje, vodeni ekstrakt sjemenki je inhibirao spontanu uterinsku aktivnost izoliranog uterusa štakora. Djelomična inhibicija je zabilježena kod doza od 2,4 mg/mL, dok je potpuna inhibicija zabilježena pri 8 mg/mL (HMPC, 2010).

Intragastrična primjena etanolnog ekstrakta plodova, u dozama do 80 puta većim od preporučene humane dnevne doze, u mužjaka i ženki štakora nije imala nikakvog učinka na plodnost, ponašanje tijekom parenja, trudnoću ili dojenje. Nisu uočene patološke promjene u bilo kojem od potomaka tretiranih životinja u odnosu na potomke kontrolnih životinja (HMPC, 2010).

4.4. Doziranje i trajanje terapije

Većina preparata koji se koriste u europskoj medicini su nestandardizirani tekući oblici kao što su etanolni ekstrakti i tinkture koji sadrže različite koncentracije etanola (50-70 %, V/V), čvrsti oblici kao sto su različiti suhi ekstrakti i praškaste biljne tvari. Danas najčešće upotrebljavamo gotove pripravke u obliku kapi ili tableta. Konopljika nema trenutačan učinak. Za liječenje PMS-a se preporučuje minimalno trajanje od tri mjeseca. Istraživanje fitoterpeuta u Ujedinjenom Kraljevstvu je izvijestilo da je potrebno prosječno 4,8 mjeseci primjene prije nego što pacijenti sa simptomima PMS-a počnu odgovarati na terapiju. Za anovulaciju i neplodnost potrebno je trajanje terapije 5-7 mjeseci. Za amenoreju koja traje dulje od dvije godine može biti potrebno čak i do 18 mjeseci. U većini se drugih slučajeva simptomi obično počinju smanjivati u roku 1-2 mjeseca. Nakon 4-6 mjeseci može se vidjeti veliko ili potpuno olakšanje simptoma i postupni povratak simptoma nakon prestanka liječenja. Učinak ekstrakta konopljike na hormone u žena može biti ovisan o dozi. Neke studije navode da niže doze rezultiraju povećanjem prolaktina i estrogena, a smanjenjem progesterona, dok veće doze smanjuju razinu prolaktina. Nije poznato koji su sastojci odgovorni za aktivnost konopljike i zbog toga još uvijek nema službenih objavljenih smjernica za standardizaciju preparata. No, kao markeri kontrole kvalitete koriste se iridoidni glikozid agnuzid i flavonol kasticin. Njemačka E komisija preporučuje 30-40 mg ekstrakta

sušenih plodova dnevno (vodeno-alkoholna iscrpina), 2,6-4,2 mg suhog prirodnog ekstrakta (standardiziran na 0,6 % kasticina) ili 40 kapi tinkture. Doze tekućeg ekstrakta (1: 1 g/mL) se kreću od 0,5-1,0 mL dnevno. Pojedini proizvođači još uvijek imaju vrlo različite preporuke za dnevnu dozu. Pripravci na bazi konopljike trebaju proći kvalitativnu i kvantitativnu analizu hidrofilnih flavonoidh, lipofilnih spojevh i iridoidnih glikozida (HMPC, 2010; Blumenthal, 2003; Roemheld-Hamm, 2005).

4.5. Nuspojave

Nuspojave su zabilježene u nekoliko kliničkih studija. Pregled 30 studija koje uključuju 11 506 ispitanika je prijavilo ukupno 246 nuspojava, što predstavlja pojavnost nuspojava od 1-2 % . Najčešće nuspojave su gastrointestinalne tegobe i mučnina (75), akne, kožne reakcije, urtikarija (58), promjene u menstrualnom ciklusu (24) i glavobolja (10). Ostale nuspojave uključuju umor, uznemirenost, alopeciju, povećani intraokularni tlak, tahikardiju, palpitacije, poliuriju, znojenje, vaginitis, vrtoglavicu, debljanje i suhoću usta. (WHO, 2009; Blumenthal, 2003).

4.6. Posebna upozorenja i mjere opreza

Pacijentice koje pate ili su patile od estrogen ovisnih stanja trebaju konzultirati svog liječnika prije početka primjene fitopreparata s konopljikom. Neki od tih stanja uključuju karcinom dojke, maternice i jajnika, endometriozu i fibroide maternice (ACHS, 2011). Pacijentice koje koriste dopaminske agoniste, antagoniste dopamina, estrogene i antioestrogene bi se trebale posavjetovati s liječnikom prije početka primjene zbog uočenih estrogenskih i dopaminergičkih učinaka *in vitro*. Primjena u djece i adolescenata mlađih od 18 godina se ne preporučuje zbog nedostatka odgovarajućih podataka. Pacijentice koje osjećaju otekline i napetost u grudima ili imaju menstrualne smetnje za vrijeme primjene se trebaju obratiti svome liječniku. Smatra se da plod djeluje na hipotalamus-hipofiznu os i zbog toga se pacijenti s poviješću poremećaja hipofize, prije početka primjene, moraju posavjetovati s liječnikom. U slučaju prolaktinoma, primjena plodova može maskirati simptome tumora. Alergijske reakcije se mogu pojaviti u nekih pacijenata, ali se obično spontano riješe kada se primjena konopljike prekine. Nema provedenih studija o utjecaju na sposobnost vožnje i korištenja strojeva. Za tinkture koje sadrže etanol mora biti uključeno odgovarajuće označavanje za etanol (HMPC, 2010; Blumenthal, 2003).

4.8. Trudnoća i laktacija

Ne postoji puno podataka o sigurnosti i učinkovitosti primjene konopljike u trudnoći i dojenju. Smatra se da konopljika može imati estrogensku i progesteronsku aktivnost i/ili stimulativno djelovanje na maternicu i zbog toga ju treba izbjegavati tijekom svih faza trudnoće i dojenja. Učinak konopljike na hormone luteinske faze može nepovoljno utjecati na spolni razvoj fetusa. Neki kliničari koriste konopljiku tijekom prvog tromjesečja trudnoće kako bi spriječili pobačaj u pacijentica s progesteronskom insuficijencijom. No, budući da nije poznato je li konopljika korisna i sigurna u trudnica, njena primjena je kontroverzna. Razine progesterona se moraju pažljivo pratiti u ranim tjednima trudnoće ako se donese odluka o povlačenju konopljike nakon četiri mjeseca. Postoje neki dokazi da bi primjena konopljike tijekom postupaka *in vitro* oplodnje mogla spriječiti nastalu trudnoću usprkos vijabilnom embriju (Blumenthal, 2003; ACHS, 2011; Dugoua i sur., 2008).

Ne postoji opća suglasnost o učinkovitosti ekstrakata u povećanju produkcije mlijeka. Klinički podaci i tradicionalna primjena ukazuju na učinak galaktogoga, dok *in vitro* i animalne studije, koje koriste veliki raspon doza, ukazuju na učinak antigalaktogoga. Kemijskom analizom nakon primjene konopljike nisu otkrivene nikakve kompozicijske promjene u humanom majčinom mlijeku. Usprkos niskoj toksičnosti i nedostatku dokaza da kemijski sastojci konopljike prelaze u majčino mlijeko, takvi bi se preparati ipak trebali izbjegavati tijekom dojenja (Blumenthal, 2003; Roemheld-Hamm, 2005).

5. ZAKLJUČCI

U okviru ovog diplomskog rada je dan pregled kemijskih sastavnica, nekliničkih, kliničkih i toksikoloških istraživanja biljne vrste *Vitex agnus-castus* L. u liječenju raznih hormonalnih poremećaja u žena kao što su predmenstrualni sindrom, hiperprolaktinemija, insuficijencija žutog tijela, menstrualni poremećaji, mastalgija, akne, učinci na laktaciju te menopauza.

Najviše nekliničkih podataka je dobiveno korištenjem etanolnih ili metanolnih ekstrakata konopljikinih plodova, međutim, mehanizmi djelovanja još uvijek nisu razjašnjeni. U *in vitro* studijama su uočeni dopaminergički (dopamin agonistički) učinci i inhibitorni utjecaji na sekreciju prolaktina. Rezultati istraživanja vezanja na β ili α estrogenske receptore su još uvijek kontradiktorni. Neki podaci opisuju aktivnost sličnu β-endorfinu, a time i potencijalna analgetska svojstva konopljike.

U nedostatku dokaza ne preporučuje se primjena u trudnica i djece. Ograničeni podaci iz reproduktivnih studija ukazuju da ekstrakti plodova mogu utjecati na dojenje pa se ne preporučuje primjena u dojilja. Zabilježeno je i hepatotoksično djelovanje konopljike u nekim animalnim studijama. Osim alergijskih reakcija u humanoj primjeni, nisu uočene ozbiljnije nuspojave.

Što se tiče kliničkih ispitivanja, najviše ih je provedeno u svrhu istraživanja liječenja predmenstrualnog simptoma. Kako je predmenstrualni sindrom poznat po visokim stopama placebo odgovora, placebo kontrolirane studije bi se najviše trebale uzeti u obzir. Europska agencija za lijekove smatra da je studija autora Schellenberga iz 2001. godine zadovoljila sve zahtjeve i da može biti znanstvena osnova za indikaciju predmenstrualnog sindroma No, još uvijek ostaje otvoreno na koje sve simptome konopljika može djelovati. U nekoliko publikacija se navodi da bi žene s niskom razinom progesterona mogle imati najveću korist. Iako su rezultati za sva ostala navedena stanja pa tako i predmenstrualni sindrom ohrabrujući, svakako su potrebna daljnja klinička istraživanja o učinkovitosti i sigurnosti primjene konopljike.

6. LITERATURA

Ambrosini A, Di Lorenzo C, Coppola G, Pierelli F. Use of *Vitex agnus-castus* in migrainous women with premenstrual syndrome: an open-label clinical observation. *Acta Neurol Belg*, 2013, 113, 25-29.

ACHS. Vitex Download Monograph 2011, https://achs.edu/mediabank/files/achsvitexmonographdownload2011.pdf, pristupljeno 2. 3. 2018.

Ahmad B, Azam S, Bashir S, Khan I, Adhikari A, Choudhary MI. Anti-inflammatory and enzyme inhibitory activities of a crude extract and a pterocarpan isolated from the aerial parts of Vitex agnus-castus. *Biotechnol J*, 2010, 5, 1207-1215.

Aksoy AN, Gözükara I, Kabil Kucur S. Evaluation of the efficacy of Fructus agni casti in women with severe primary dysmenorrhea: a prospective comparative Doppler study. *J Obstet Gynaecol Re*, 2014, 40, 779-784.

Atmaca M1, Kumru S, Tezcan E. Fluoxetine versus Vitex agnus castus extract in the treatment of premenstrual dysphoric disorder. *Hum Psychopharmacol*, 2003,18,191-195.

Blumenthal M. The ABC Clinical Guide to Herbs. New York, NY: Thieme; 2003, str. 61-72.

Chen SN, Friesen JB, Webster D, Nikolic D, B. van Breemen R, Wang ZJ, Fong H.S, Farnsworth NR, Paulia GF. Phytoconstituents from *Vitex agnus-castus* fruits. *Fitoterapia*, 2011, 82, 528-533.

Christoffel V, Spengler B, Abel G, Jarry H, Wuttke W. Diterpenes from BNO 1095 (*Vitex agnus-castus*) inhibit prolactin secretion. *Focus Alternat Complement Ther*, 2005, 5, 87-88.

De Franciscis P, Grauso F, Luisi A, Schettino MT, Torella M, Colacurci N. Adding agnus castus and magnolia to soy isoflavones relieves sleep disturbances besides postmenopausal vasomotor symptoms-long term safety and effectiveness. *Nutrients*, 2017, doi: 10.3390/nu9020129.

Dugoua JJ, Seely D, Perri D, Koren G, Mills E. Safety and efficacy of chastetree (*Vitex agnus-castus*) during pregnancy and lactation. *Can J Clin Pharmacol*, 2008, 15, 74-79.

Fleming T. PDR for Herbal Medicines. Montvale, Medical Economics Company, 2000, str. 176.

Ganapaty S, Vidyadhar KN. Phytoconstituents and biological activities of Vitex – a review. *J Nat Remedies*, 2005, 5, 75-95.

Hajdu Z, Hohmann J, Forgo P, Martinek T, Dervarics M, Zupko I, Falkay G, Cossuta D, Mathe I. Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnus-castus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytother Res*, 2007, 21, 391-394.

He Z, Chen R, Zhou Y, Geng L, Zhang Z, Chen S, Yao Y, Lu J, Lin S. Treatment for premenstrual syndrome with *Vitex agnus-castus*: A prospective, randomized, multi-center placebo controlled study in China. *Maturitas*, 2009, 63, 99-103.

HMPC (Committee on herbal medicinal products). Assessment report on *Vitex agnus-castus* L., fructus. European Medicines Agency. London, 2010.

Hoberg E, Orjala J, Meier B, Sticher O. Diterpenoids from the fruits of *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry*, 1999, 52, 1555-1558.

Ibrahim NA, Shalaby AS, Farag RS, Elbaroty GS, Nofal SM, Hassan EM. Gynecological efficacy and chemical investigation of *Vitex agnus-castu*s L. fruits growing in Egypt. *Nat Prod Res*, 2008, 22, 537-546

Jarry H, Spengler B, Wuttke W, Christoffel V. *In-vitro* assay for bioactivity-guided isolation of endocrine active compounds in *Vitex agnus-castus*. *Maturitas*, 2006, 55, 26-36.

Kilicdag EB, Tarim E, Bagis T, Erkanli S, Aslan E, Ozsahin K, Kuscu E. Fructus agni casti and bromocriptine for treatment of hyperprolactinemia and mastalgia. *Int J Gynecol Obstet*, 2004, 85, 292-293.

Kuruüzüm-Uz A, Ströch K, Demirezer LO, Zeeck A. Glucosides from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry*, 2003, 63, 959-964.

Kuštrak D. Farmakognozija - Fitofarmacija. Zagreb, Golden marketing – Tehnička knjiga, 2005, str. 522-529.

Lauritzen C, Reuter HD, Repges R, Böhnert KJ, Schmidt U. Treatment of premenstrual tension syndrome with *Vitex agnus castus*. Controlled, double-blind study versus pyridoxine. *Phytomedicine*, 1997, 4, 183-189.

Liu J, Burdette JE, Sun Y, Deng S, Schlecht SM, Zheng W, Nikolic D, Mahady G, van Breemen RB, Fong HHS, Pezzuto JM, Bolton JL, Farnsworth NR. Isolation of linoleic acid as

an estrogenic compound from the fruits of *Vitex agnus-castus* L. (chaste-berry). *Phytomedicine*, 2004, 11, 18-23.

Liu J, Burdette JE, Xu H, Gu C, van Breemen RB, Bhat KPL, Booth N, Constantinou AI, Pezzuto JM, Fong HHS, Farnsworth NR, Bolton JL. Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *J Agric Food Chem*, 2001, 49, 2472-2479.

Loch EG, Selle H, Boblitz N. Treatment of premenstrual syndrome with a phytopharmaceutical formulation containing *Vitex agnus castus*. *J Women's Health Gender-Based Med*, 2000, 9, 315-320.

Ma L, Lin S, Chen R, Wang X. Treatment of moderate to severe premenstrual syndrome with *Vitex agnus castus* (BNO 1095) in Chinese women. *Gynecol Endocrinol*, 2010, 26, 612-616.

Meier B, Berger D, Hoberg, E, Sticher O, Schaffner W. Pharmacological activities of *Vitex agnus-castus* extracts *in vitro*. *Phytomedicine*, 2000, 7, 373-381.

Męczekalski B, Czyżyk A. Vitex Agnus Castus in the treatment of hyperprolactinemia and menstrual disorders - a case report. *Pol Merkur Lekarski*, 2015, 3, 43-46.

Mesaik MA, Azizuddin, Murad S, Khan KM, Tareen RB, Ahmed A, Atta-ur-Rahman, Choudhary MI. Isolation and immunomodulatory properties of a flavonoid, casticin from *Vitex agnus-castus*. *Phytother Res*, 2009, 23, 1516-1520.

Molaie M, Darvishi B, Jafari Azar Z, Shirazi M, Amin G, Afshar S. Effects of a combination of *Nigella sativa* and *Vitex agnus-castus* with citalopram on healthy menopausal women with hot flashes: results from a subpopulation analysis. *Gynecol Endocrinol*, 2018, 21, 1-4, doi: 10.1080/09513590.2018.1499086.

Momoeda M, Sasaki H, Tagashira E, Ogishima M, Takano Y, Ochiai K. Efficacy and safety of *Vitex agnus-castus* extract for treatment of premenstrual syndrome in Japanese patients: a prospective, open-label study. *Adv Ther*, 2014, 31, 362-373.

Nasri S, Oryan S, Rohani AH, Amin GR. The effects of *Vitex agnus castus* extract and its interaction with dopaminergic system on LH and testosterone in male mice. *Pakistan J Biolog Sci*, 2007, 10, 2300-2307.

Oerter Klein K, Janfaza M, Wong JA, Chang RJ. Estrogen bioactivity in Fo-Ti and other herbs used for their estrogen-like effects as determined by a recombinant cell bioassay. *J Clini Endocrinol Metab,* 2003, 8, 407-4079.

Ohyama K, Akaike T, Hirobe C, Yamakawa T. Cytotoxicity and apoptotic inducibility of Vitex agnus-castus fruit extract in cultured human normal and cancer cells and effect on growth. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26, 10-18.

Ohyama K, Akaike T, Imai M, Toyoda H, Hirobe C, Bessho T. Human gastric signet ring carcinoma (KATO-III) cell apoptosis induced by *Vitex agnus-castus* fruit extract through intracellular oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37, 1496-1510.

Ono M, Eguchi K, Konoshita M, et al. A new diterpenoid glucoside and two new diterpenoids from the fruit of *Vitex agnus-castus*. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59, 392-396.

Rani A., Sharma A. The genus *Vitex*: A review. *Pharmacogn Rev*, 2013, 7, 188-198.

Roemheld-Hamm B. Chasteberry. *Am Fam Physician*, 2005, 72, 821-824.

Schellenberg R. Treatment for the premenstrual syndrome with agnus castus fruit extract: prospective, randomised, placebo controlled study. *BMJ*, 2001, 322, 134-137.

Schellenberg R, Zimmermann C, Drewe J, Hoexter G, Zahner C. Dose-dependent efficacy of the Vitex agnus castus extract Ze 440 in patients suffering from premenstrual syndrome. *Phytomedicine*, 2012, 19, 1325-1331.

Schmid D, Liechti C, Zülli F. Stimulation of melanin synthesis for tanning and protection. *SOFW-J*, 2006, 132, 38-42.

Sliutz G, Speider P, Schultz AM, Spona J, Zeillinger R. Agnus castus extracts inhibit prolactin secretion of rat pituitary cells. *Horm Metab Res*, 1993, 25, 253-255.

Toplak Galle K, Domaće ljekovito bilje. Zagreb, Mozaik knjiga, 2009, str. 254-255.

Weisskopf M, Schaffner W, Jundt G, Sulser T, Wyler S, Tullberg-Reinert H. A *Vitex agnus-castus* extract inhibits cell growth and induces apoptosis in prostate epithelial cell lines. *Planta Med*, 2005, 71, 910-916.

WHO (World Health Organization). WHO monographs on selected medicinal plants, Volume 4, Fructus Agni Casti. World Health Organization, Geneva, 2009, str. 9-29.

Wuttke W, Jarry H, Christoffel V, Spengler B, Seidlova-Wuttke D. Chaste tree (*Vitex agnus-castus*) Pharmacology and clinical indications. *Phytomedicine*, 2003, 10, 348-357.

Zamani M, Neghab N, Torabian S. Therapeutic effect of *Vitex agnus-castus* in patients with premenstrual syndrome. *Acta Med Iran,* 2012, 50, 101-106.

7. SAŽETAK/ SUMMARY

Biljna vrsta *Vitex agnus-castus* L. se tradicionalno koristi u liječenju u mnogih ženskih tegoba među kojima su predmenstrualni sindrom, mastalgija, menstrualni poremećaji i hiperprolaktinemija. Zbog široke primjene i velikog broja žena koje pate od takvih tegoba, provedena su mnoga znanstvena istraživanja. Konopljika ne sadrži hormone, a njeno djelovanje se temelji na smanjenju lučenja prolaktina putem dopaminergičkih neurona i uspostavljanju ravnoteže između progesterona i estrogena u menstrualnom ciklusu. Klinička istraživanja pokazuju da konopljika može pozitivno djelovati na simptome predmenstrualnog sindroma.

Vitex agnus - castus L. is traditionally used in the treatment of many female disorders including premenstrual syndrome, mastalgia, menstrual disorders and hyperprolactinemia. Due to the wide application and high percentage of women suffering from such ailments, many scientific researches have been conducted. Chaste tree does not contain hormones, and its action is based on the reduction of prolactin secretion by dopaminergic neurons and establishing the balance between progesterone and estrogen in the menstrual cycle. Clinical studies suggest that chaste tree can positively affect the symptoms of premenstrual syndrome.

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

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

Diplomski rad

KONOPLJIKA I ŽENSKO ZDRAVLJE

Lorena Deanković

SAŽETAK

Biljna vrsta *Vitex agnus-castus* L. se tradicionalno koristi u liječenju u mnogih ženskih tegoba među kojima su predmenstrualni sindrom, mastalgija, menstrualni poremećaji i hiperprolaktinemija. Zbog široke primjene i velikog broja žena koje pate od takvih tegoba, provedena su mnoga znanstvena istraživanja. Konopljika ne sadrži hormone, a njeno djelovanje se temelji na smanjenju lučenja prolaktina putem dopaminergičkih neurona i uspostavljanju ravnoteže između progesterona i estrogena u menstrualnom ciklusu. Klinička istraživanja pokazuju da konopljika može pozitivno djelovati na simptome predmenstrualnog sindroma.

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

Rad sadrži: 33 stranice, 3 slike i 48 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *Vitex agnus-castus*, konopljika, žensko zdravlje, predmenstrualni sindrom

Mentor: **Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Marija KIndl, *poslijedoktorand Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Lidija Bach Rojecky, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

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

Diploma thesis

CHASTE TREE AND WOMEN'S HEALTH

Lorena Deanković

SUMMARY

Vitex agnus - castus L. is traditionally used in the treatment of many female disorders including premenstrual syndrome, mastalgia, menstrual disorders and hyperprolactinemia. Due to the wide application and high percentage of women suffering from such ailments, many scientific researches have been conducted. Chaste tree does not contain hormones, and its action is based on the reduction of prolactin secretion by dopaminergic neurons and establishing the balance between progesterone and estrogen in the menstrual cycle. Clinical studies suggest that chaste tree can positively affect the symptoms of premenstrual syndrome

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

Thesis includes: 33 pages, 3 figures and 48 references. Original is in Croatian language.

Keywords: *Vitex agnus-castus,* chaste tree, women's health, premenstrual syndrome

Mentor: **Sanda Vladimir-Knežević**, **Ph.D.** */ Full Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Sanda Vladimir-Knežević**, **Ph.D.** */Full Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Marija Kindl, **Ph.D.** */ Assistant,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Lidija Bach Rojecky, **Ph.D.** */Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2018.