

Controllo qualità di droghe e prodotti erboristici

2CFU

Obiettivi formativi: Conoscitivi: conoscere i metodi generali applicabili al controllo di qualità di una droga o di un prodotto erboristico.

Operativi: Capacità di eseguire un controllo di qualità secondo monografia di farmacopea.

Prerequisiti: Conoscenze di base di biologia vegetale e farmacognosia

Contenuti: Metodi generali di farmacognosia (secondo Farmacopea) e loro applicazione al controllo di qualità di una droga vegetale o di un prodotto erboristico.

Riferimenti bibliografici/Testi: Capasso R., Borrelli F., Longo R., Capasso F. - Farmacognosia applicata. Controllo di qualità delle droghe vegetali. Springer, 2007.
Parzialmente consultabile in internet

European Pharmacopoeia VII Ed./ Farmacopea italiana XII ed.

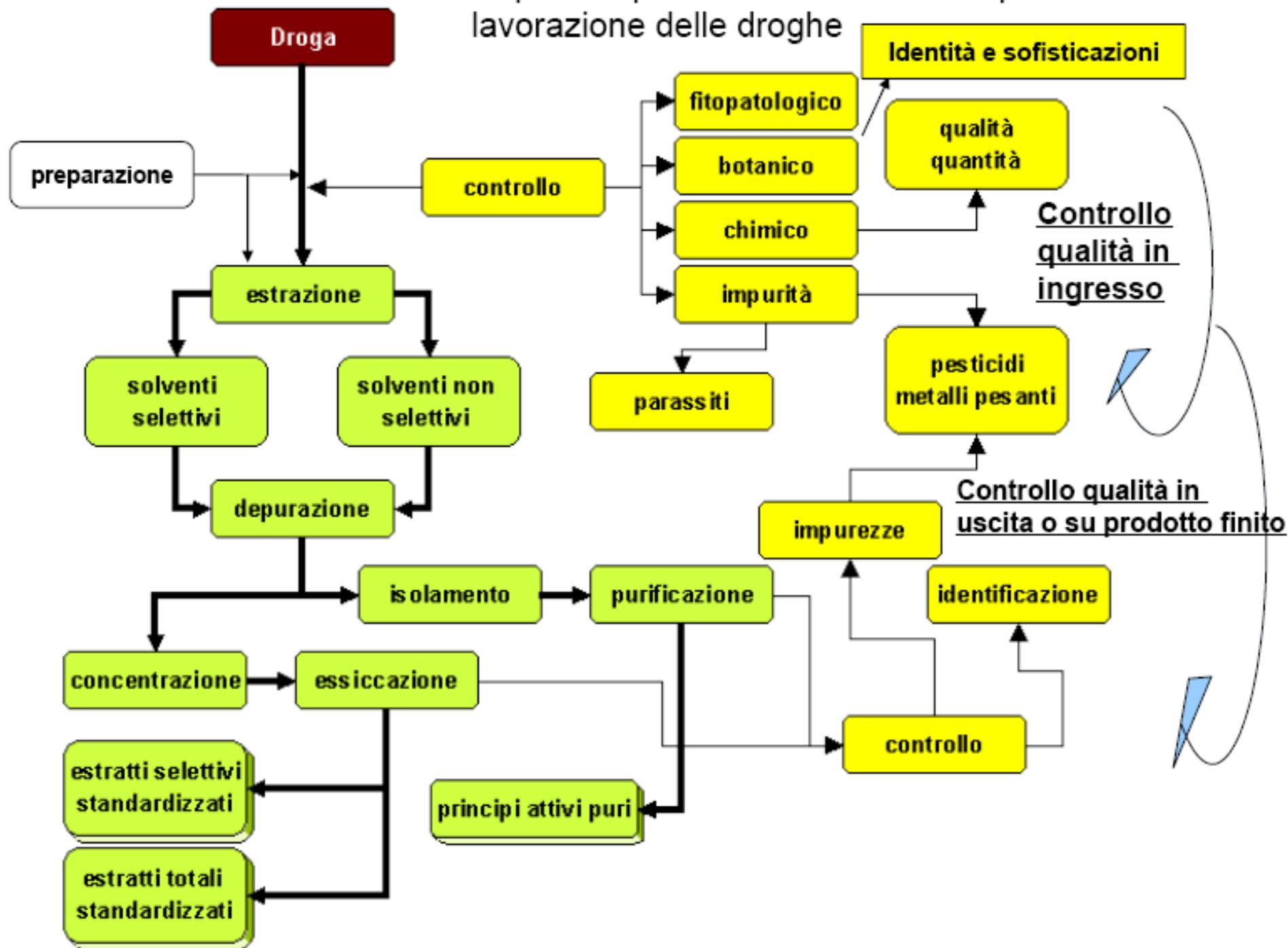
Modalità Didattica:

Il metodo didattico è fondato sulla lezione frontale e sull'illustrazione di esempi di controllo di qualità. Visita ad un laboratorio e alle principali strumentazioni analitiche necessarie per effettuare il controllo qualità.

Tipo di Esame: esame orale. Tesina sul controllo qualità di un prodotto erboristico o di una monografia di farmacopea scelta dallo studente. Spedire via mail: grrlsn@unife.it

17 giugno; 8 luglio; 9 settembre 2013

Schema di flusso del controllo qualità operato da una ditta di importazione e lavorazione delle droghe



Saggi per il controllo qualità in FARMACOPEA

organolettico	→	Colore, odore, sapore
macroscopico	↗ →	Droga organizzata o non organizzata Tipo di organo vegetale, rilievo di alcuni caratteri morfologici
microscopico	→	Elementi caratteristici: inclusi vacuolari, peli, stomi, sclereidi, trachee...
fisico	→	Metodi basati sulla modifica parametro fisico (temperatura, luce UV)
chimico	→	Identificazione di principi attivi o marker: colorimetrico su un estratto (spettrofotometria), cromatografico (TLC, HPLC, GC) Inquinanti tossici: pesticidi, metalli pesanti, micotossine
microbiologico	→	Carica batterica

-Guideline on quality of herbal medicinal products¹/traditional herbal medicinal products (31 March 2011)

- GUIDELINE ON QUALITY OF COMBINATION HERBAL MEDICINAL PRODUCTS¹ / TRADITIONAL HERBAL MEDICINAL PRODUCTS

(London, 23 June 2008 Doc. Ref. EMEA/HMPC/CHMP/CVMP/214869/2006)

<http://www.emea.europa.eu/ema/>

¹ Throughout the guideline and unless otherwise specified, the term “herbal medicinal product” includes “traditional herbal medicinal product”.

- monograph for the herbal substance in a Pharmacopoeia

- As a general rule, herbal substances must be tested, unless otherwise justified, for microbiological quality, for mycotoxins (aflatoxins, ochratoxin A), and for residues of pesticides and fumigation agents, toxic metals, likely contaminants and adulterants, etc. The use of ethylene oxide is prohibited for the decontamination of herbal substances. Radioactive contamination should be tested for if there are reasons for concerns.

Markers: are chemically defined constituents or groups of constituents of an herbal substance, an herbal preparation or an herbal medicinal product which are of interest for control purposes independent of whether they have any therapeutic activity. Markers serve to calculate the quantity of herbal substance(s) or herbal preparation(s) in the Herbal Medicinal product if that marker has been quantitatively determined in the herbal substance(s) or herbal preparation(s) themselves.

Two categories of markers:

Active marker: are constituents or groups of constituents which are generally accepted to contribute to the therapeutic activity.

Analytical marker: are constituents or groups of constituents that serve for analytical purposes.

Saggi organolettici

Schema 1

Esame organolettico: droghe in polvere suddivise in base al colore

• Arancione, rossastro	Capsico, china, rabarbaro, ratania, ecc.
• Biancastro	Agar, belladonna (radice), calamo, ipecacuana, scilla, ecc.
• Bianco-giallastro	Altea, benzoino, cera carnauba, manna, ecc.
• Blu-verdastro	Fuco, ecc.
• Bruno	Aloe (Barbados), anice stellato, arpagofito, ginepro, oppio, poligala (chiaro), rauwolfia, senna (frutto), segale cornuta, valeriana
• Bruno-giallastro	Camomilla, cascara, frangola, ipecacuana, lino (seme), ecc.
• Bruno-scuro	Cimicifuga, garofano (chiodi), psillio, serenoa, ecc.
• Bruno-grigiastro	Cascara, finocchio, fuco, ecc.
• Bruno-verdastro	Aloe (capo), anice, ecc.
• Giallastro	Genziana, ginkgo, ginseng, kava, liquirizia, zenzero, ecc.
• Giallo	Cannella, idraste, ecc.
• Giallo-arancione	Arancia amara, arnica, rabarbaro
• Giallo-bruno	Cardo mariano, echinacea, genziana, oppio, passiflora
• Giallo-marrone, rosso-marrone	Cannella, china, gialappa, ecc.
• Giallo-grigiastro, giallo-verdastro	Anice stellato, assenzio, belladonna (radice), camomilla, colombo, condurango, finocchio, idraste, iperico, ippocastano, liquirizia, quassio, scilla, senna (foglie), strofanto
• Giallo-rossastro	Noce vomica, rauwolfia
• Grigio-giallastro	Belladonna (radice), ipecacuana, kava (chiaro), noce di galla, noce vomica
• Marrone	The
• Nero	Anice stellato, china, pino, ratania, serenoa
• Rosso-bruno	Malva, the, uva ursina
• Verde	Amamelide, belladonna (foglie), biancospino, efedra, timo
• Verde-bruno	Adonide, assenzio, belladonna (foglie), boldo, canapa, cascara, dentella, coca, digitale, eucalipto, giusquiamo, lobelia, melissa, menta, passiflora, rosmarino, salvia, senna (foglie), timo, ecc.
• Verde, grigio-verdastro	

Saggi organolettici

Schema 2

Esame organolettico: droghe in polvere suddivise in base all'odore

<ul style="list-style-type: none">• Acre ed aromatico• Agliaceo• Aromatico	Assenzio Aglio, assafetida Anice stellato, arnica, calamo, camomilla, china (debole), cannella (forte), chiodi di garofano, coca (debole), digitale (debole), eucalipto, ginepro (forte) idraste, kava (debole), mirra, passiflora, poligala (debole), salvia (forte), the, tiglio (debole), timo (forte), zafferano, zenzero
<ul style="list-style-type: none">• Debole e caratteristico	Altea, arpagofito, biancospino, calendula, capsico, cascara, china, digitale, echinacea, ginseng, ipecacuana, lino (semi), liquorizia, malva (foglie), manna
<ul style="list-style-type: none">• Debole di the nero• Gradevole• Gradevole di anetolo• Inodore	Senna (frutto e foglie, se bagnate), uva ursina Boldo Anice stellato, finocchio
<ul style="list-style-type: none">• Intenso e caratteristico• Lieve e dolciastro• Particolare, caratteristico	Aconito, adonide, amamelide, cardo mariano, centella, colchico, colombo, digitale, efedra, frangola, galla, ginkgo, iperico, ippocastano, lauroceraso, lino (seme), lobelia, malva (fiori), melissa, noce vomica, psillio, quassia, ratania, rauwolfia, scilla, senna (frutto e foglie), stramonio, strofanto Benzoino, rabarbaro
<ul style="list-style-type: none">• Penetrante e caratteristico• Sgradevole o irritante	Poligala Arancia amara, coca, genziana, ginepro, idraste, melissa, oppio, poligala, segale cornuta, strofanto
<ul style="list-style-type: none">• Viroso	Aloe, camomilla romana, menta, valeriana Cimicifuga, fuco, giusquiamo, ipecacuana, lobelia (irritante), serenoa (sgradevole) Belladonna (debole), canapa, giusquiamo, stramonio, strofanto (debolmente)

Saggi organolettici

Schema 2

Esame organolettico: droghe in polvere suddivise in base all'odore

<ul style="list-style-type: none">• Acre ed aromatico• Agliaceo• Aromatico	Assenzio Aglio, assafetida Anice stellato, arnica, calamo, camomilla, china (debole), cannella (forte), chiodi di garofano, coca (debole), digitale (debole), eucalipto, ginepro (forte) idraste, kava (debole), mirra, passiflora, poligala (debole), salvia (forte), the, tiglio (debole), timo (forte), zafferano, zenzero
<ul style="list-style-type: none">• Debole e caratteristico	Altea, arpagofito, biancospino, calendula, capsico, cascara, china, digitale, echinacea, ginseng, ipecacuana, lino (semi), liquorizia, malva (foglie), manna
<ul style="list-style-type: none">• Debole di the nero• Gradevole• Gradevole di anetolo• Inodore	Senna (frutto e foglie, se bagnate), uva ursina Boldo Anice stellato, finocchio
<ul style="list-style-type: none">• Intenso e caratteristico• Lieve e dolciastro• Particolare, caratteristico	Aconito, adonide, amamelide, cardo mariano, centella, colchico, colombo, digitale, efedra, frangola, galla, ginkgo, iperico, ippocastano, lauroceraso, lino (seme), lobelia, malva (fiori), melissa, noce vomica, psillio, quassia, ratania, rauwolfia, scilla, senna (frutto e foglie), stramonio, strofanto Benzoino, rabarbaro
<ul style="list-style-type: none">• Penetrante e caratteristico• Sgradevole o irritante	Poligala Arancia amara, coca, genziana, ginepro, idraste, melissa, oppio, poligala, segale cornuta, strofanto
<ul style="list-style-type: none">• Viroso	Aloe, camomilla romana, menta, valeriana Cimicifuga, fuco, giusquiamo, ipecacuana, lobelia (irritante), serenoa (sgradevole) Belladonna (debole), canapa, giusquiamo, stramonio, strofanto (debolmente)

Saggi organolettici

Schema 3

Esame organolettico: droghe in polvere suddivise in base al sapore

- Acre
 - Amaro
 - Amaro-acre
 - Amaro-aromatico
 - Amaro-astringente
 - Amaro-sgradevole
 - Aromatico
 - Aromatico bruciante
 - Aromatico piccante
 - Astringente
 - Dolce
 - Dolciastro
 - Dolciastro aromatico
 - Dolciastro mucillagginoso
 - Dolciastro piccante
 - Insapore
 - Mucillagginoso
 - Piccante
 - Piccante e bruciante
 - Pungente
- Aconito, adonide, belladonna, gialappa, lobelia, oppio, poligala, segale cornuta, senna, valeriana
 Adonide (c), aloe (a), amamelide (a volte) assenzio (a), boldo (b), belladonna (c), camomilla comune (c), cardo mariano (c), cascara (c), centella (c), china (b), coca (b), colombo (b), digitale (c), efedra (c), eucalipto (c), finocchio amaro (b), frangola (b), ginkgo (c), giusquiamo (b), genziana (a), idraste (b), ipecacuana (b), iperico (c), kava (b), noce vomica (a), mirra (a), oppio (b), pino (a volte dolciastro e balsamico), quassia (a), rabarbaro (b), ratania (c), rauwolfia (a), stramonio (b), strofanto (b), uva ursina (c), valeriana (c)
 Arnica, belladonna, cimicifuga, digitale, giusquiamo, scilla
 Amamelide, arancia amara, camomilla romana, lavanda, melissa, scilla, salvia, zafferano
 Amamelide, biancospino, rabarbaro, ratania, uva ursina
 Aloe, cascara (persistente)
 Passiflora, melissa (gradevole), menta (caratteristico), the
 Garofano (chiodi), serenoa (prima dolciastro)
 Boldo
 Amamelide, arpagofito (amaro), cannella, frangola, ratania, senna, uva ursina
 Echinacea (pungente), liquirizia (molto), manna (poi acre)
 Belladonna (poi acre), benzoino (poi acre), finocchio dolce (penetrante), genziana (poi amaro), ginepro, ippocastano (poi amaro), malva, senna, serenoa (dopo bruciante), valeriana (poi acre, amarognolo)
 Anice, cannella, valeriana
 Altea, ginseng, liquirizia, tiglio
 Cannella
 Belladonna radice (poi acre irritante)
 Agar, frangola, fuco (salato), lino, malva, psillio, scilla, senna (poi amara e sgradevole)
 Ginseng (leggermente all'inizio e poi dolciastro), kava (lievemente)
 Capsico
 Boldo, capsico, chiodi di garofano, timo, zenzero

(a) fortemente amaro; (b) amaro; (c) leggermente amaro

Caratteri macroscopici e microscopici morfologici anatomici

Inclusi cellulari

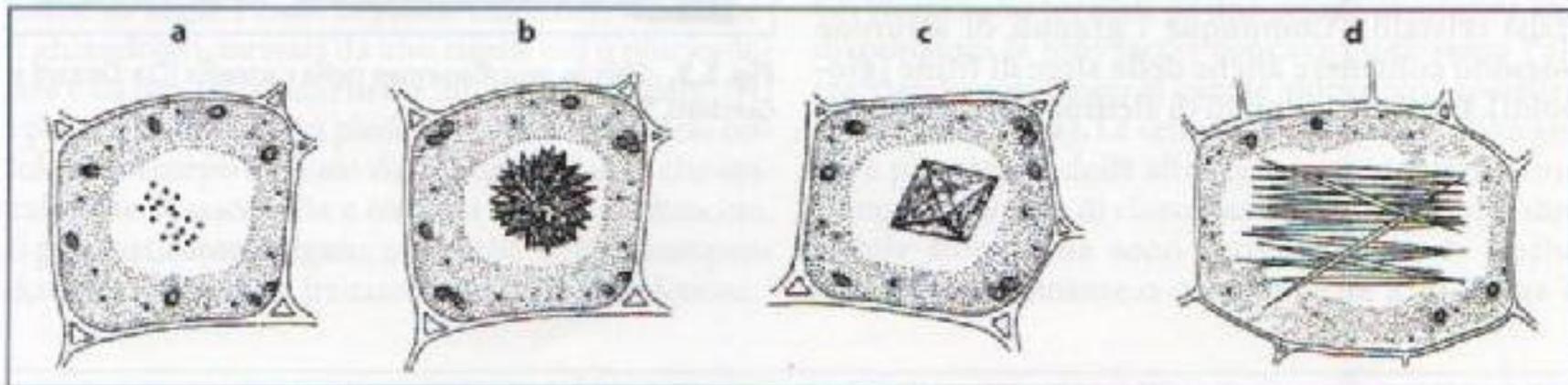


Fig. 3.1. Cristalli di ossalato di calcio all'esame microscopico. a sabbia cristallina; b cristalli prismatici; c druse; d rafidi

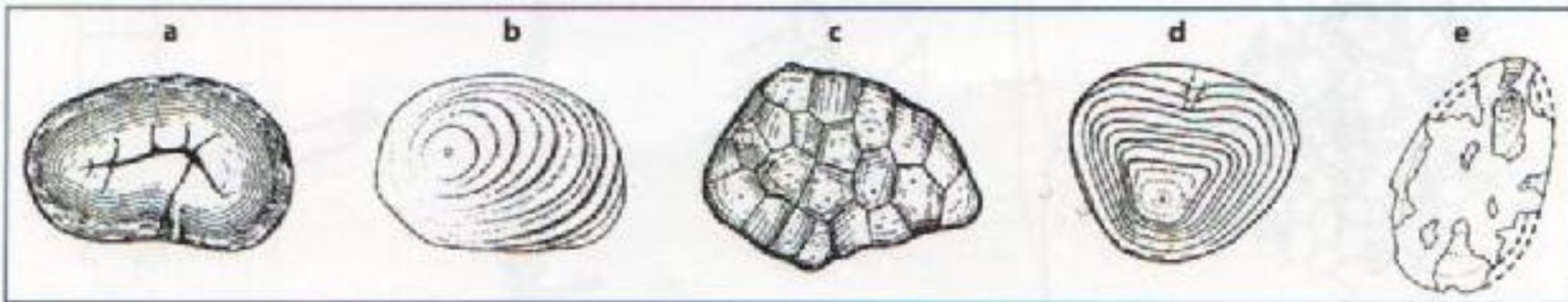


Fig. 3.2. Granuli di amido di varia provenienza all'esame microscopico. a fagiolo; b patata; c riso; d patata dolce; e granulo di amido intero (tratteggiato) e parzialmente eroso dall'amilasi

Caratteri macroscopici e microscopici morfologici anatomici

Peli

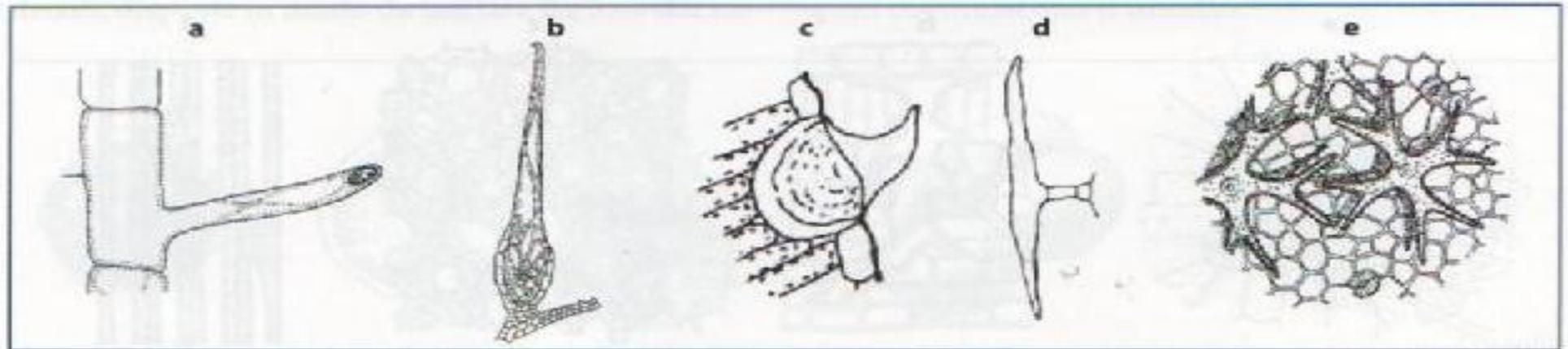


Fig. 4.1. Tipi di peli, alcuni esempi: **a** pelo radicale; **b** pelo urticante; **c** pelo papillare; **d** pelo di rivestimento a T; **e** pelo stellato

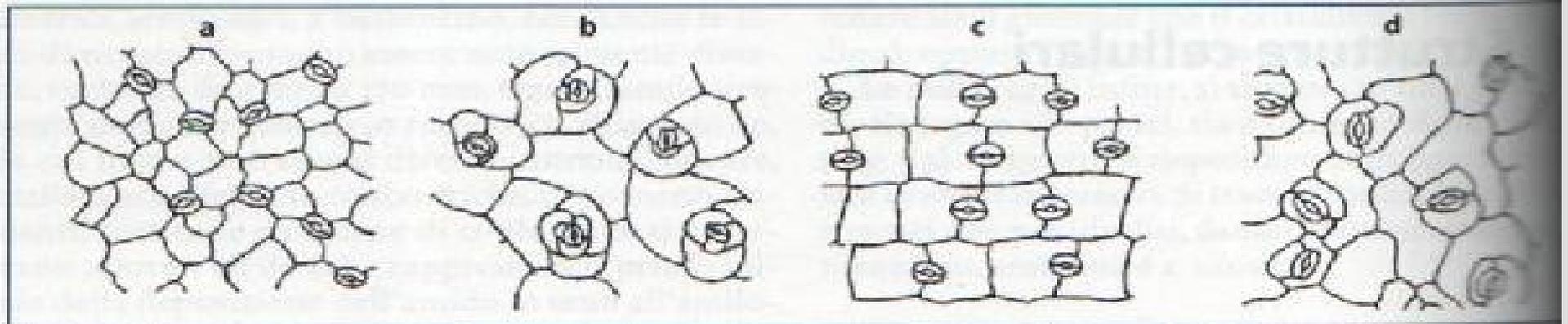


Fig. 4.2. Tipi di stomi: **a** anomocitico; **b** anisocitico; **c** diacitico; **d** paracitico

$$\text{Indice stomatico} = \frac{100 S}{E + S}$$

Caratteri macroscopici e microscopici morfologici anatomici

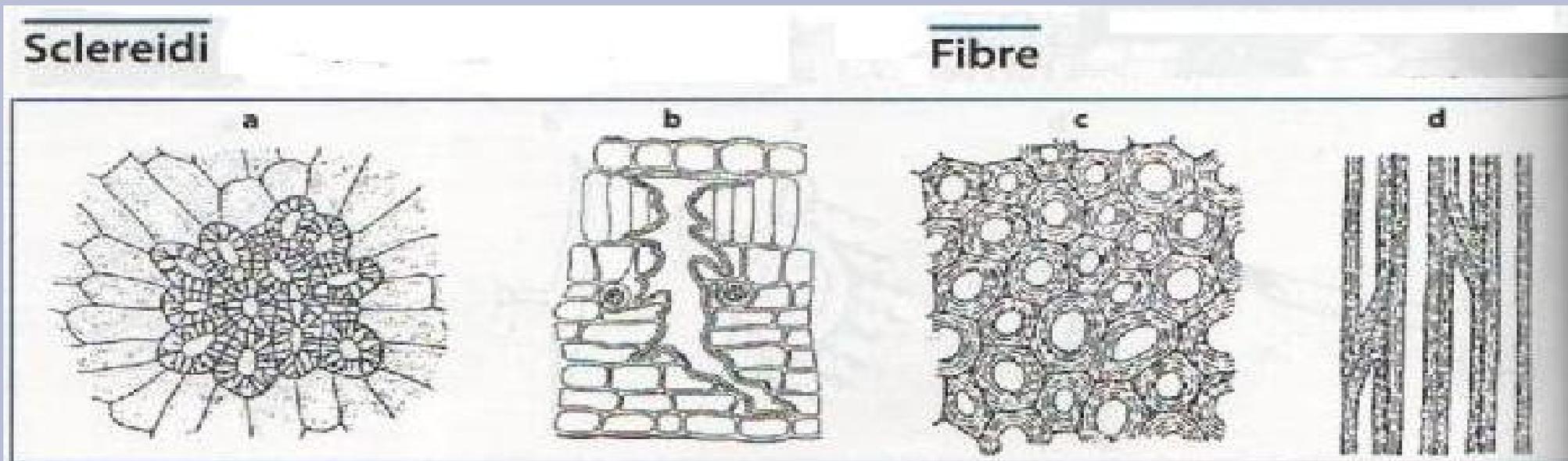


Fig. 4.3. Esempi di sclereidi (a e b) e di fibra vista in sezione trasversale (c) e longitudinale (d)

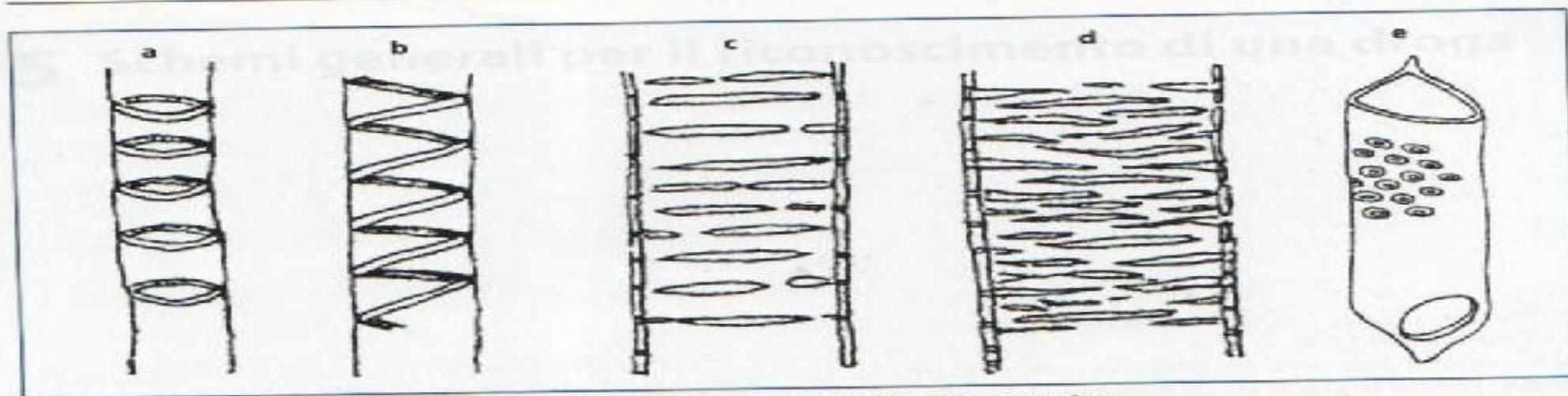


Fig. 4.4. Tipi di vasi: a anulare; b spiralato; c scalariforme; d reticolato; e punteggiato

Caratteri macroscopici e microscopici morfologici anatomici

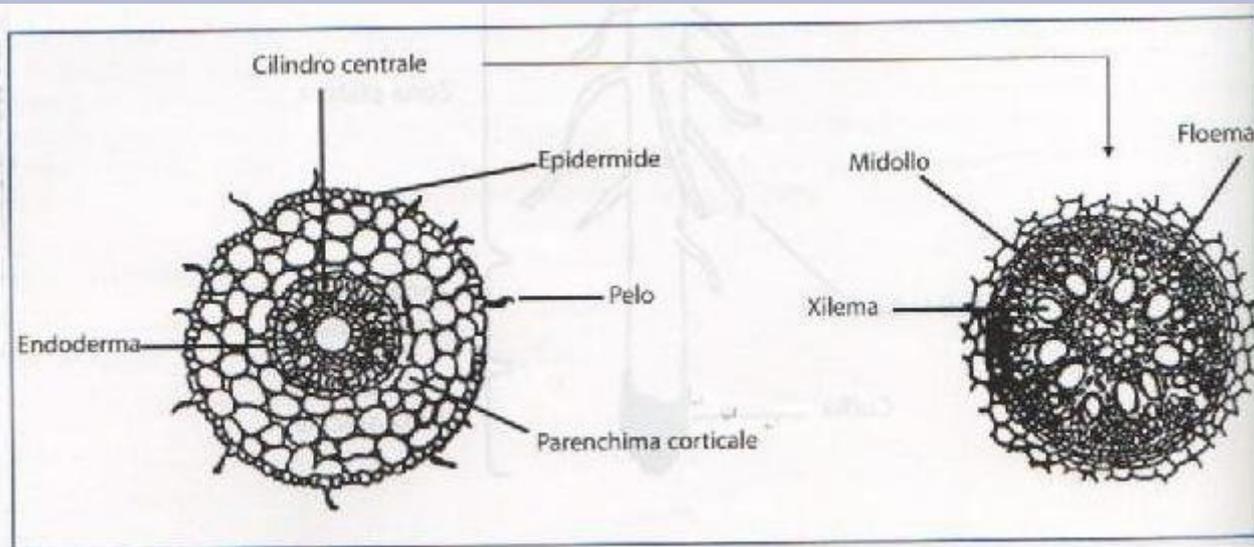


Fig. 11.3. Radice: struttura primaria delle mono e dicotiledoni

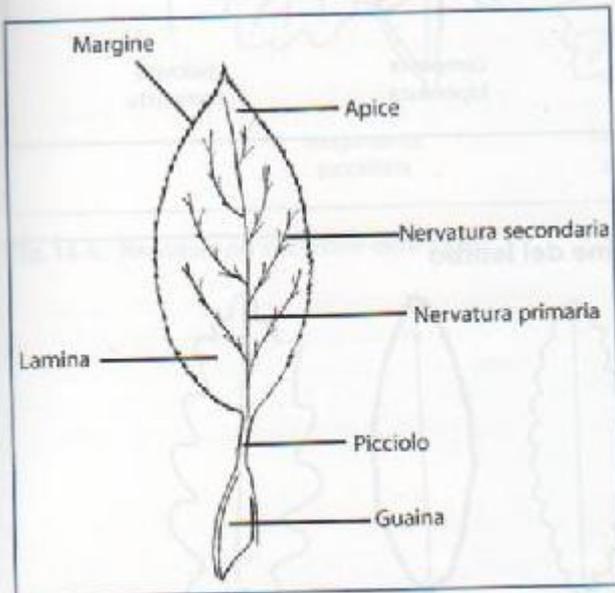


Fig. 14.1. Elementi della foglia

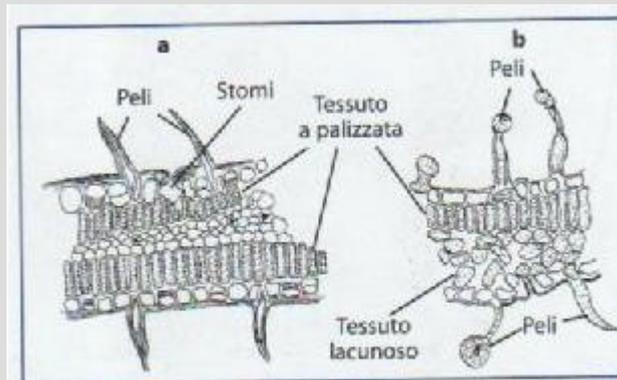


Fig. 14.5. Foglia con mesofillo simmetrico a ed asimmetrico b

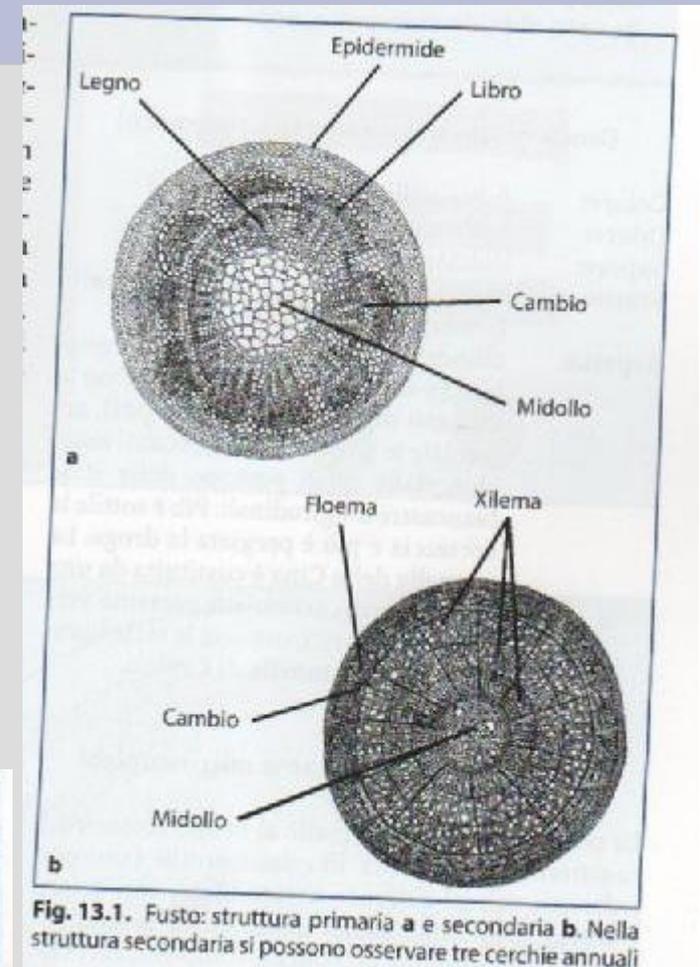


Fig. 13.1. Fusto: struttura primaria a e secondaria b. Nella struttura secondaria si possono osservare tre cerchi annuali

Saggi chimici

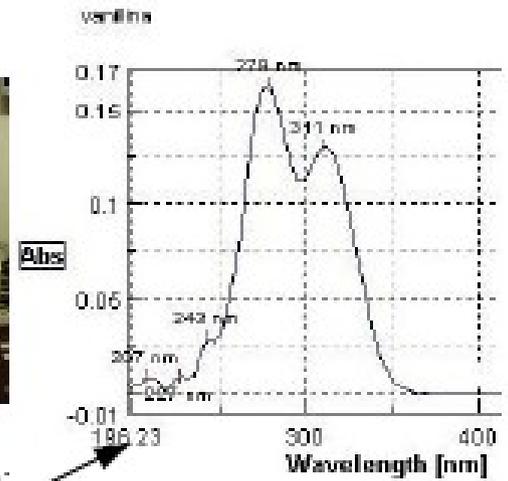
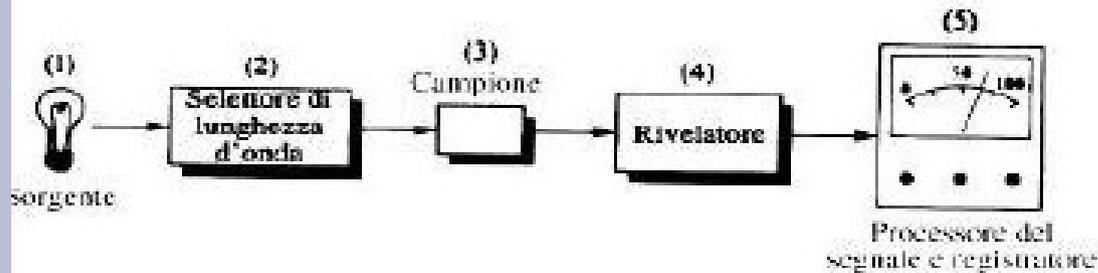
Saggio chimico: semplice (reattivo chimico). Qualitativo. Identificazione

Saggi chimici (specifici o generici)

Al residuo di un estratto cloroformico di 10 g di droga, oppure a 0,1 ml di essenza di *M. piperita*, si aggiunge 1 ml di una soluzione cloroformica al 4% di acido tricloroacetico e si lascia la miscela per 40 minuti a riposo, a temperatura ambiente. In presenza di mentofurano, si osserva una colorazione rosso-blu che, alla luce di Wood, mostra una fluorescenza rosa.

Saggi chimici

Saggi chimici strumentali semplici basati sulla spettrofotometria



Ogni sostanza assorbe o emette radiazioni di lunghezza d'onda ben determinata:

- l'analisi dello **spettro di emissione o assorbimento** permette allora di individuare la natura della sostanza in esame;
- la **misura dell'intensità delle radiazioni emesse o assorbite** permette di risalire alla **quantità** di sostanza analizzata.

Assorbimento di radiazione comporta l'eccitazione degli elettroni di valenza

Irraggiando il campione in esame con una radiazione, a lunghezza d'onda conosciuta, di intensità fittizia (I); rilevando poi l'intensità della radiazione emergente ($I-x$) si definisce trasmittanza :

$$T = (I-x) / I$$

Ogni singola sostanza assorbe ad una lunghezza d'onda specifica: la legge di Lambert-Beer è applicabile soltanto nel caso di radiazioni monocromatiche.

$$A = a \cdot b \cdot C \quad A = \text{assorbanza (log} 1/T)$$

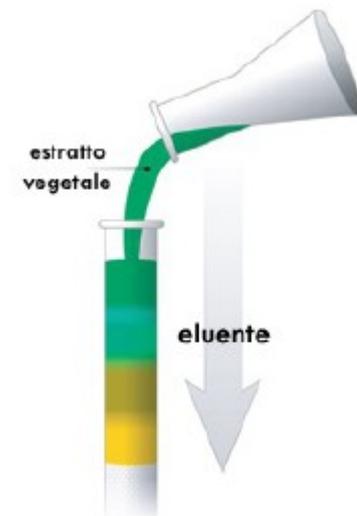
a = coefficiente di estinzione (molare se la concentrazione viene espressa in mol/l)

b = spessore della cella

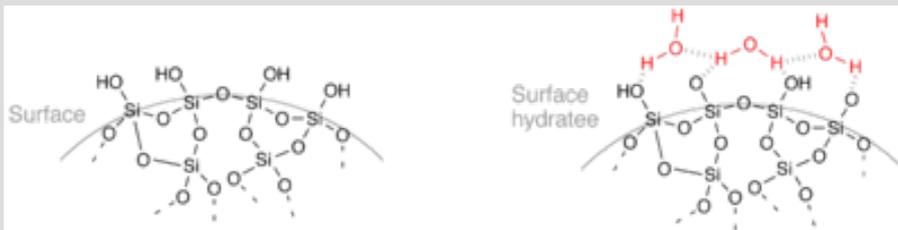
C = concentrazione della specie in esame

Saggi chimici

Metodi cromatografici (di separazione di classi di composti). Fase mobile (liquida o gassosa) e fase stazionaria (solida o liquida). Cromatografia su colonna, su lastra, scambio ionico e gas-liquido cromatografia (GC).



Fase stazionaria solida

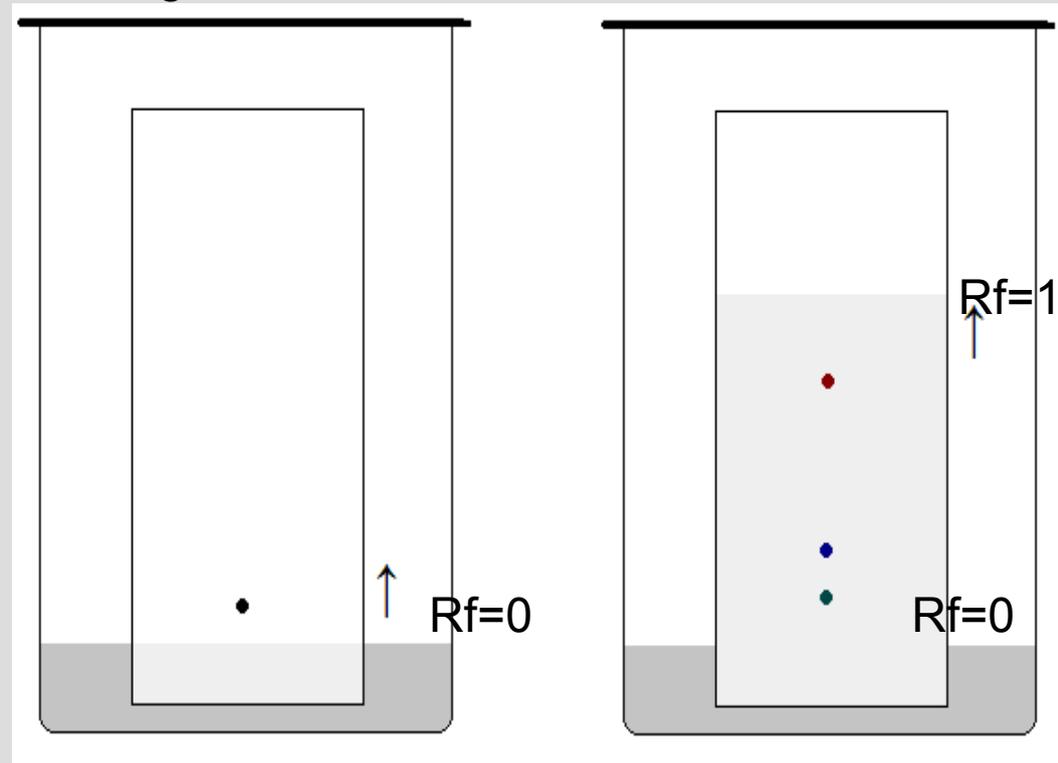
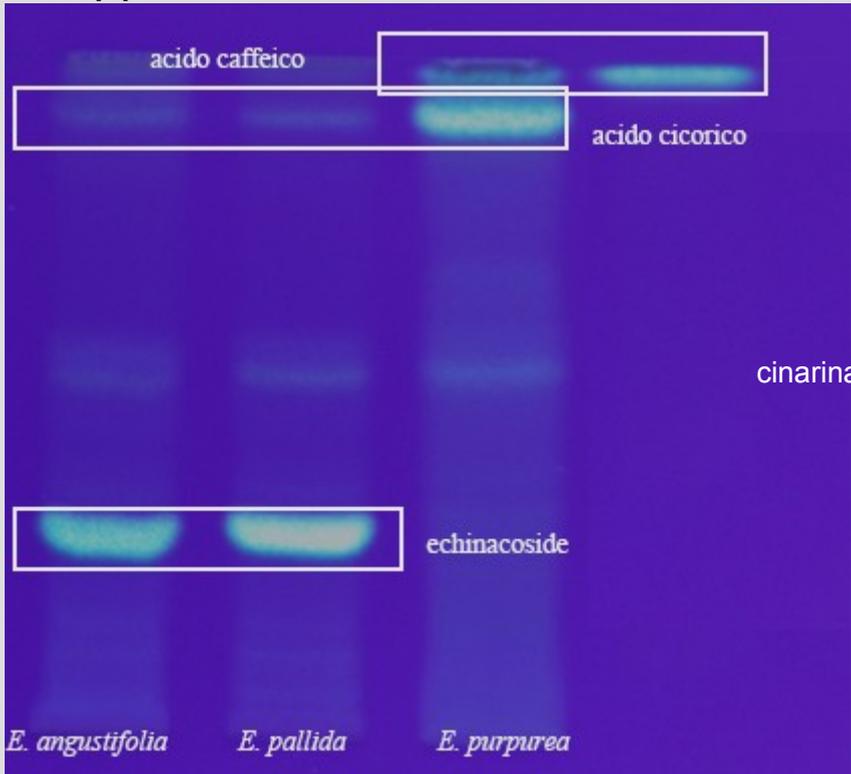


Saggi chimici

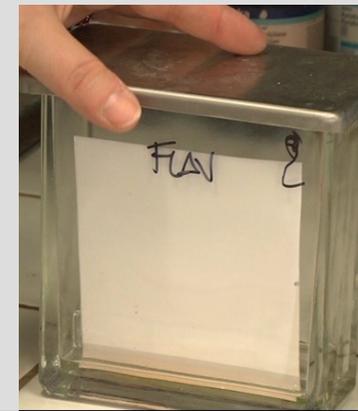
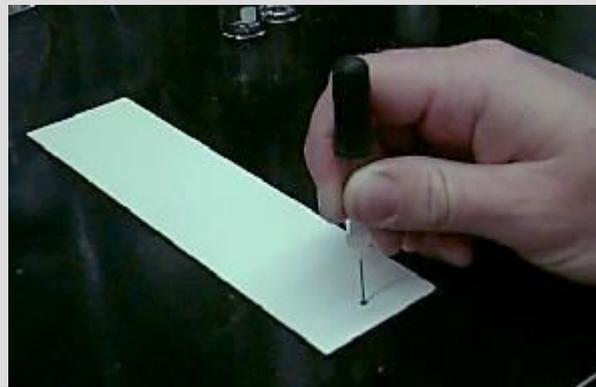
TLC o HPTLC

Supporto di vetro o alluminio e strato di 1 mm di gel di silice

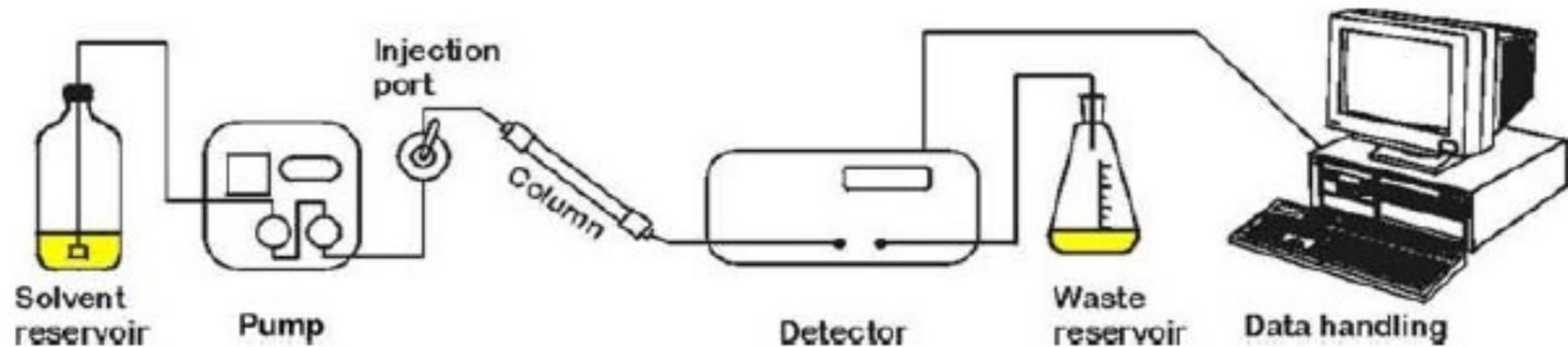
Rf=1



Rf= retention factor



Saggi chimici



HPLC: high performance liquid chromatography

Cromatogramma. Il sistema strumentale cromatografico ha separato i componenti chimici, quello di rivelazione ha permesso di ottenere questo tracciato e di identificare i componenti. E' possibile anche quantificarli misurando l'area sottesa da ogni picco

μ Abs

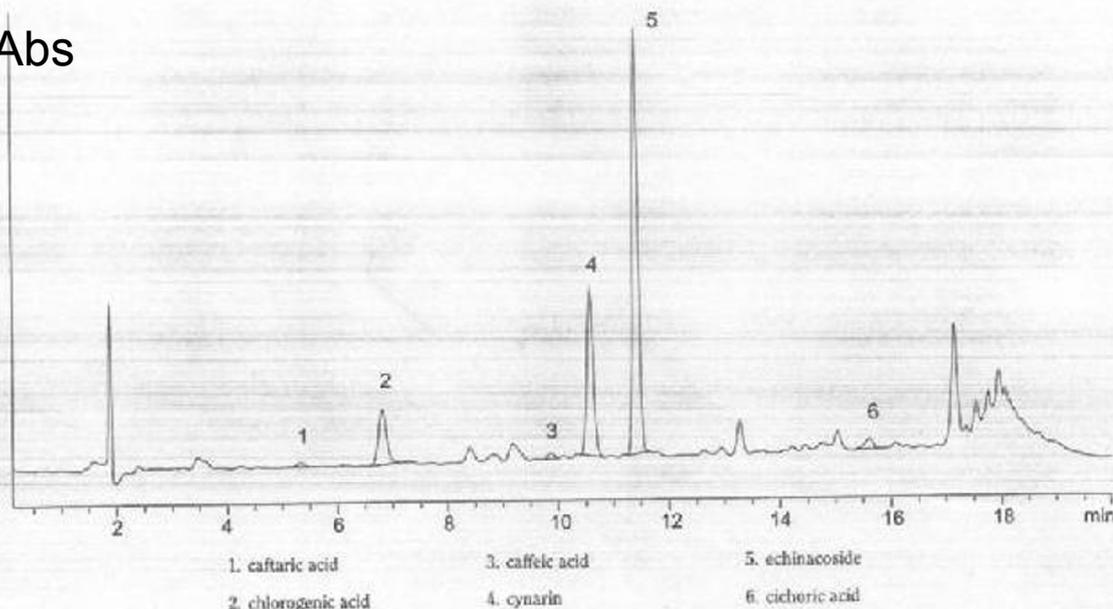
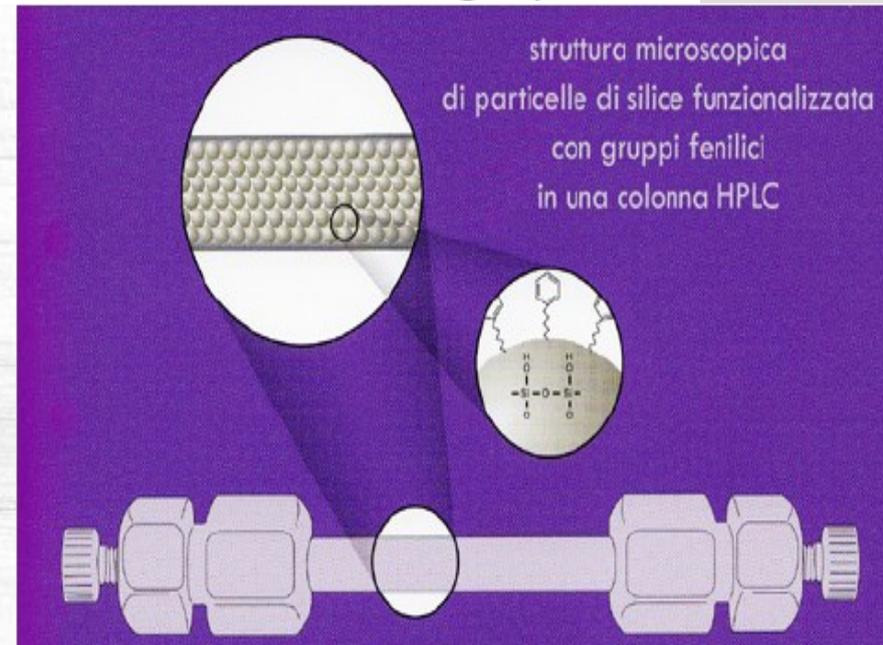
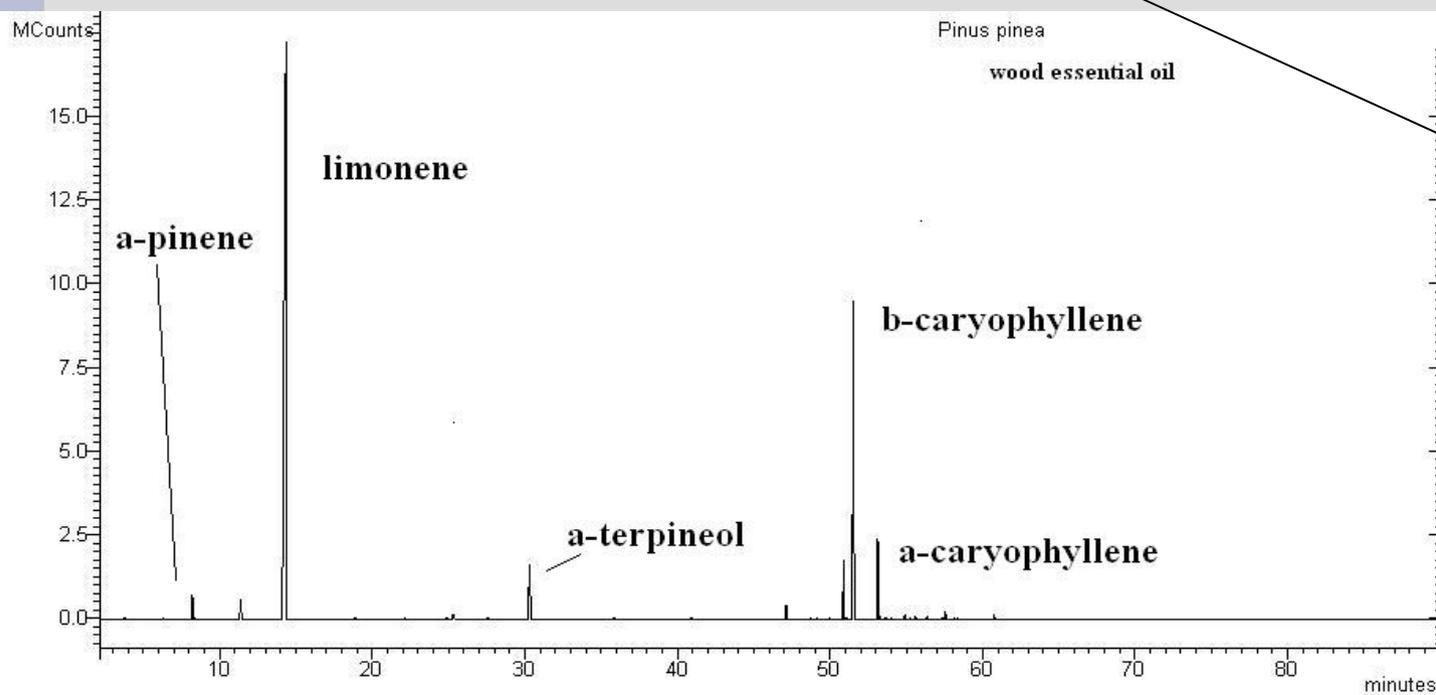
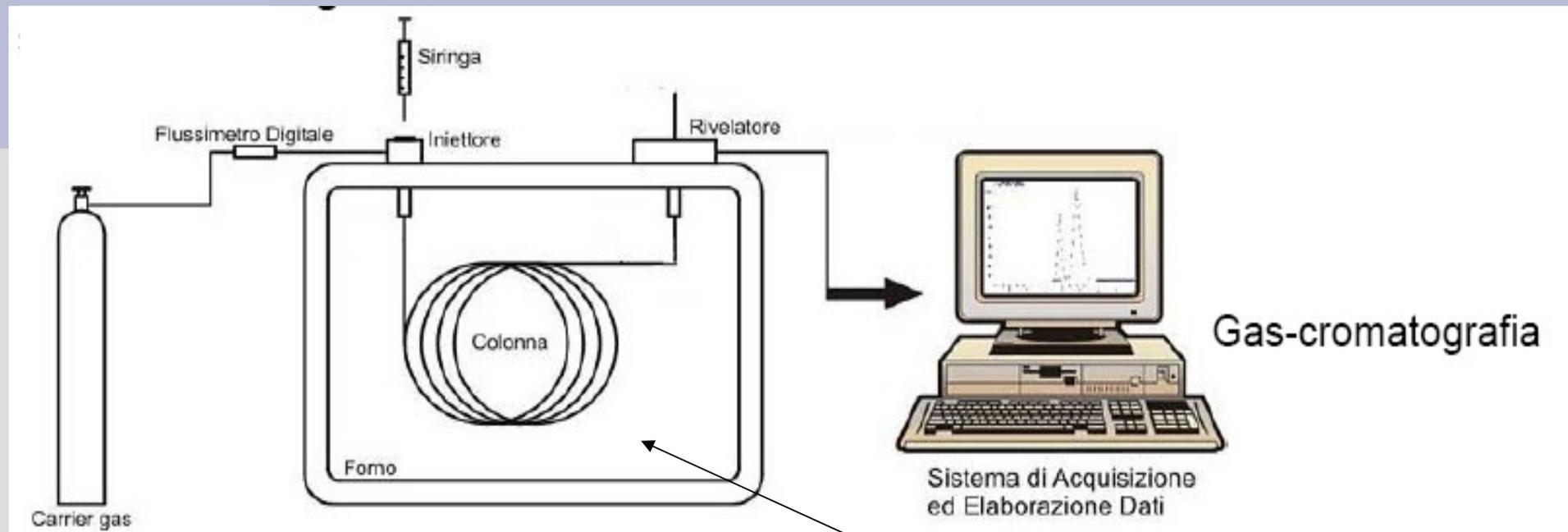


Figure 1821-1. - Chromatogram for the assay of echinacoside in narrow-leaved coneflower root



Saggi chimici



METODI GENERALI DI FARMACOGNOSIA (FUI XII)

- 1. Determinazione di elementi estranei (saggio macroscopico)** (2% 10-100g di droga)
- 2. Stomi ed indice stomatico (saggio microscopico)**
- 3. Ceneri totali (saggio fisico semplice)** (1 g di droga 1 h 100-105°C, poi 600°C)
- 4. Ceneri insolubili in HCl (saggio chimico semplice)** (Ceneri in HCl 3N 5min, poi calcino)
- 5. Indice di rigonfiamento (saggio fisico semplice)** (1 g di droga 25 ml acqua)
- 6. Determinazione delle essenze nelle droghe vegetali (saggio con estrazione)**
- 7. Acqua nelle essenze (saggio chimico semplice)** (10 gocce OE in 1 ml CS₂)
- 8. Esteri estranei nelle essenze (saggio fisico semplice)**
- 9. Oli grassi ed essenze resinificate nelle essenze (saggio chimico semplice)**
- 10. Odore e sapore delle essenze (saggio organolettico)**
- 11. Determinazione del residuo all'evaporazione nelle essenze (saggio chimico s.)**
- 12. Solubilità delle essenze in alcol (saggio chimico semplice)**
- 13. Determinazione dell'1,8-cineolo nelle essenze (saggio chimico semplice)**
- 14. Determinazione del potere amaricante (saggio organolettico)**

METODI GENERALI DI FARMACOGNOSIA (FUI XII)

15. Residui di pesticidi (saggio chimico GC)
16. Determinazione dei tannini (saggio chimico spettrofotometrico)
17. Determinazione della aflatoossina B1 (saggio chimico cromatografico)
18. Perdita all'essiccamento degli estratti (saggio fisico semplice)
19. Residuo secco degli estratti (saggio fisico semplice)
20. Campionamento

<i>Carica microbica: valori limite tollerati</i>		<i>Inquinanti chimici</i>
<u>Microrganismo</u>	<u>Limiti (UFC/g droga)</u>	
Batteri aerobi	<10 ³ -10 ⁴	<u>aflatoossina B1</u> 5ppb, 10ppb se totali;
Lieviti e muffe	<10 ²	<u>Pb</u> 3mg/kg; <u>Cd</u> 0,5mg/kg;
Enterobatteri	<10 ²	<u>Hg</u> 0,3mg/kg;
<i>Escherichia coli</i>	n.r.	<u>radioattività (isotopi del</u>
<i>Salmonella spp.</i>	n.r.	<u>Cs)</u> 600Bq/Kg (16,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	n.r.	nCi/Kg)....
<i>Staphylococcus aureus</i>	n.r.	

METODI GENERALI DI FARMACOEPA

Campionamento

Preparare un campione omogeneo di un lotto (vari contenitori, sacchi, ecc.)

500g radici, rizomi, scorze, piante intere

250g foglie, fiori, semi, frutti

125g droghe rotte e frammentate

Metodo della “quarta parte”: il campione omogeneo viene collocato su un foglio in modo da formare un quadrato di livello regolare e poi viene diviso in 4 parti uguali. Si preleva da 2 quarti opposti e si miscela. Si ripete il processo fino a che non si ottiene la minima quantità richiesta per i saggi



METODI GENERALI DI FARMACOPEA

ESTERI ESTRANEI NELLE ESSENZE: si riscalda a b. m. per 2 min 1 ml di essenza con 3 ml di soluzione di potassio idrossido (100 g/l) in alcol, preparata al momento dell'uso. Non si devono formare cristalli nei 30 min successivi, anche dopo raffreddamento

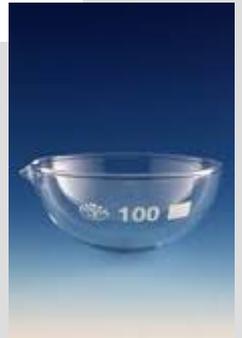
OLI GRASSI ED ESSENZE RESINIFICATE NELLE ESSENZE: si lascia cadere una goccia di essenza su della carta da filtro: la goccia deve evaporare completamente nel corso delle 24 ore senza lasciare alcuna macchia traslucida o grassa

ODORE E SAPORE NELLE ESSENZE: si mescolano 3 gocce di essenza con 5 ml di alcol 90% e si agita con 10 g di saccarosio polverizzato. L'odore ed il sapore devono corrispondere a quelli della pianta o delle parti della pianta da cui l'essenza è stata ricavata

DETERMINAZIONE DEL RESIDUO DELL'EVAPORAZIONE NELLE ESSENZE: costituisce la % in peso dopo l'evaporazione a b.m.

SOLUBILITA' DELLE ESSENZE IN ALCOL: determinazione della solubilità in relazione alla scomparsa della torbidità di una soluzione olio essenziale-volume di alcol noto

DETERMINAZIONE DELL'1,8-CINEOLO NELLE ESSENZE: sulla base della temperatura di cristallizzazione di una miscela di olio essenziale (3g) con cresolo (2,10g). Il valore della temperatura è corrispondente ad un valore tabulato di cineolo



METODI GENERALI DI FARMACOPEA

DETERMINAZIONE DEL POTERE AMARICANTE

Si esprime per confronto con cloridrato di chinina, il cui indice di amarezza è 200000. Il test consiste nel determinare la minima concentrazione del prodotto in esame e di riferimento in grado di determinare una sensazione di amaro in una stessa persona. Le persone selezionate (6) per il test non devono percepire il sapore amaro di una soluzione di 0,058 mg di cloridrato di chinina in 10 ml di acqua

Perdita all'essiccamento degli estratti (saggio fisico semplice)

0,50 g di estratto in stufa a 100-105°C per 3 ore in capsula da evaporazione

Residuo secco degli estratti (saggio fisico semplice)

2,00 g o 2,0 ml, in capsula da evaporazione, di estratto evaporati a b.m., poi in stufa a 100-105°C per 3 ore

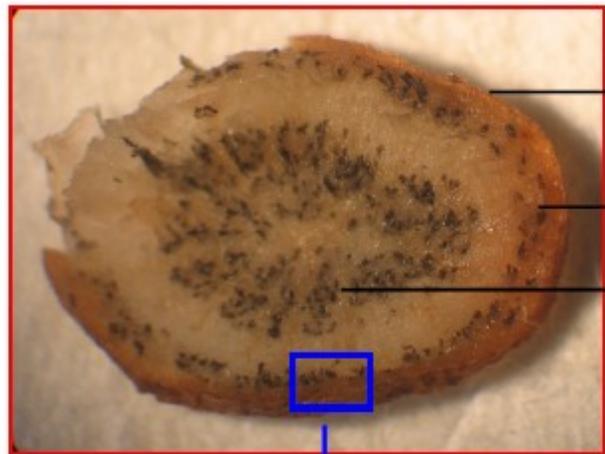


Echinacea angustifolia



Fig.4 Campione di droga allo stereomicroscopio

SEZIONE TRASVERSALE ALLO STEREOMICROSCOPIO



Cilindro corticale

Cilindro centrale

Fig. 5 sezione trasversale di radice (x 20)



Esoderma (primo strato del cilind.cort.)

Fig. 6 ingrandimento particolare della fig. 5

Echinacea angustifolia

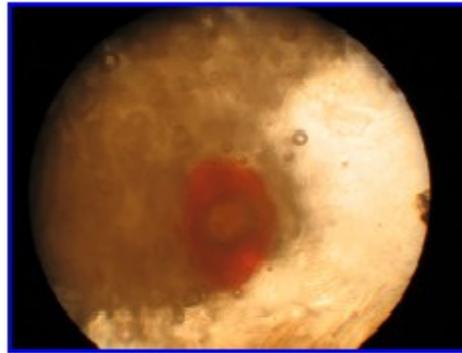


Fig. 9 Cavità secretrice contenente depositi di fitomelanina (x 400)

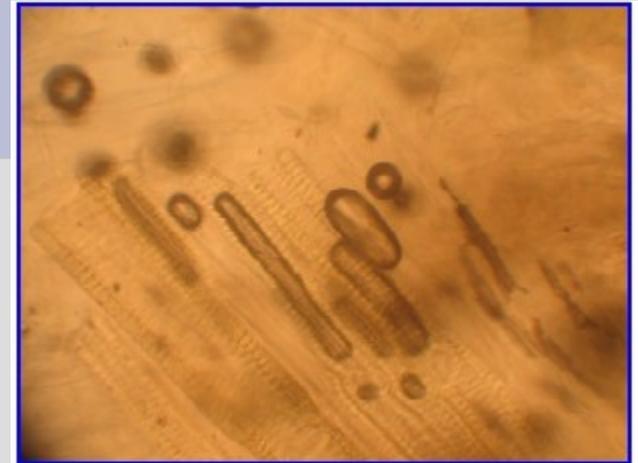


Fig. 10 Vasi scalariformi (x 1000)



Fig. 11 Cellule dell'esoderma (x 400)

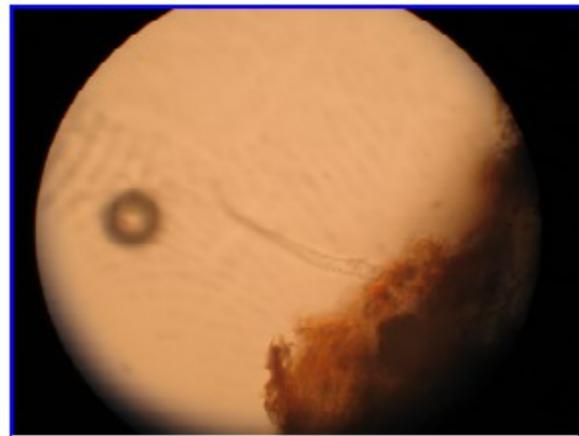
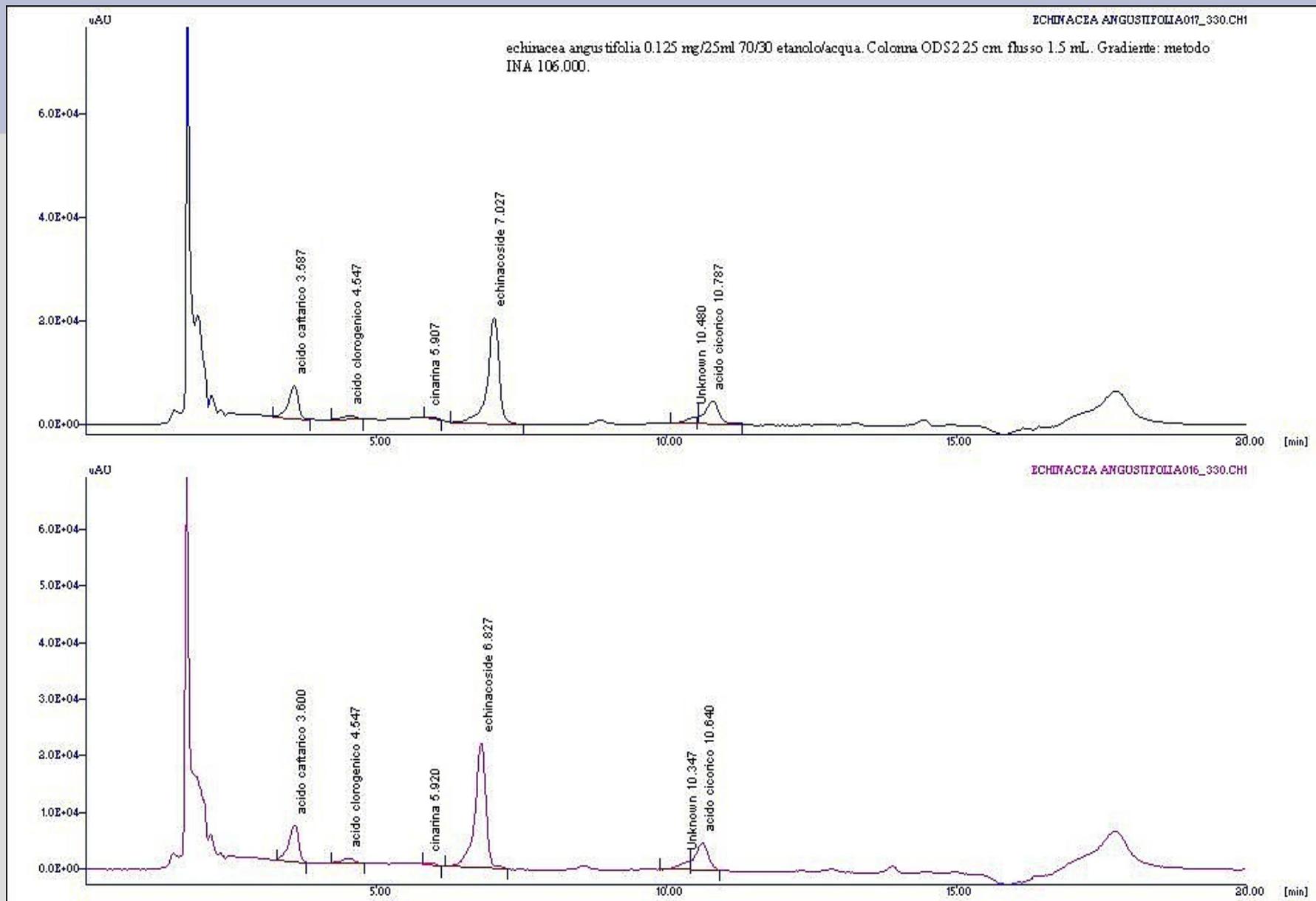


Fig. 13 Pelo protettore appartenente all'epidermide sezione trasversale vista al microscopio ottico (x 400)

Echinacea angustifolia



Prodotti erboristici Farmaci e integratori

- GUIDELINE ON QUALITY OF COMBINATION HERBAL MEDICINAL PRODUCTS₁ / TRADITIONAL HERBAL MEDICINAL PRODUCTS

<http://www.emea.europa.eu/ema/>

In herbal medicinal products containing combinations of herbal substances and/or herbal preparations, quality control may be more problematic because other herbal substances and/or preparations may interfere with the analysis, e.g. extraction or detection of a marker may be affected by other herbal substances present (co-elution) in the herbal medicinal product.

The quality of a combination herbal medicinal product should in general be guaranteed and demonstrated: identification and assay of each herbal substance/herbal preparation included in the product are required.

For some combination herbal medicinal products, identification and –quantitative determination of individual herbal substances/herbal preparations in the product are difficult to perform and sometimes impossible, but all analytical methods usually applied for identification and assay should be investigated first, e.g. the methods described in the Ph. Eur. General Chapter 2 “Methods of analysis”

If individual active substance testing for identity, assay or to demonstrate stability cannot be performed in the herbal medicinal product, alternative strategies may be considered.

Prodotti erboristici

The identification test of the herbal substance/preparation should be performed as an in process control at the latest point in the manufacturing process of the herbal medicinal product where analysis is still possible,

should include suitable identification methods for the combination, e.g. characteristic fingerprints, in line with the Guideline on specifications. The sum of the identification methods should allow appropriate characterisation of the combination.

If testing of the herbal substance/preparation is not possible, it is required that the herbal substance/preparation is identified according to its specifications immediately before the introduction of the active substance in the manufacture of the herbal medicinal product

PE, formulazioni con più erbe, non necessariamente sono FARMACI o sono composti da piante presenti in farmacopea, ma le linee guida spingono sempre più verso uno stretto controllo di qualità delle droghe impiegate, soprattutto prima di miscelarle nella formulazione, in analogia alle direttive sui farmaci. A livello internazionale la tendenza Normativa è di classificare tutti i PE, Botanicals come Prodotti medicinali.

Prodotti erboristici

Tabella ministeriale piante ammesse

http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_2_file.pdf

Swertia chirata (marker ?)

Phyllanthus emblica (vitamina C ?)

Terminalia chebula (vedi articolo recente)

Quali possibili marker sono commerciali? (le ditte principali: SIGMA, Extrasynthese

Siti con metodi:

<http://www.nsf.org/business/ina/methods.asp>

Digererbe Tavolette

Carciofo foglie estratto liofilizzato 80 mg

titolato in acidi caffeilchinici espressi come acido clorogenico 7% 5,6 mg

Genziana radice estratto liofilizzato 7,5 mg

titolato in gentiopicroside 5% 0,38 mg

Liquirizia radice estratto liofilizzato 45 mg

Zenzero rizoma estratto liofilizzato 15 mg

Olio essenziale di Menta 6 mg

Pari a circa 0,3 gocce di olio essenziale

Prodotti erboristici

INGREDIENTI FUNZIONALI CONTENUTI IN 1 BUSTINA

Passiflora foglie <i>titolato in flavonoidi totali espressi come vitexina $\geq 2,5\%$</i>	425 mg
Passiflora foglie estratto liofilizzato multifrazione (Passiflò2-LMF) <i>titolato in flavonoidi totali espressi come vitexina 8%</i>	30 mg
Melissa foglie	420 mg
Camomilla fiori	400 mg
Camomilla fiori ligulati estratto liofilizzato	45 mg

Echinacea pallida radice concentrato totale	646,4 mg
titolato in echinacoside 0,95%	6,1 mg
Echinacea purpurea sommità estratto liofilizzato	161,6 mg
titolato in polifenoli totali 5%	8 mg

Echinacea pallida (Echinaceo pallida) radice polvere, Echinacea pallida (Echinacea pallida) radice estratto liofilizzato, Gelatina, Echinacea purpurea (Echinacea purpurea) sommità estratto liofilizzato.

Polifenoli Totali (Singleton *et al.*; (1965))

0,1 ml campione

+ 7,9 ml acqua distillata

+ 0,5 ml reattivo F-C aspettare 2 min

.....+ 1,5 ml soluzione Na₂CO₃ anidro al 20%

Volume finale = 10 ml

Tenere il campione a T.A. 2 ore al buio,

leggere allo spettrofotometro a 765nm.

Curva di taratura

Si preparano soluzioni a concentrazioni diverse di **acido gallico** in H₂O.

(AP) 5 mg in 100 ml → [5 mg/100 ml]

1 ml + 7 ml H ₂ O	→ 50 GAE	→ 5 µg/ml	
0,8 ml + 7,2 ml H ₂ O	→ 40 GAE	→ 4 µg/ml	
0,6 ml + 7,4 ml H ₂ O	→ 30 GAE	→ 3 µg/ml	
0,4 ml + 7,6 ml H ₂ O	→ 20 GAE	→ 2 µg/ml	
0,2 ml + 7,8 ml H ₂ O	→ 10 GAE	→ 1 µg/ml	
0,1 ml + 7,9 ml H ₂ O	→ 5 GAE	→ 0,5 µg/ml	
0 ml + 8 ml H ₂ O	→ 0 GAE	→ 0 µg/ml	→ Bianco

+ 0,5 ml F-C + 2 min + 1,5 ml Na₂CO₃ al 20%



Analisi dei Flavonoidi totali

[Lamaison & Carnat (1991) Pharm. Acta Helv., 65, 315-320]

A 1 ml di campione è stato aggiunto 1 ml di soluzione al 2% di $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in MeOH.

Dopo 10 minuti a temperatura ambiente è stata misurata l'assorbanza di ciascuna miscela di reazione allo spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 394 nm.

Costruzione della curva di taratura

Si preparano soluzioni a concentrazioni diverse di **Hyperoside** in MeOH in matracci.

0.1 mg/ml \rightarrow [100 $\mu\text{g}/\text{ml}$]

120 μl + 80 μl MeOH \rightarrow 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$

100 μl + 100 μl MeOH \rightarrow 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$

80 μl + 120 μl MeOH \rightarrow 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$

60 μl + 140 μl MeOH \rightarrow 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$

40 μl + 160 μl MeOH \rightarrow 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$

20 μl + 180 μl MeOH \rightarrow 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

0 μl + 200 μl MeOH \rightarrow 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \rightarrow Bianco

Volume: 2ml

Controllo qualità di un prodotto erboristico

Boiron passiflora tintura madre 60ml

Flavonoidi (fino al 2.5%): vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina