



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE  
FARMACOLOGICHE E BIOMOLECOLARI

**CORRADO LODOVICO GALLI - ERT**

UNISAFE - CENTRO PER LA VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DEL RISCHIO CHIMICO

**CURCUMA: STORIA D'USO, EFFICACIA E SICUREZZA**

**PROFILO SICUREZZA**

MILANO 21 NOVEMBRE 2019

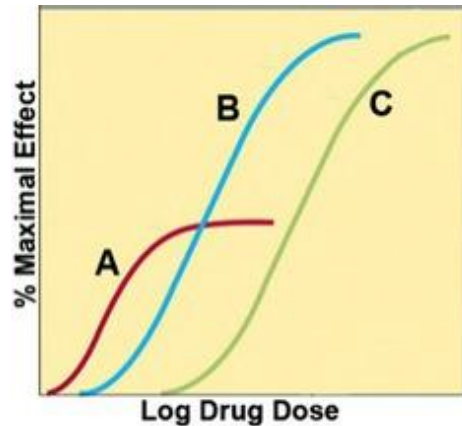
FIERA MICO - SALA GREEN 1



# SIMPLE QUESTIONS versus DIFFICULT ANSWERS



What chemicals  
are we **exposed to**?



**At what dose is  
toxicity observed**

Are the chemicals toxic?

Where do they cause toxicity?

What are the mechanism of toxicity?

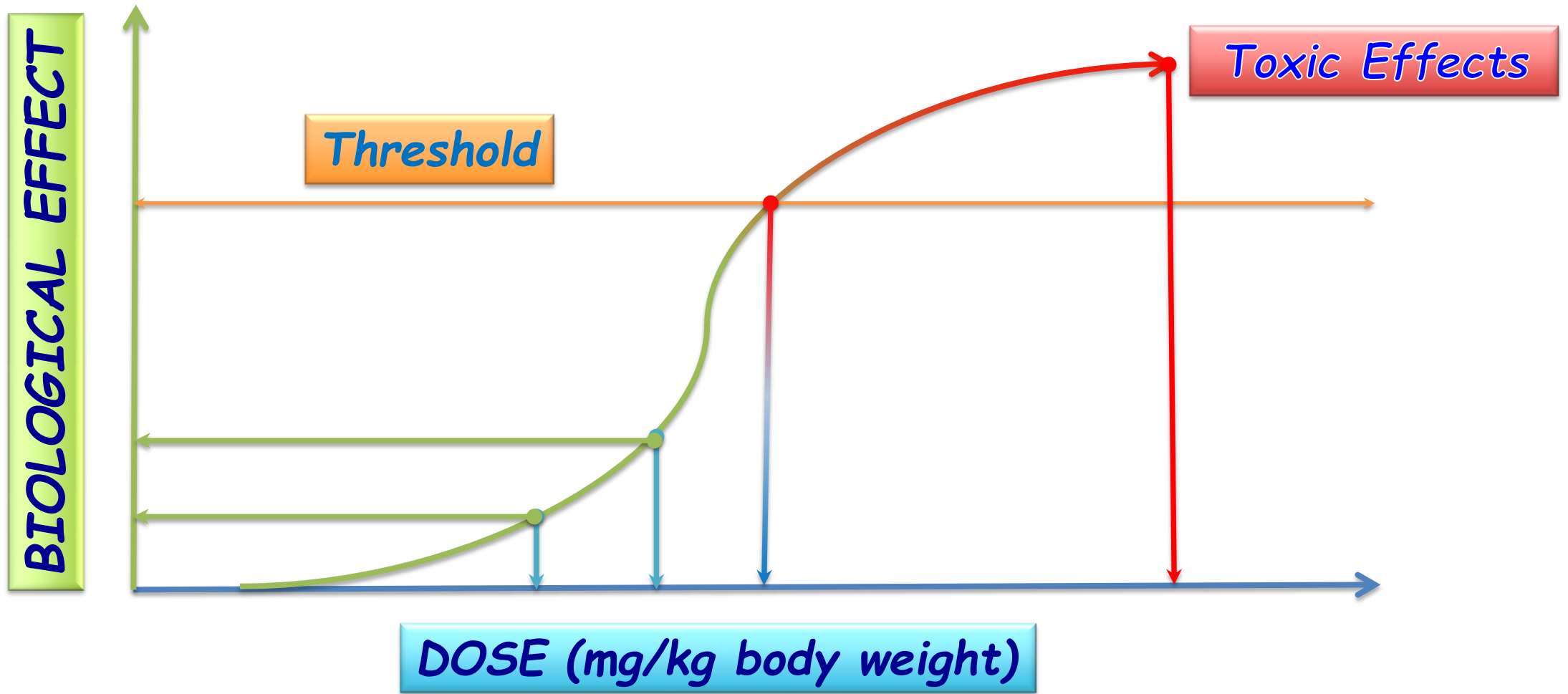
**Who is susceptible?**



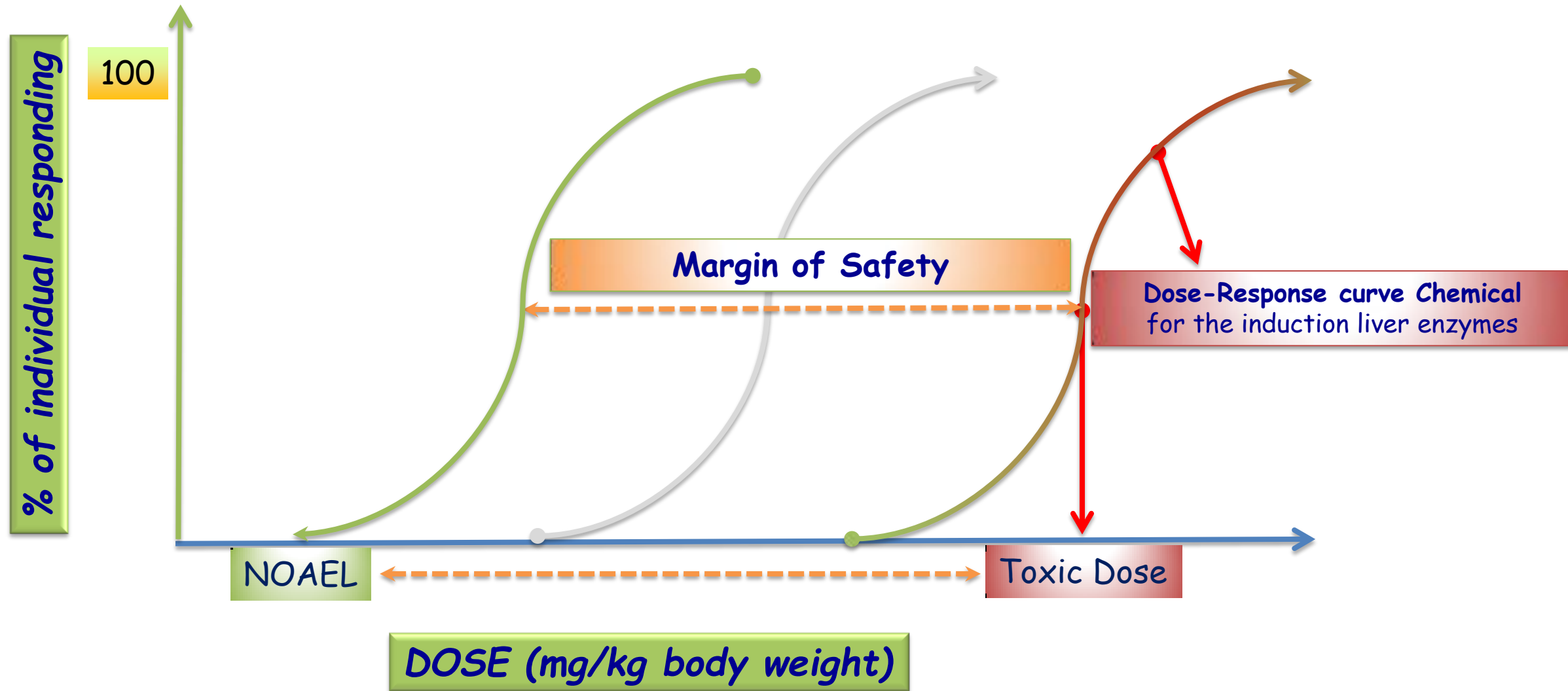
# RISK ANALYSIS PARADIGM



# DOSE - RESPONSE - CURVE

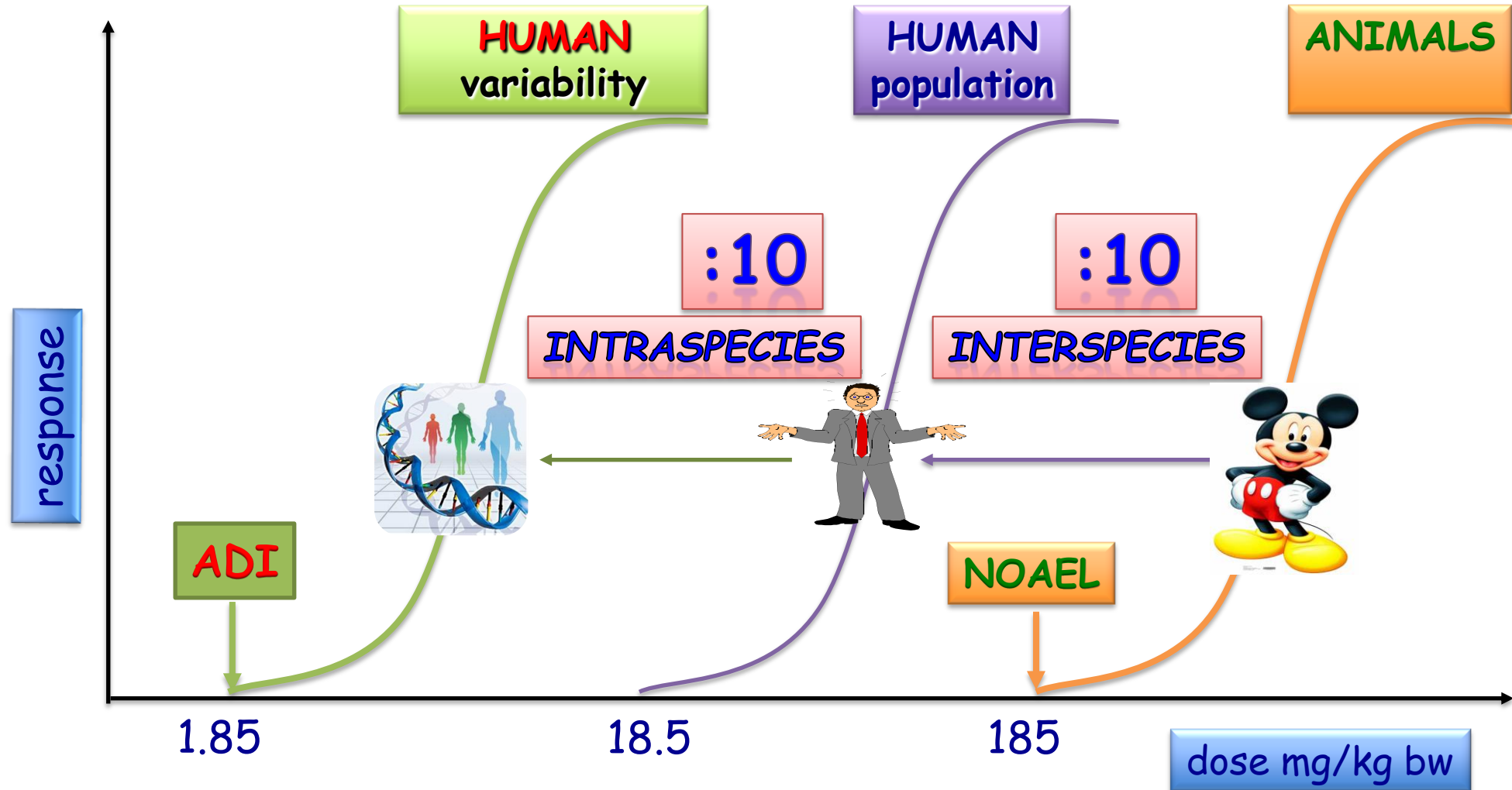


# POINT of DEPARTURE (PoD): NO OBSERVED ADVERSE EFFECT (NOAEL)



# ANIMAL-BASED TOXICOLOGICAL STUDIES

(QUANTIFICATION OF ADVERSE HEALTH EFFECTS)



# ADMISSIBILE DAILY INTAKE



$$ADI = \frac{NOAEL}{SF}$$



**ADI** = Admissible Daily Intake mg/kg b.w.

**NOAEL** = No Observed Adverse Effect Level (mg/kg b.w.)

**SF** = Safety Factor (10, 100, n)



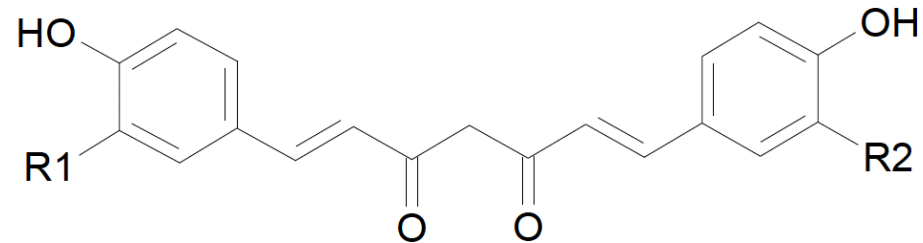
# INTEGRATORE ALIMENTARE

- Un integratore alimentare deve soddisfare tutte le seguenti condizioni:
- È un prodotto destinato a integrare la dieta, che contiene uno o più : vitamine; minerali; erbe o altri derivati botanici; aminoacidi; o qualsiasi combinazione degli ingredienti di cui sopra.
- È destinato a essere assunto in compresse, capsule, polvere, capsule gelatinose o in forma liquida.
- Non è considerato per l'uso come solo alimento o come unico elemento di un pasto o dieta.
- È etichettato come integratore alimentare.





# CURCUMINA



- |      |                     |                        |                                |
|------|---------------------|------------------------|--------------------------------|
| I.   | $C_{21}H_{20}O_6$ ; | $R_1 = R_2 = OCH_3$    | CAS Registry Number 458-37-7   |
| II.  | $C_{20}H_{18}O_5$ ; | $R_1 = OCH_3, R_2 = H$ | CAS Registry Number 33171-16-3 |
| III. | $C_{19}H_{16}O_4$ ; | $R_1 = R_2 = H$        | CAS Registry Number 33171-05-0 |

La curcumina è costituita da tre componenti coloranti principali. Essenzialmente da il principio colorante (1E, 6E) -1, 7-bis- (4-idrossi-3-metossifenil) -epta-1, 6-diene-3, 5-dione e i suoi demetossi- e bis -demetossi-derivati.



# FITOVIGILANZA

Il sistema di fitovigilanza si basa sulla raccolta e valutazione di **segnalazioni spontanee** di sospette reazioni avverse insorte dopo l'assunzione/somministrazione di:

- ❖ integratori alimentari,
  - ❖ preparazioni galeniche a base di piante officinali,
  - ❖ medicinali omeopatici privi di autorizzazione all'immissione in commercio (AIC).
- 
- 2002: attivazione come progetto pilota
  - 2012: sistema nazionale di supporto al Ministero della Salute.



# SEGNALAZIONI RELATIVE ALLA CURCUMA E AI SUOI DERIVATI

## Aprile 2002 - Giugno 2019

52 segnalazioni spontanee di sospette reazioni avverse associate a integratori contenenti curcuma da sola o in associazione ad altri ingredienti.

28 (54%) riportavano sintomi attribuibili a danno epatico

## Dicembre 2018 - Giugno 2019

22 segnalazioni di epatotossicità associata a prodotti a base di curcuma.

In 6 non era riportata la presenza di farmaci concomitanti

In 8 casi era riportato l'uso di farmaci concomitanti, alcuni dei quali con epatotossicità nota o sospetta.

2 pazienti avevano assunto oltre ai farmaci altri integratori non a base di curcuma.

- ❖ Età mediana dei soggetti per i quali è stata segnalata una reazione epatica era di 54 anni (29-71 anni - 2 uomini),
- ❖ Tutti i casi sono stati ospedalizzati.
- ❖ Diagnosi: epatite acuta, per lo più colestatica.



# COMPOSIZIONE INTEGRATORI

- ❖ **10 prodotti** contenevano estratto secco di curcuma titolato al 95% in curcumina/curcuminoidi in associazione con l'estratto secco di pepe nero titolato al 95% in piperina
- ❖ **1 prodotto** conteneva estratto secco di curcuma titolato al 95% in curcumina sotto forma di liposoma in associazione con l'estratto secco di pepe nero titolato al 95% in piperina
- ❖ **2 prodotti** contenevano una formulazione brevettata in cui l'estratto secco di curcuma al 95% era associato ad una frazione lipidica
- ❖ **1 prodotto** a base di Curcuma (estratto secco titolato al 95% min. in curcuminoidi totali), e Boswellia (estratto secco titolato al 75% min. in acidi boswellici)



# VALUTAZIONE NESSO DI CAUSALITÀ

- ❖ La durata d'uso riportata sulle segnalazioni andava da 8 giorni a 8 mesi (mediana 2 mesi).
- In 12 casi la valutazione ha ritenuto probabile il nesso di causalità.
- In 9 casi la relazione causale è risultata possibile



# VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA

## CONTAMINAZIONE ?

- sia chimica:
  - pesticidi, metalli pesanti (Cd, Pb, As, Hg), contaminanti organici (IPA, PCB, diossine ...), residui di solventi
- che microbiologica:
  - micotossine da muffe, da spore batteriche, da funghi.



# VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA

## SOSTANZE VOLONTARIAMENTE AGGIUNTE A SCOPO FRAUDOLENTO:

- ❖ anfetamine (metodo LC-MS/MS),
- ❖ FANS, tra cui nimesulide
- ❖ coloranti sintetici vietati (giallo 2G, giallo rapido, giallo naftolo S, metanil Yellow, oil orange SS, orange 2, orange 6, sudan 1, Sudan yellow, Sudan orange G, para red)

## CONTAMINANTI INVOLONTARI:

- ❖ micotossine/aflatossina B1
- ❖ metalli pesanti/piombo e cadmio
- ❖ fitofarmaci

**esito negativo relativamente alla presenza di sostanze volontariamente aggiunte o contaminanti**



# SAFETY ASSESSMENT OF BOTANICALS AND BOTANICAL PREPARATIONS USE IN FOOD AS SUPPLEMENTS



European Food Safety Authority

EFSA Journal 2009; 7(9):1249

## SCIENTIFIC OPINION

**Guidance on Safety assessment of botanicals\* and botanical preparations\*\*  
intended for use as ingredients in food supplements<sup>1</sup>**

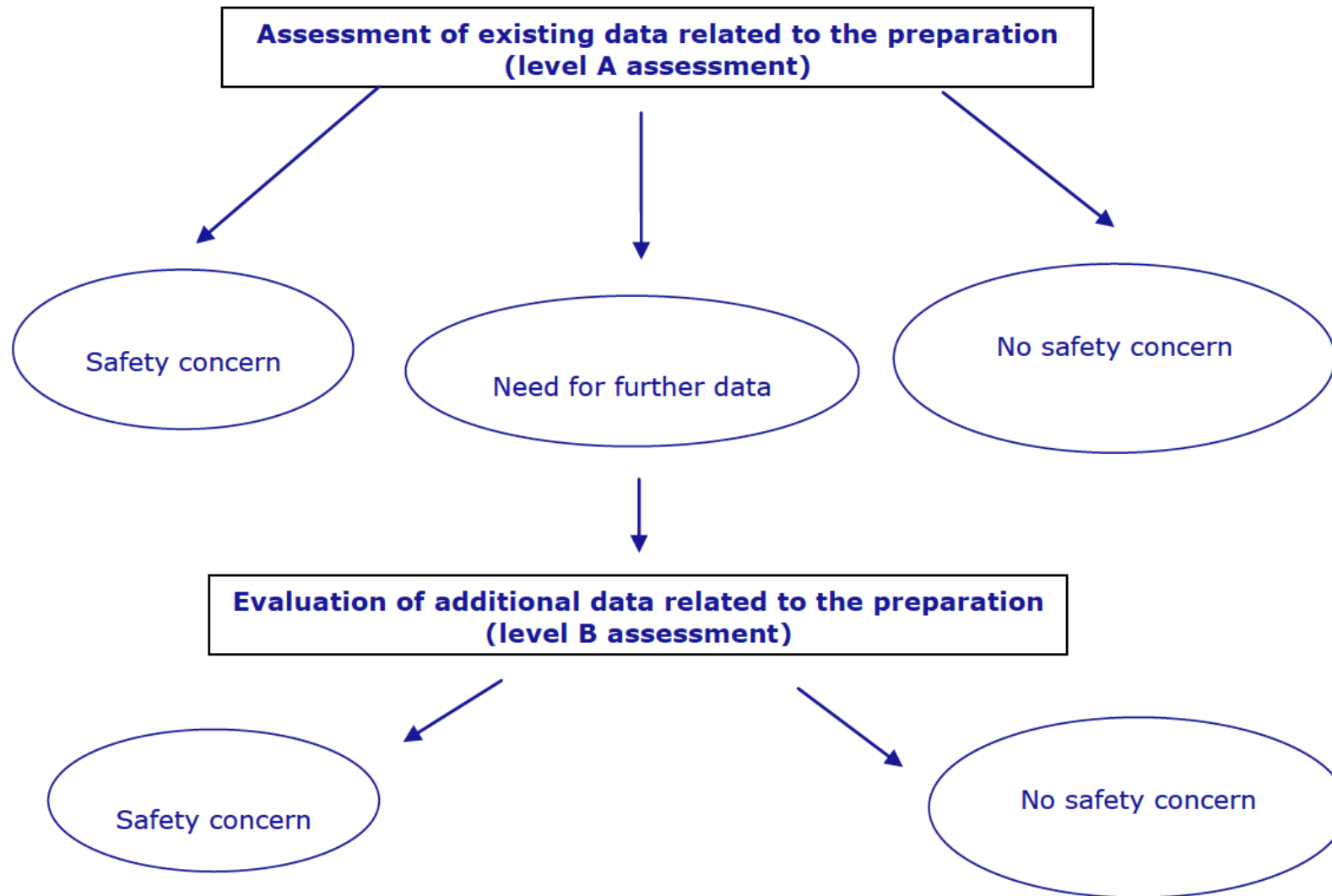
**EFSA Scientific Committee<sup>2</sup>**



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE  
FARMACOLOGICHE E BIOMOLECOLARI



# SAFETY ASSESSMENT OF BOTANICALS AND BOTANICAL PREPARATIONS USE IN FOOD AS SUPPLEMENTS



# SAFETY ASSESSMENT OF BOTANICALS AND BOTANICAL PREPARATIONS USE IN FOOD AS SUPPLEMENTS

- **Level A: No testing required (assumed presumption of safety)**
  - long term history of food use
  - absence of adverse effect at the proposed level of use
  - no significant increase of the traditional intake to be expected due to the in intended levels of use as food supplement
  - if presence of otherwise toxic substances, comparison of the overall exposure with the existing safety the levels (e.g. ADI, TMDI) or *Margin in of Safety approach*
  - if presence of genotoxic and carcinogenic substances, MoE and Threshold of Toxicological Concern tools.

# SAFETY ASSESSMENT OF BOTANICALS AND BOTANICAL PREPARATIONS USE IN FOOD AS SUPPLEMENTS

- **Level B: Further testing and/or data required**
  - Toxicokinetics including metabolism
  - Genotoxicity testing (*in vitro* testing + *in vivo* testing in case of (+) results)
  - 90 days subchronic toxicity (to establish NOAEL)
  - Other studies based on previous info (target organs, structure activity... )

# CURCUMINA: VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA

Il gruppo di esperti scientifici EFSA ha concluso che il database tossicologico supportava una la definizione di una ADI (DGA) di 3 mg/kg di peso corporeo/giorno ottenuta applicando un Fattore di Sicurezza pari a 100 al NOAEL di 250-320 mg/kg di peso corporeo/giorno ricavato da uno studio di tossicità della riproduzione ove si era osservata riduzione dell'aumento di peso corporeo (*likely to be incidental, probabilmente casuale*) nella generazione F2 a 850 - 1100 mg/kg di peso corporeo/giorno.



# CURCUMINA: VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA

- ❖ Il *Joint WHO/FAO Expert Committee on Food additives (JECFA)* ha concluso che la curcumina non fosse genotossica o cancerogena ha stabilito una **ADI (Acceptable Daily Intake) per la curcumina, come colorante, di 3 mg/kg/die**, (pari 180 mg/die per un adulto di 60 kg di peso corporeo).  
  
Evaluation of certain food additives and contaminants : sixty-first report.  
(WHO technical report series ; 922, 2004)
- ❖ La *European Food Safety Authority (EFSA)* ha stabilito una ADI (Acceptable Daily Intake) per la curcumina, come colorante, di **3 mg/kg/die**, (pari 210 mg/die per un adulto di 70 kg di peso corporeo)  
  
(EFSA Journal 2010; 8(9):1679).
- ❖ La *European Medicines Agency (EMA)* ha preso come riferimento **3 mg/kg/die** (pari 150 mg/die per un adulto di 50 kg di peso corporeo)  
  
(EMA/HMPC/329745/2017)



# CURCUMINA: VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA

- ❖ Il *Joint WHO/FAO Expert Committee on Food additives (JECFA)* ha concluso che la curcumina non fosse genotossica o cancerogena ha stabilito una **ADI (Acceptable Daily Intake)** per la curcumina, come colorante, di **3 mg/kg/die**, (pari **180 mg/die** per un adulto di **60 kg di peso corporeo**).

Evaluation of certain food additives and contaminants : sixty-first report.  
(WHO technical report series ; 922, 2004)

- ❖ La *European Food Safety Authority (EFSA)* ha stabilito una ADI (Acceptable Daily Intake) per la curcumina, come colorante, di **3 mg/kg/die**, (pari **210 mg/die** per un adulto di **70 kg di peso corporeo**)

(EFSA Journal 2010; 8(9):1679).

- ❖ La *European Medicines Agency (EMA)* ha preso come riferimento **3 mg/kg/die** (pari **150 mg/die** per un adulto di **50 kg di peso corporeo**)

(EMA/HMPC/329745/2017)

*L'assunzione di prodotti contenenti curcuma deve essere **evitata** in soggetti che presentano*

*ostruzione delle vie biliari, colangiti, problemi di funzionalità epatica (danni epatici), calcoli biliari o altri problemi biliari'*



# CURCUMINA: STUDI DI FARMACOCINETICA

- ❖ La curcumina è risultata rilevabile nel plasma umano in seguito a somministrazione orale (purezza 99,3%) solo a dosi superiori a 2000 mg/giorno (circa 33 mg/kg di peso corporeo al giorno, per un adulto di 60 kg), ma non a dosi più basse.
- ❖ La curcumina è chiaramente misurabile nel plasma umano dopo la somministrazione di dosi superiori a 4000 mg di curcumina (circa 60 mg/kg di peso corporeo).
- ❖ Studi sull'uomo rivelano che è improbabile che si verifichino concentrazioni significative di curcumina nel plasma dopo l'ingestione a dosi fino a 12000 mg/persona



# CURCUMINA: OSSERVAZIONI NELL'UOMO

- ❖ L'estratto di Curcuma è stato somministrato ad una dose equivalente a **26, 72, 108, 144 o 180 mg** di curcumina/giorno per un massimo di 4 mesi a 15 pazienti con carcinoma del colon-retto avanzato.
  - Gli unici effetti avversi riportati sono stati i sintomi gastrointestinali.
  - Durante il primo mese di trattamento con curcumina alla dose di 108 mg/die un paziente ha manifestato nausea, che si è risolta spontaneamente. (Sharma et al., 2001).
- ❖ 25 pazienti con condizioni che indicavano un alto rischio di malignità sono stati trattati con curcumina (purezza, 99,3%) per 3 mesi. La dose iniziale era di **500 mg/die**, che è stata aumentata gradualmente fino a **1000, 2000, 4000, 8000 e infine 12000 mg/die**. (Cheng et al., 2001)
  - Non sono stati riportati effetti avversi a dosi fino a 8000 mg/die.
  - La dose massima di 12000 mg / die non era accettabile per i pazienti a causa del volume delle compresse
- ❖ La curcumina a dosi fino a **3600 - 8000 mg** al giorno per 4 mesi non ha comportato effetti avversi ad eccezione di lieve nausea e diarrea. Hsu and Cheng (2007)
- ❖ Una formulazione di curcuminoidi (contenente almeno il 95% di tre curcuminoidi: curcumina, bis-demetossi e -demetossi curcumina è stata somministrata a 24 **volontari sani** umani a dosi **da 500 fino a 12000 mg**.
  - Sette dei 24 volontari umani sani hanno manifestato solo effetti avversi (diarrea, mal di testa, eruzione cutanea e/o feci gialle) che non sembravano essere correlati alla dose, mentre gli altri volontari non hanno manifestato alcun effetto. (Lao et al., 2006).





# CURCUMINA: VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA

- ❖ Il *Joint WHO/FAO Expert Committee on Food additives (JECFA)* ha concluso che la curcumina non fosse genotossica o cancerogena ha stabilito una **ADI (Acceptable Daily Intake)** per la curcumina, come colorante, di **3 mg/kg/die**, (pari **180 mg/die** per un adulto di 60 kg di peso corporeo).

Evaluation of certain food additives and contaminants : sixty-first report.  
(WHO technical report series ; 922, 2004)

- ❖ La *European Food Safety Authority (EFSA)* ha stabilito una ADI (Acceptable Daily Intake) per la curcumina, come colorante, di **3 mg/kg/die**, (pari **210 mg/die** per un adulto di 70 kg di peso corporeo)

(EFSA Journal 2010; 8(9):1679).

- ❖ La *European Medicines Agency (EMA)* ha preso come riferimento **3 mg/kg/die** (pari **150 mg/die** per un adulto di 50 kg di peso corporeo)

(EMA/HMPC/329745/2017)

*L'assunzione di prodotti contenenti curcuma deve essere **evitata** in soggetti che presentano*

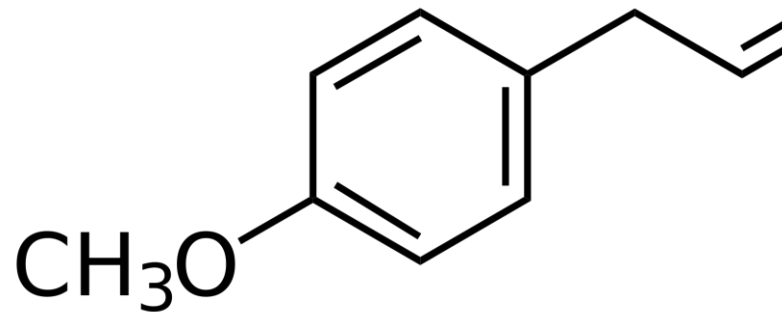
*ostruzione delle vie biliari, colangiti, problemi di funzionalità epatica (danni epatici), calcoli biliari o altri problemi biliari'*



# ?? MATRIX MATTERS ??



**BASILICO**



**ESTRAGOLE**



**PESTO**

# BASILICO

La composizione chimica dell'olio essenziale di *O. basilicum* varia a seconda della stagione.

Monoterpeni ossigenati (60,7-68,9%),  
idrocarburi sesquiterpenici (16,0-24,3%)  
esquiterpeni ossigenati (12,0-14,4%).

29 composti che rappresentano il 98,0-99,7% della composizione oleosa

Linalool il principale costituente degli oli essenziali (56,7-60,6%),  
epi- $\alpha$ -cadinolo (8,6-1,4%),  
 $\alpha$ -bergamotene (7,4-9,2%),  
 $\gamma$ -cadinene (3,3- 5,4%),  
germacrene D (1,1-3,3%) e  
canfora (1,1-3,1%).

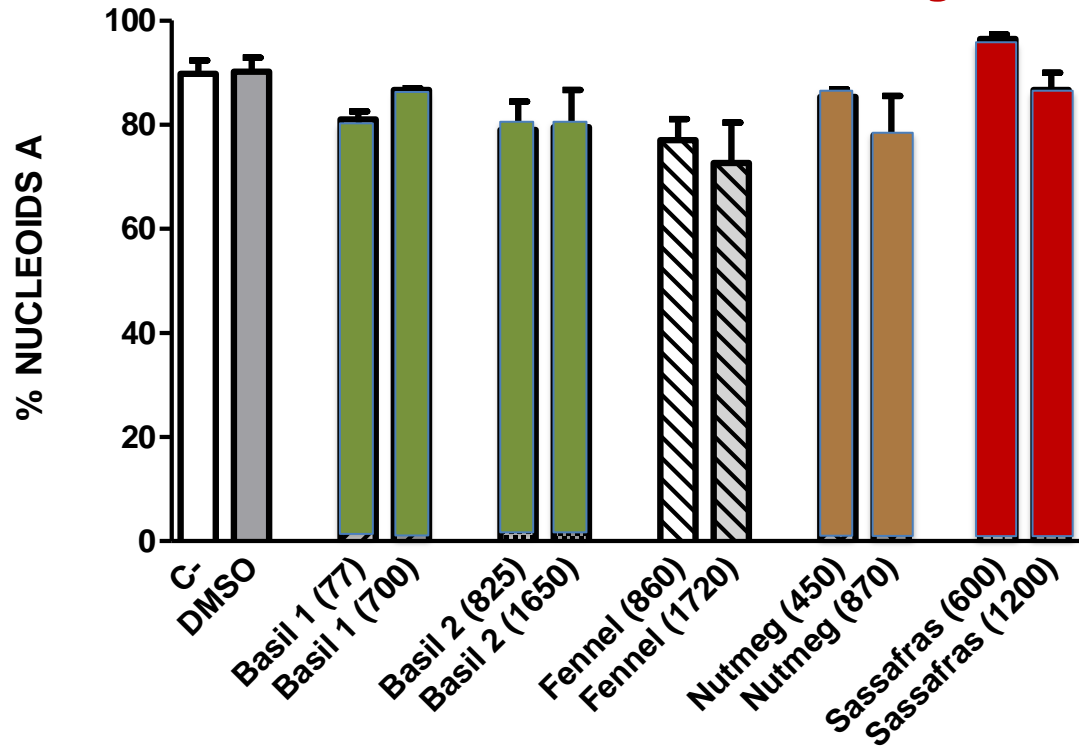
Inoltre, componenti come metilchavicol, methylcinnamat, **estragole**, linolen, eugenol, canfora, cis-geraniolo, 1,8-cineolo,  $\alpha$ -bergamotene,  $\beta$ -cariofillene, germacrene D,  $\gamma$ -cadinene, epi- $\alpha$ -cadinol e viridiflorol segnalato come componenti importanti

\* p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\* p<0.001 vs C

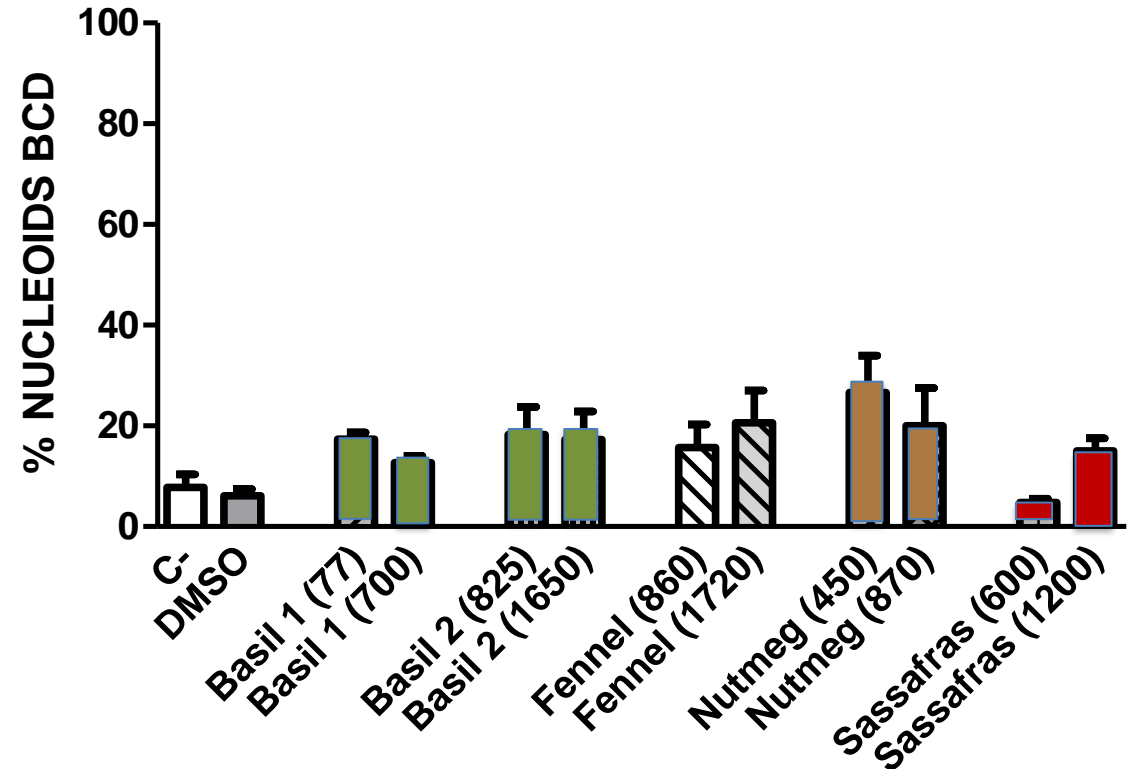


# ALKALINE COMET TEST IN HEPG2 CELLS - EXTRACTS ( $\mu\text{g/mL}$ )

**A** % Nucleoids A = undamaged



**B** % Nucleoids BCD = damaged

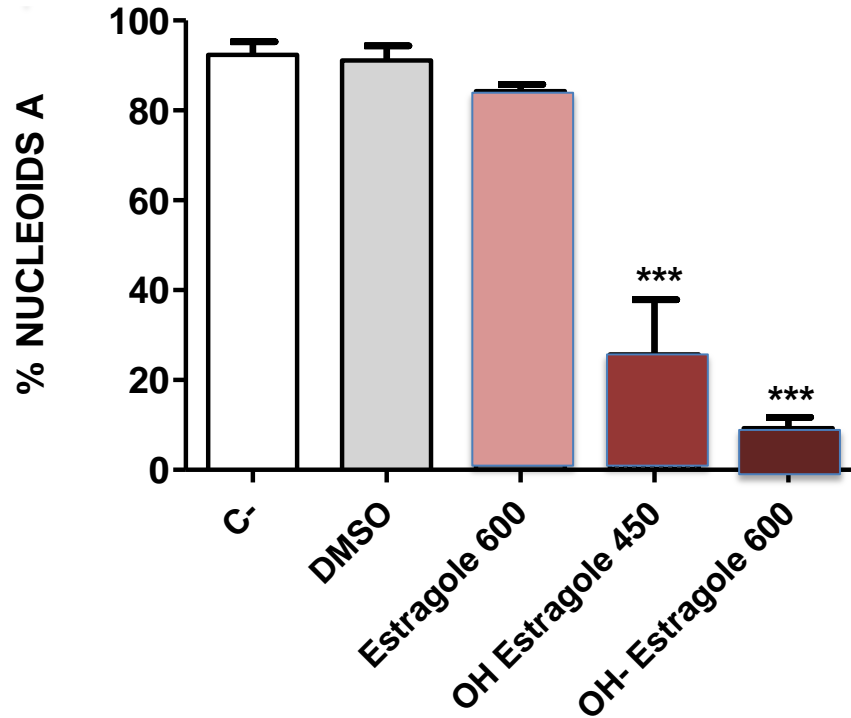


\*  $p < 0.05$  \*\*  $p < 0.01$  \*\*\*  $p < 0.001$  vs C

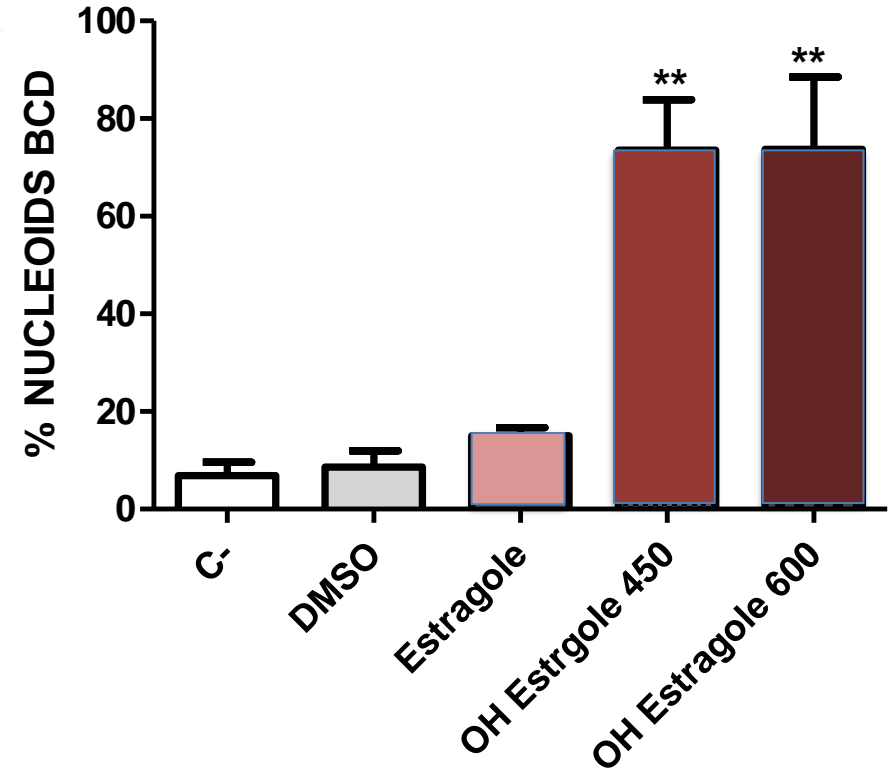


# ALKALINE COMET TEST IN HEPG2 CELLS - ESTRAGOL ( $\mu\text{M}$ )

**A** % Nucleoids A = undamaged



**B** % Nucleoids BCD = damaged

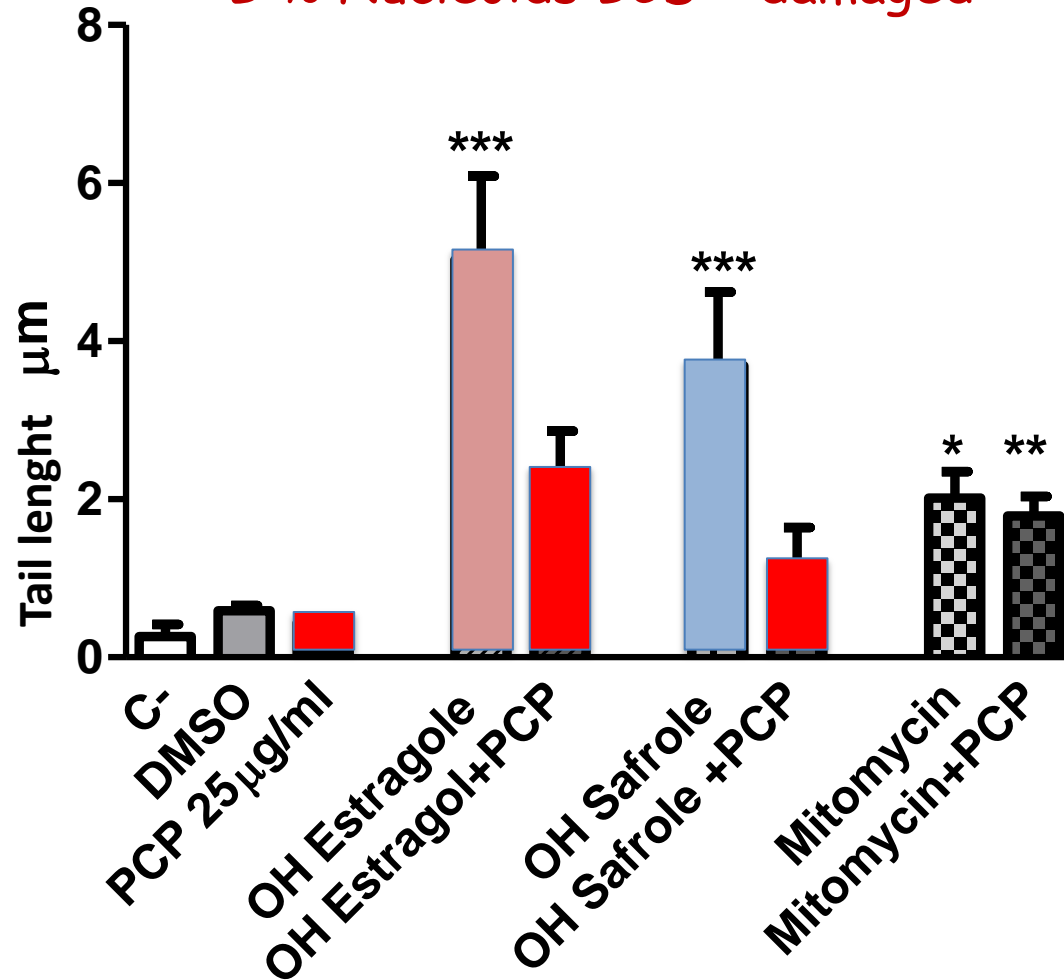


\*  $p < 0.05$  \*\*  $p < 0.01$  \*\*\*  $p < 0.001$  vs C



# ALKALINE COMET TEST IN HEPG2 CELLS

B % Nucleoids BCD = damaged



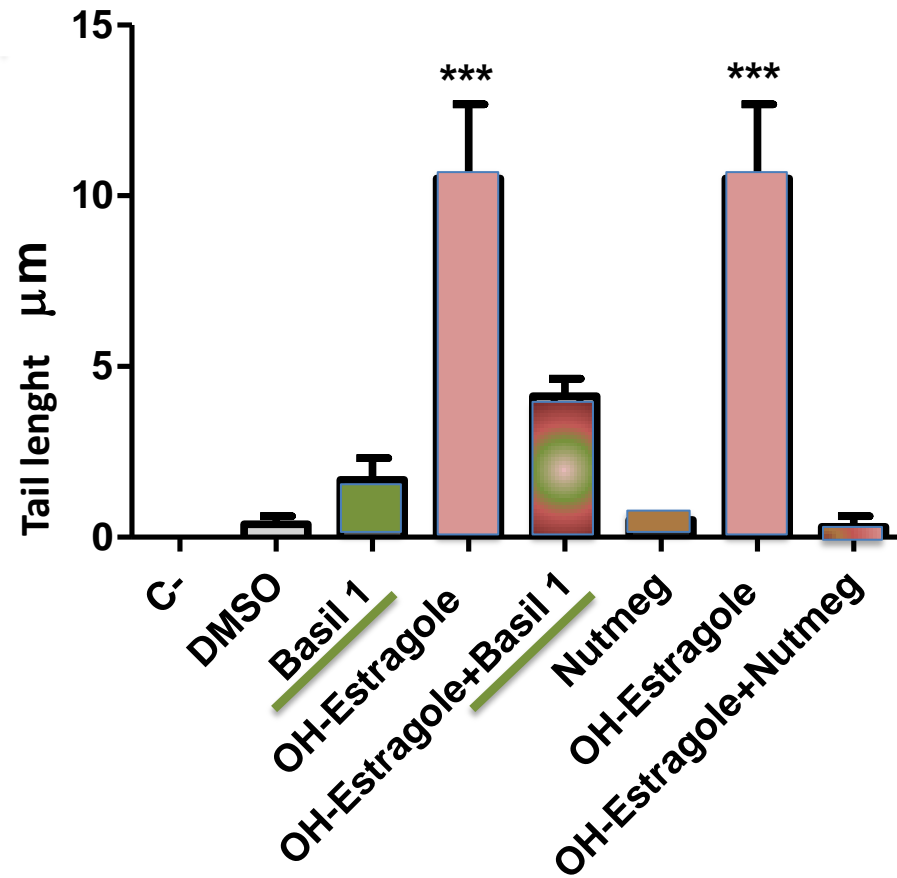
Pentachlorophenol (PCP), a substance which is able to inhibit sulfotransferase (SULTs) preventing the transformation of the 1-hydroxymetabolites to the ultimate carcinogenic 1'-sulfoxymetabolites

\* p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\* p<0.001 vs C

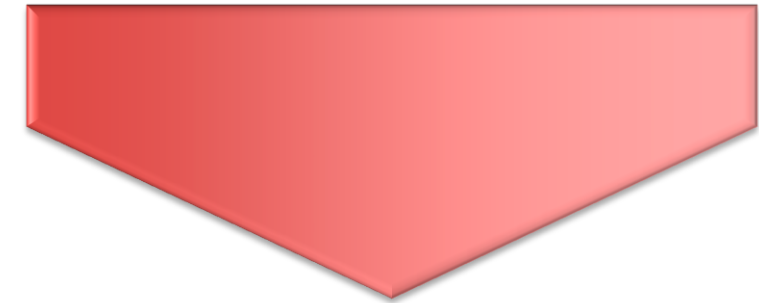
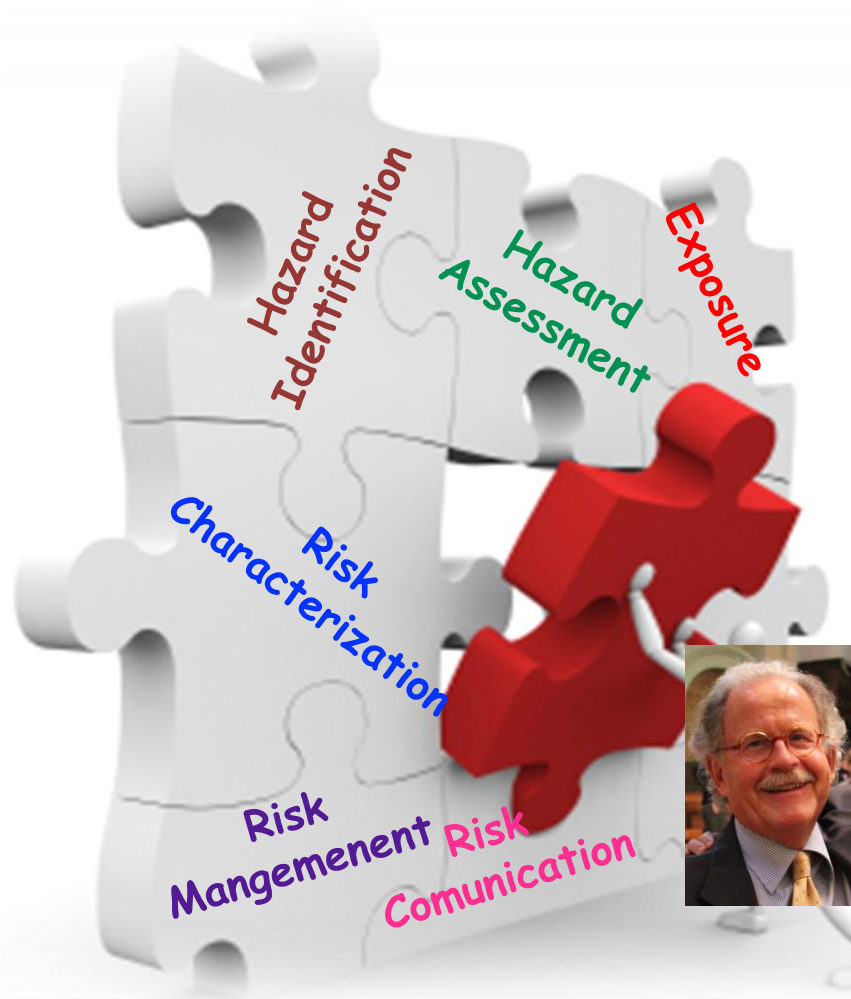


# MATRIX MATTERS : YES

B % Nucleoids BCD = damaged



# TAKE HOME MESSAGE



Weight of Evidence

Expert Judgement

