



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

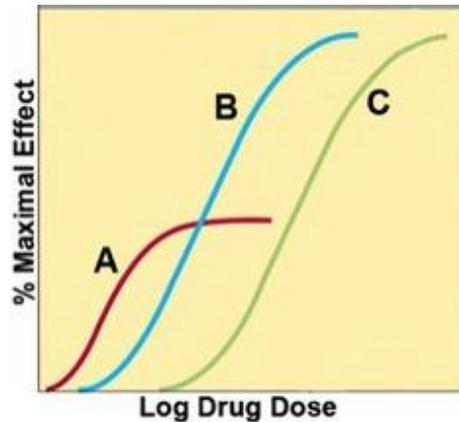
FIERA MICO - SALA GREEN 1



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?

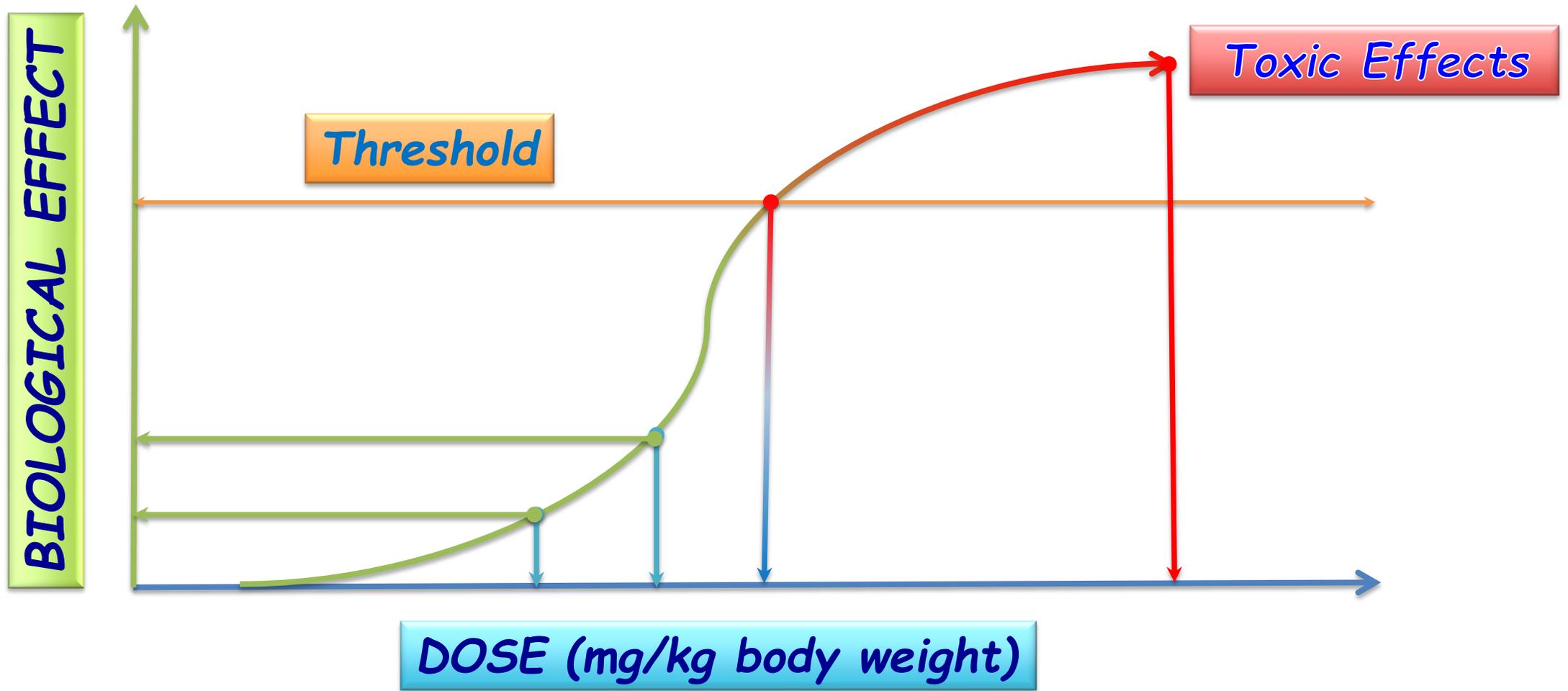
Who is susceptible?



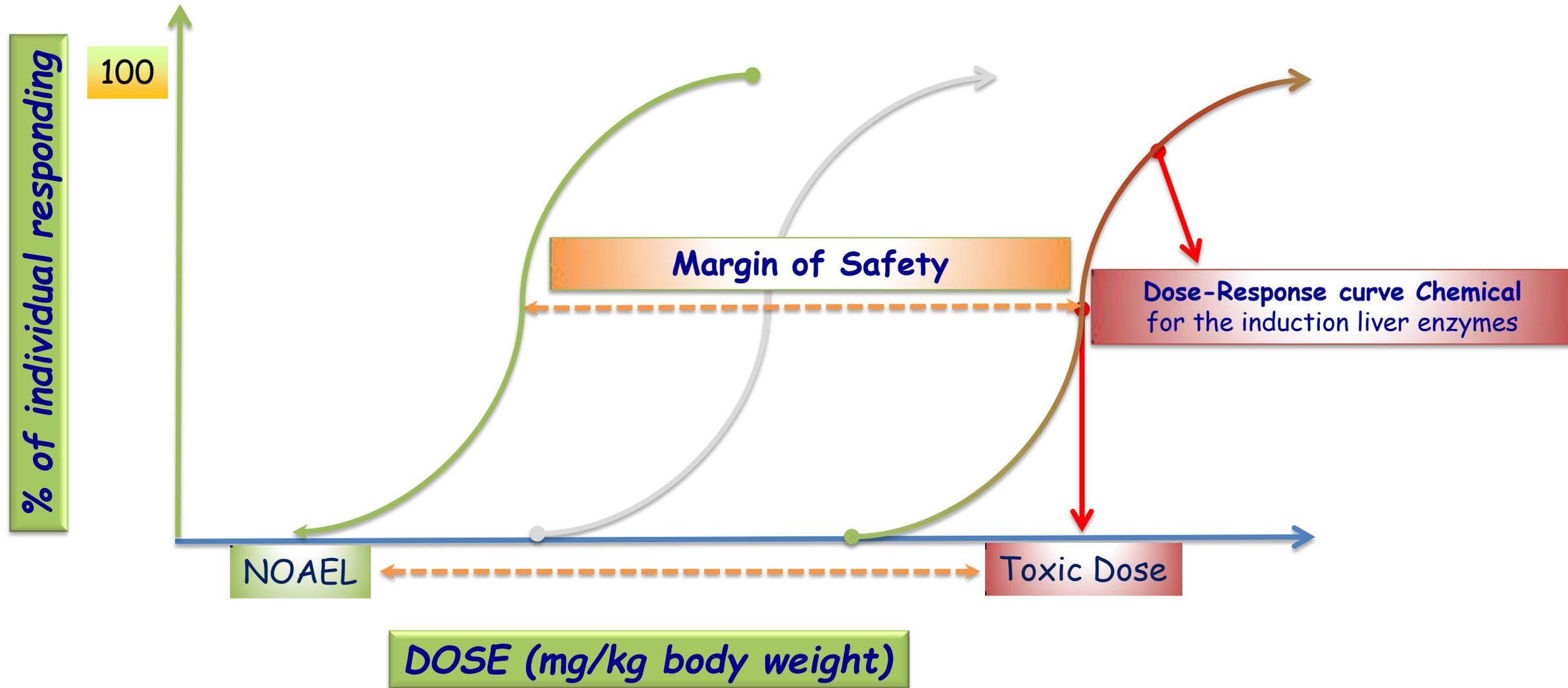
RISK ANALYSIS PARADIGM



DOSE - RESPONSE - CURVE

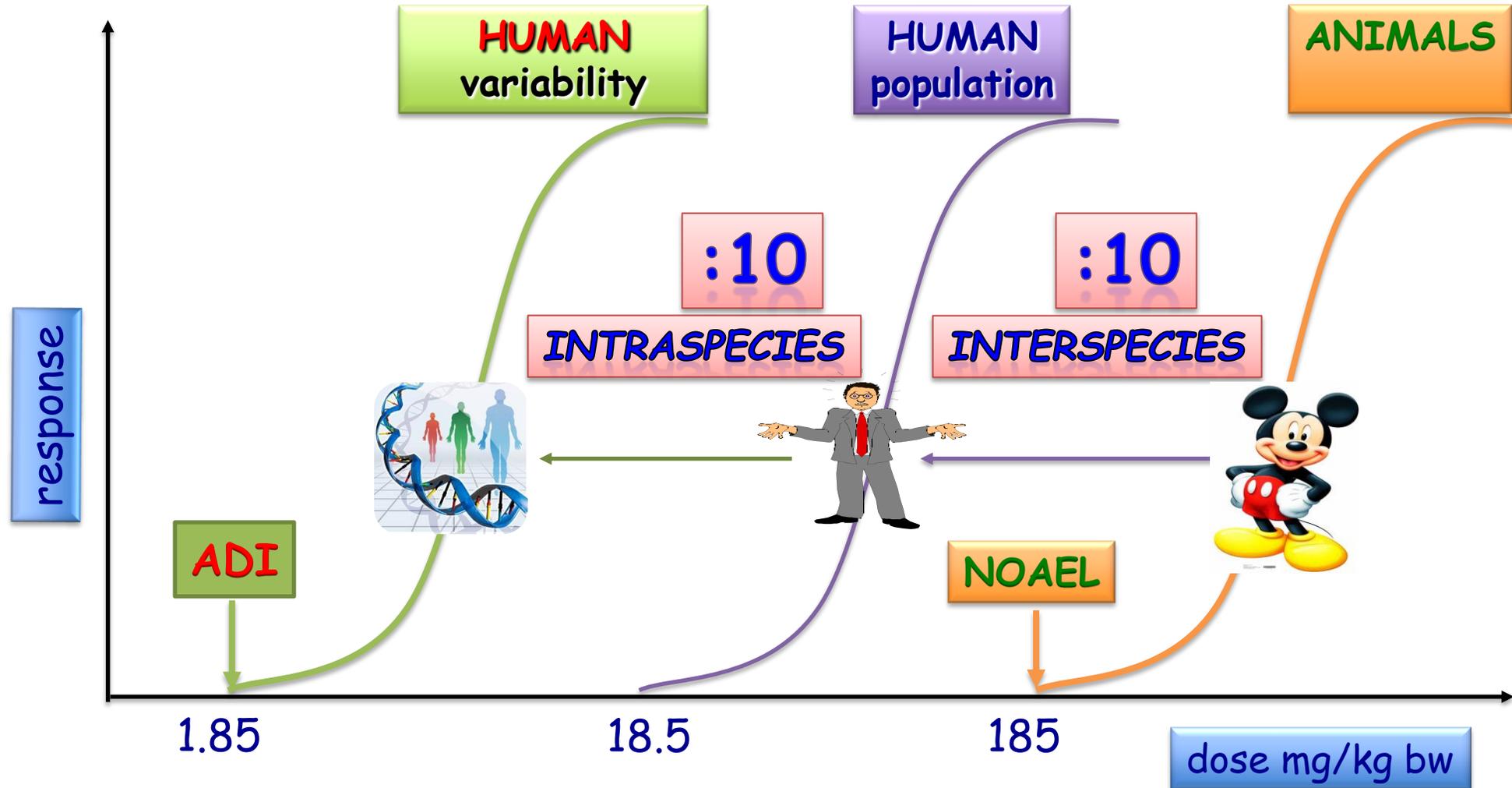


POINT of DEPARTURE (PoD): NO OBSERVED ADVERSE EFFECT (NOAEL)



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)

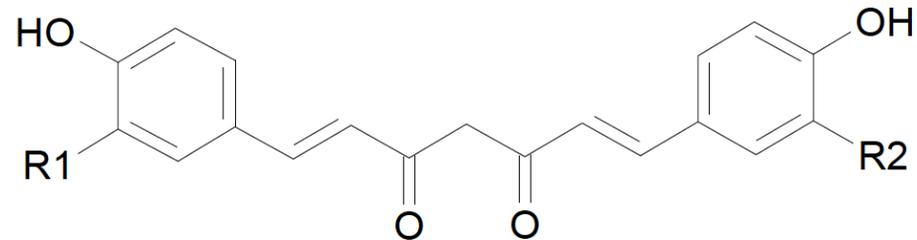


INTEGRATORE ALIMENTARE

- 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

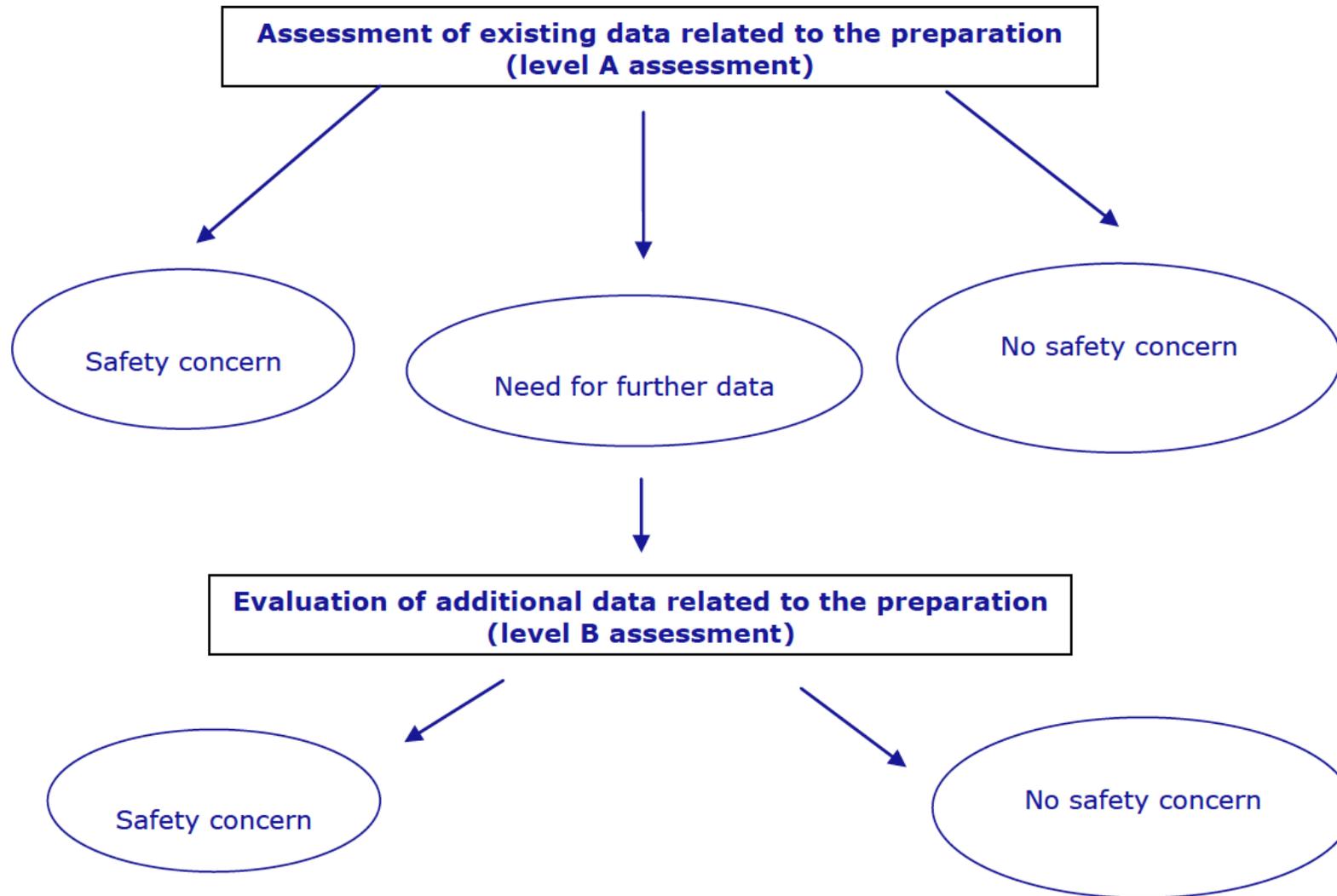
Guidance on Safety assessment of botanicals* and botanical preparations
intended for use as ingredients in food supplements¹**

EFSA Scientific Committee²



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*

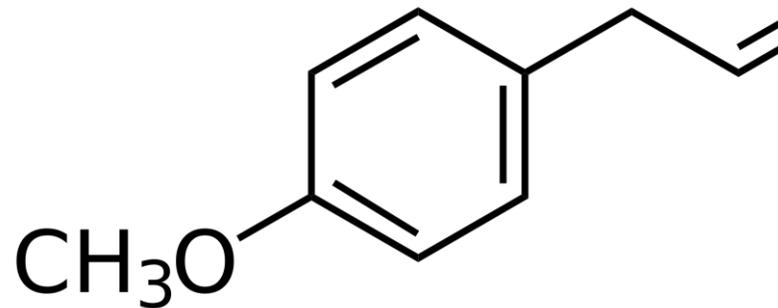
ostruzione delle vie biliari, colangiti, problemi di funzionalità epatica (danni epatici), calcoli biliari o altri problemi biliari'



?? 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

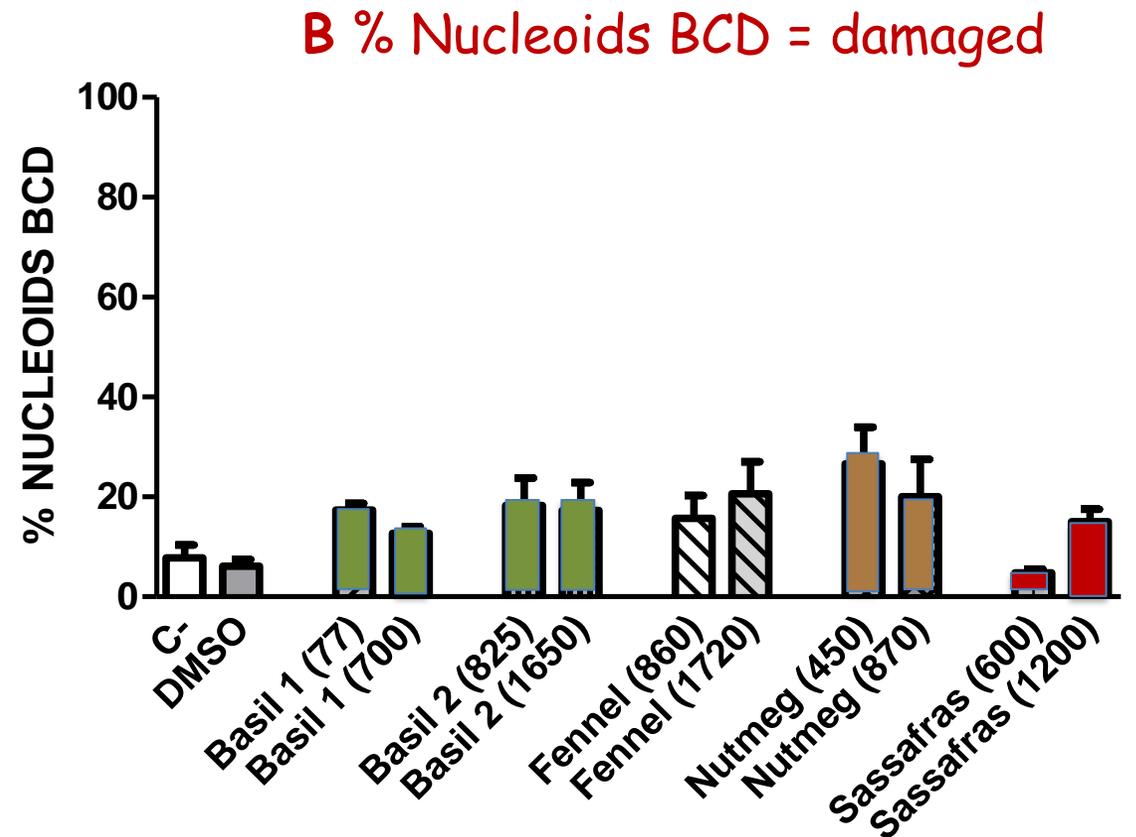
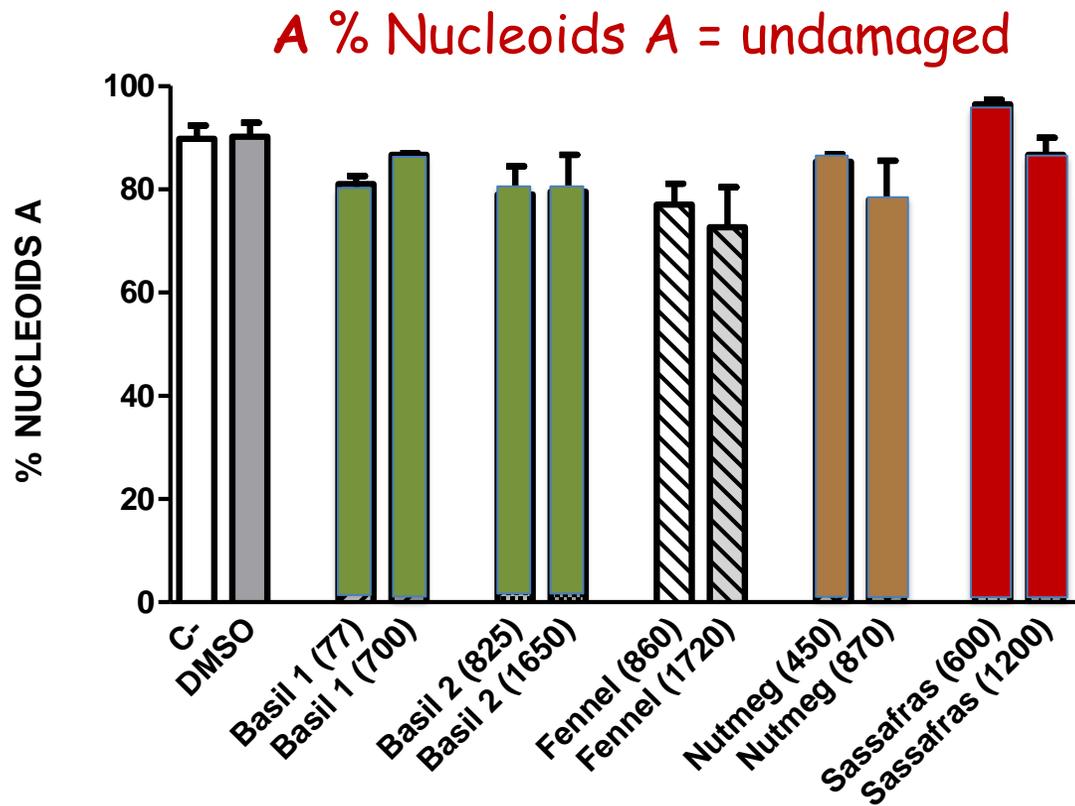
Linalool il principale costituente degli oli essenziali (56,7-60,6%),
epi- α -cadinolo (8,6-1,4%),
 α -bergamotene (7,4-9,2%),
 γ -cadinene (3,3- 5,4%),
germacrene D (1,1-3,3%) e
canfora (1,1-3,1%).

Inoltre, componenti come metilchavicol, methylcinnamat, **estragole**, linolen, eugenol, canfora, cis-geraniolo, 1,8-cineolo, α -bergamotene, β -cariofillene, germacrene D, γ -cadinene, epi- α -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 ($\mu\text{g/mL}$)

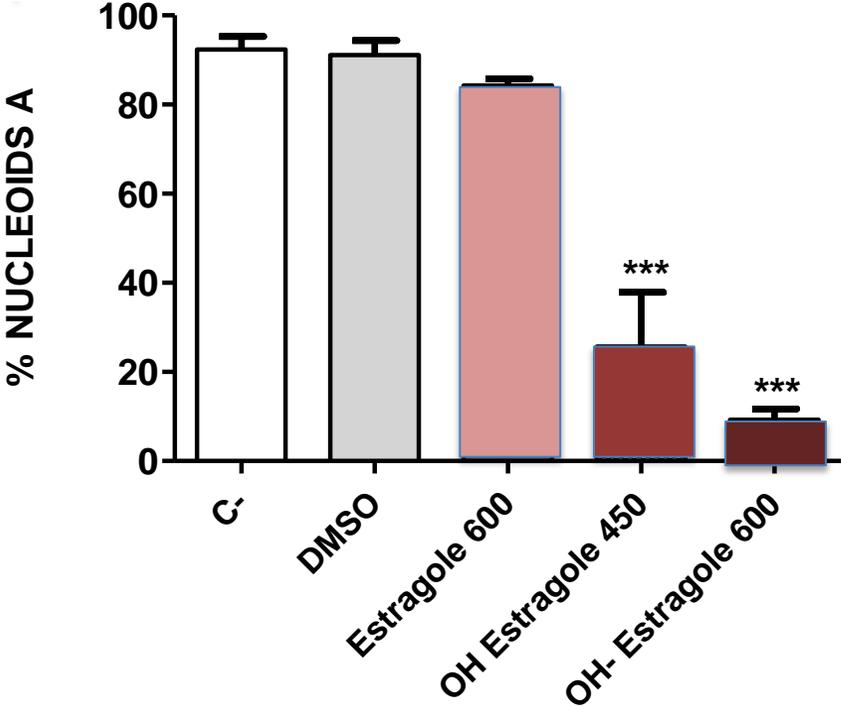


* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ vs C

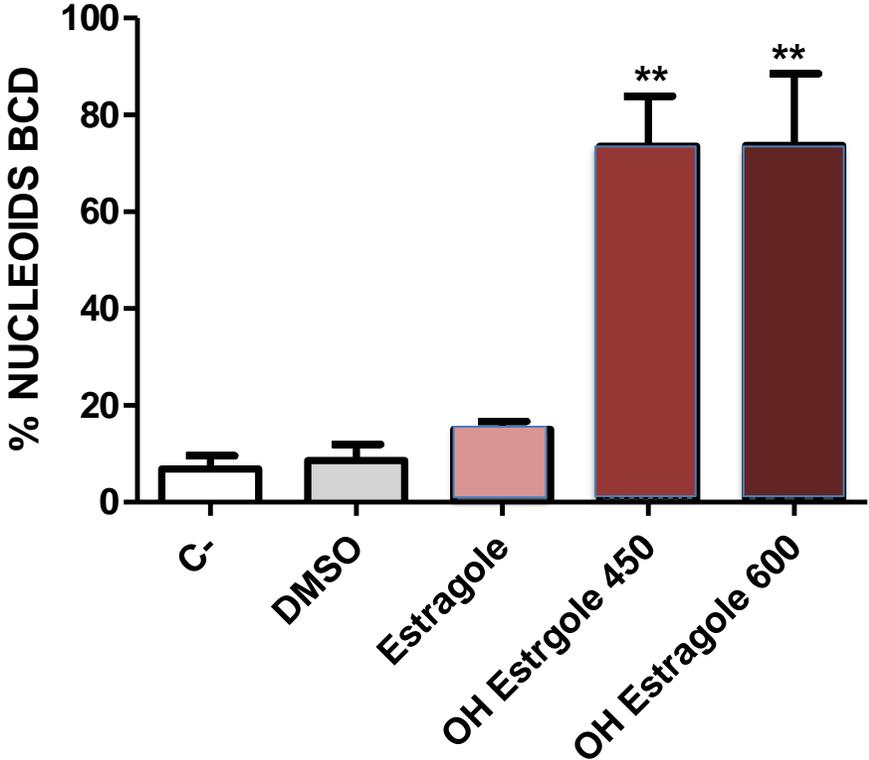


ALKALINE COMET TEST IN HEPG2 CELLS - ESTRAGOL (μM)

A % Nucleoids A = undamaged



B % Nucleoids BCD = damaged

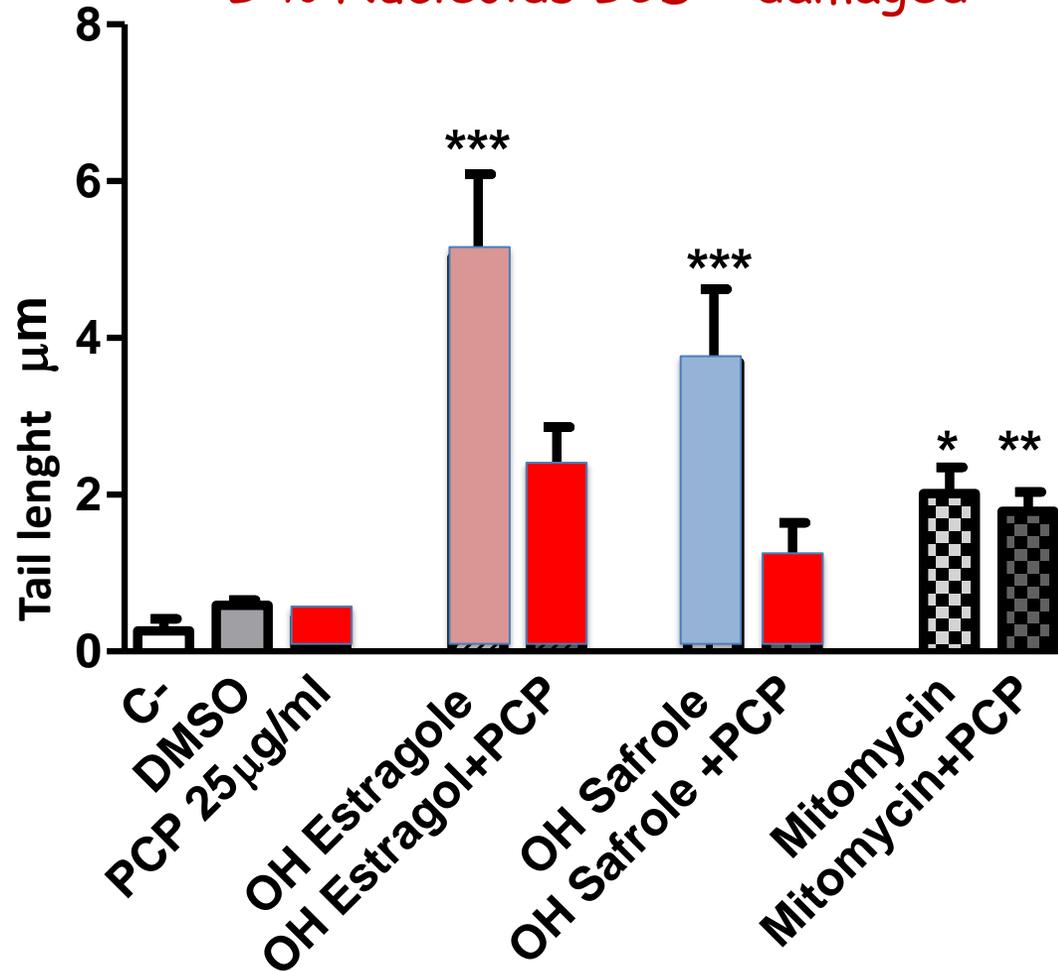


* p<0.05 **p<0.01 *** p<0.001 vs C



ALKALINE COMET TEST IN HEPG2 CELLS

B % Nucleoids BCD = damaged



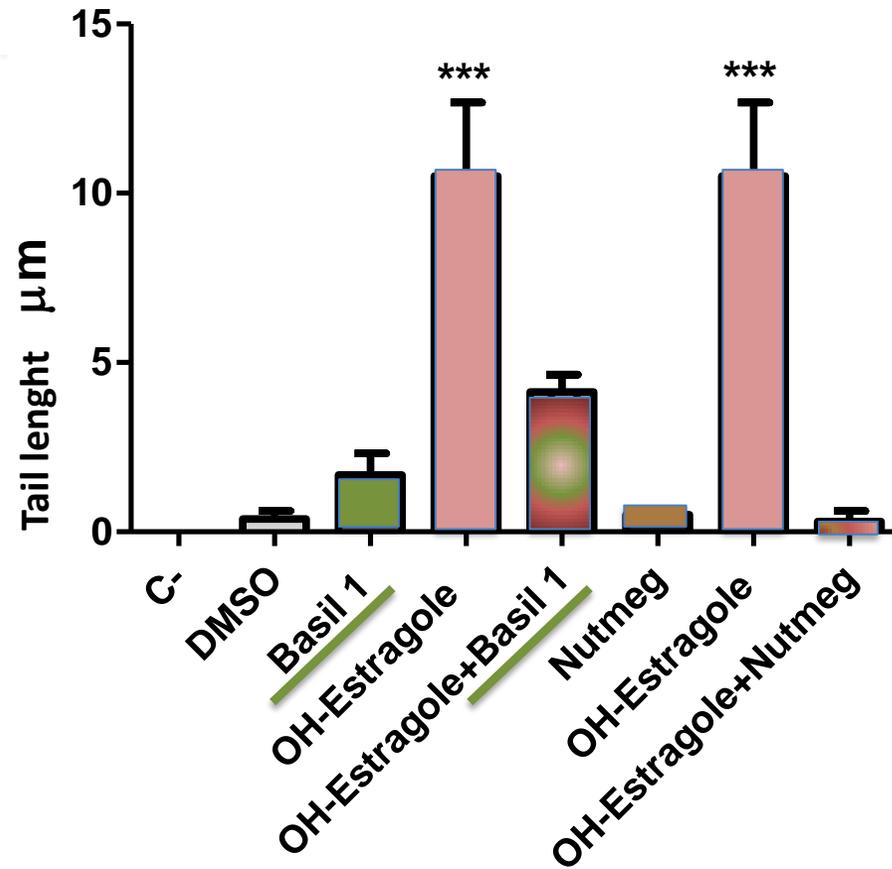
Pentachlorophenol (PCP), a substance which is able to inhibit sulfotransferase (SULTs) preventing the transformation of the 1-hydroxymetabolites to the ultimate carcinogenic 1'-sulfoxymetabolites

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



MATRIX MATTERS : YES

B % Nucleoids BCD = damaged



TAKE HOME MESSAGE

