

FIGURA 1. Portada del discurso de ingreso de S. Cañigüeral como Académico Numerario en la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, celebrado el día 14 de Octubre de 2013.

Salvador Cañigüeral Folcarà

Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia
 Facultat de Farmàcia
 Universitat de Barcelona
 Avda. Joan XXIII, s/n
 08028-Barcelona
 s.canigüeral@ub.edu

Medicamentos a base de plantas: el reto de la calidad y la Farmacopea como herramienta para alcanzarla

Resumen

La calidad de los medicamentos a base de plantas (MP) constituye un reto, principalmente por las dificultades ligadas a la variabilidad y complejidad de las drogas y preparados vegetales, el conocimiento limitado de sus constituyentes activos, la posibilidad de adulteraciones y contaminaciones, así como la influencia de los procesos de producción.

Se trata de un reto superable. Para ello es necesario tener la calidad como objetivo desde el inicio de la cadena productiva, establecer controles estrictos de todas las etapas, mejorar el conocimiento del producto, optimizar y validar los procesos de producción, trabajar bajo las directrices internacionales aceptadas y establecer especificaciones de calidad.

La Farmacopea Europea, en España dentro de la Real Farmacopea Española, constituye una herramienta clave para la superación del reto y el mantenimiento de altos niveles de calidad para los MP en la UE. Esto es así porque la Farmacopea Europea es un documento normativo actualizado, transparente, consensuado y armonizado por 37 países, que proporciona una colección singular de monografías y métodos para el análisis de drogas y preparados vegetales, siendo además un proveedor de sustancias de referencia.

Palabras clave

Plantas medicinales, drogas vegetales, preparados vegetales, medicamentos a base de plantas, calidad, Farmacopea Europea.

Medicamentos à base de plantas: o desafio da qualidade e a Farmacopeia como ferramenta para a alcançar

Resumen

A qualidade dos medicamentos à base de plantas (MBP) é um desafio, principalmente devido às dificuldades relacionadas com a variabilidade e complexidade dos fármacos e preparações vegetais, o conhecimento limitado dos seus constituintes activos, a possibilidade de adulteração ou contaminação, bem como a influência dos processos de produção.

Este é um desafio superável. Isso exige ter a qualidade como objectivo desde o início da cadeia de produção, estabelecer controlos rígidos em todas as etapas, melhorar o conhecimento do produto, otimizar e validar os processos de produção, trabalhar de acordo com as diretrizes internacionais aceites e estabelecer especificações de qualidade.

A Farmacopeia Europeia, em Espanha incluída na Real Farmacopeia Espanhola, é uma ferramenta fundamental para superar o desafio e manter elevados níveis de qualidade dos MBP na UE. Isso ocorre porque a Farmacopeia Europeia é um documento normativo actualizado, transparente, de consenso e harmonizado por 37 países, que oferece um conjunto único de monografias e métodos para a análise de fármacos e preparações vegetais, sendo também um fornecedor de substâncias de referência.

Palavras-chave

Plantas medicinais, fármacos vegetais, preparações vegetais, medicamentos à base de plantas, qualidade, Farmacopeia Europeia.

Introducción

Desde tiempos prehistóricos, la naturaleza ha sido la principal fuente de remedios que el hombre ha usado para atender sus necesidades terapéuticas y el mantenimiento de la salud. Esto todavía es así en las últimas décadas. Basado principalmente en datos de la FDA referidas a nuevas entidades químicas aprobadas como fármacos entre 1982 y 2010, Newman y Cragg⁽¹⁾ indican que, de un total de 1.355 un 50% provienen directa o indirectamente de fuentes naturales, ya sea porque son moléculas naturales o derivados semisintéticos de las mismas, o porque sus estructuras son miméticas de naturales y/o contienen un farmacóforo originario de un producto natural.

Además de los medicamentos preparados con estas entidades químicas, tanto en EE.UU. como en otros países,

Herbal medicinal products: the challenge of the quality and the Pharmacopoeia as a tool for achieving it

Abstract

The quality of herbal medicinal products (HMP) is a challenge, mainly due to the difficulties linked to the variability and complexity of herbal drugs and herbal preparations, the limited knowledge of their active constituents, the possible adulterations and contaminations, as well as the influence of the production processes.

This is a surmountable challenge. This requires having the quality as an objective from the beginning of the production chain, to establish strict controls on all stages, to improve the knowledge of the product, to optimize and to validate the production processes, to work under accepted international guidelines and to establish quality specifications.

The European Pharmacopoeia, in Spain in the Royal Spanish Pharmacopoeia, is a key tool to overcome the challenge and maintaining high levels of quality of HMP in the EU. This is because the European Pharmacopoeia is an updated and transparent regulatory document, harmonized and agreed by 37 countries, which provides a unique collection of monographs and methods for the analysis of herbal drugs and preparations, and is also a provider of reference substances.

Keywords

Medicinal plants, herbal drugs, herbal preparations, herbal medicinal products, quality, European Pharmacopoeia.

se utilizan con fines preventivos y terapéuticos numerosos productos a base de drogas vegetales y productos extractivos obtenidos de las mismas. En los EE.UU., estos preparados sólo excepcionalmente se comercializan en forma de medicamento: recientemente, sólo se han aprobado dos, un extracto de té verde (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) para verrugas genitales y perianales, en 2006, y un preparado obtenido a partir de la sangre de drago (látex de *Croton lechleri* Müll. Arg.) para las diarreas en pacientes con SIDA, a finales del 2012⁽²⁾. La Unión Europea, sin embargo, dispone de una legislación armonizada y bien desarrollada sobre medicamentos a base de plantas, que facilita el desarrollo y comercialización de medicamentos en este ámbito.

Según la Directiva 2004/24/CE⁽³⁾ de la UE, los *medicamentos a base de plantas* (MP) son medicamentos que contie-

nen como ingredientes activos exclusivamente sustancias vegetales (drogas vegetales, de acuerdo con la nomenclatura de la Farmacopea Europea) o preparados vegetales (llamados preparados a base de drogas vegetales en la Farmacopea Europea) o mezclas de los mismos ⁽⁴⁾.

Los preparados a base de drogas vegetales son preparados homogéneos que se obtienen sometiendo las drogas vegetales a tratamientos como extracción, destilación, prensado, fraccionamiento, purificación, concentración o fermentación. Quedan incluidos, por ejemplo, drogas vegetales trituradas o pulverizadas, tinturas y otros tipos de extractos (fluidos, blandos, secos), aceites esenciales, jugos obtenidos por expresión así como exudados tratados. ⁽⁴⁾.

La Directiva 2004/24/CE ⁽³⁾, también establece un tipo de medicamentos denominados *medicamentos tradicionales a base de plantas* (MTP), que son aquellos MP que cumplen algunos requisitos específicos, entre los que se encuentran: administración exclusivamente por vía oral, externa o inhalación; ser concebidos para un uso sin necesidad de control por un facultativo médico, indicación apropiada exclusivamente para uso tradicional, y demostración de un uso farmacológico durante un período mínimo de 30 años, de los cuales al menos 15 en la UE. Estos medicamentos pueden contener también vitaminas y minerales.

Como ya lo hemos expuesto en otras ocasiones ⁽⁵⁻⁷⁾, para el desarrollo racional de la Fitoterapia, entendida como la que pretende conseguir un uso apropiado de los preparados a base de plantas en terapéutica, es necesario poner a disposición de los profesionales de la salud herramientas de información rigurosas y fiables, oportunidades de formación tanto en los estudios de grado como en los de postgrado y formación continuada y disponer de productos que tengan garantizadas la calidad, la seguridad y la eficacia. Los medicamentos a base de plantas reúnen estas condiciones.

Efectivamente, tanto los MP como los MTP deben demostrar calidad, seguridad, así como un nivel de evidencia de la eficacia adecuado a la indicación reivindicada. Para este tipo de medicamento, la Agencia Europea del Medicamento (EMA, *European Medicines Agency*) admite que el dossier de registro, en determinadas circunstancias, pueda ser bibliográfico o simplificado en cuanto a la información preclínica y clínica sobre eficacia y seguridad. Por ejemplo, en el caso de preparados vegetales con un uso médico bien establecido o con un uso tradicional bien documentado. En este sentido, las monografías de seguridad y eficacia de

drogas vegetales y sus preparados que desde 1996 ha ido publicando ESCOP (*European Scientific Cooperative on Phytotherapy*) han representado una aportación de gran valor y utilidad, tanto para los laboratorios comercializadores como para los profesionales de la salud ^(8,9). También, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado 117 monografías con información sobre eficacia, seguridad y calidad ⁽¹⁰⁻¹³⁾ y la *American Herbal Pharmacopoeia*, una treintena. Finalmente, la misma EMA está publicando monografías comunitarias de drogas vegetales, elaboradas por su Comité de Medicamentos a base de plantas (HMPC, *Herbal Medicinal Products Committee*), donde se establece claramente las indicaciones que la EMA acepta para cada preparado de las mismas.

En cuanto a la calidad, la Directiva 2004/24/CE ⁽³⁾ establece que es independiente del posible uso tradicional del medicamento a base de plantas y que, en consecuencia, no se deben hacer excepciones con respecto a las pruebas fisicoquímicas, biológicas y microbiológicas necesarias para demostrarla. Los productos deben cumplir los requisitos de calidad de las monografías pertinentes de la Farmacopea Europea o los relativos a la farmacopea de un Estado miembro determinado.

La importancia de la calidad, la seguridad y la eficacia como factores clave a tener en cuenta en el desarrollo de medicamentos a base de plantas, la revisamos en un artículo publicado en 2008 ⁽⁶⁾. La calidad, justamente, es imprescindible para garantizar la reproducibilidad lote a lote de la seguridad y la eficacia ⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. Las plantas, las drogas vegetales y preparados que se obtienen tienen unas particularidades que hacen que existan una serie de factores que pueden comprometer la calidad. Estas dificultades, sin embargo, son superables si la calidad se toma como un objetivo desde las primeras etapas del proceso de desarrollo del medicamento.

En el presente trabajo queremos revisar, precisamente, cuáles son las principales dificultades ligadas a la calidad de los medicamentos a base de plantas, cómo se pueden superar y cómo la Farmacopea Europea, en España dentro de la Real Farmacopea Española, contribuye al establecimiento y mantenimiento de altos niveles de calidad de estos medicamentos en la UE.

El reto de la calidad

Buena parte del desarrollo de nuevos medicamentos está dedicado a moléculas puras obtenidas por síntesis o mediante el aislamiento y purificación a partir de fuentes

naturales. En cambio, los ingredientes activos de los medicamentos a base de plantas son preparados constituidos por mezclas complejas de moléculas, como drogas vegetales y preparados a base de drogas vegetales obtenidos, generalmente, por extracción con disolventes (extractos) o destilación (aceites esenciales). Además, en algunos casos, los principios activos de las drogas vegetales no han sido identificados o sólo lo están parcialmente. Esto hace que el control de calidad de MP y MTP sea más difícil que en el caso de los fármacos sintéticos.

Otros factores, como la variabilidad inherente a los materiales biológicos o la influencia de los procesos de producción (recolección, tratamientos post-cosecha, extracción) pueden tener una repercusión importante en la calidad del producto final. Por ello, la calidad sólo se puede conseguir si se toma como un objetivo desde las primeras etapas del proceso de desarrollo del medicamento. En la TABLA 1 se resumen las principales dificultades vinculadas a la definición y mantenimiento de la calidad en el desarrollo de los medicamentos a base de plantas⁽⁶⁾. Estas dificultades serán analizadas en los siguientes apartados.

Variabilidad de los materiales biológicos

Las drogas vegetales son materiales biológicos con una inherente variabilidad y diversidad química. El conocimiento de esta variabilidad hará posible disponer de material vegetal adecuadamente seleccionado, optimizar los tratamientos agronómicos y escoger las mejores condiciones para la recolección. Esto es necesario para obtener drogas vegetales con una calidad elevada y homogénea, y mantenerla lote a lote.

1. Variabilidad de los materiales biológicos (biodiversidad, quimiotipos, etc.).
2. Influencia de los procesos de recolección y tratamiento post-cosecha (secado, almacenaje, etc.).
3. Complejidad de la composición de las drogas y preparados vegetales.
4. Constituyentes activos a veces desconocidos o sólo parcialmente conocidos.
5. Proceso de extracción.
6. Posibles contaminaciones (adulteraciones, metales pesados, pesticidas, etc.).

TABLA 1. Dificultades asociadas a la definición y mantenimiento de la calidad en los medicamentos a base de plantas⁽⁶⁾.

Las diferencias de composición que se pueden observar para una determinada especie y droga vegetal, pueden ser tanto cualitativas como cuantitativas. Los factores que intervienen pueden dividirse en extrínsecos (por ejemplo, relacionados con el suelo, clima, ubicación geográfica, estacionalidad, ritmo circadiano, etc.) e intrínsecos (edad, estadio vegetativo, patrimonio genético, etc.). Buena parte de estos factores han sido revisados por Gobbo-Neto y Lopes⁽¹⁸⁾, así como por Salueiro *et al.*⁽¹⁹⁾. La FIGURA 1 los resume.

- Factores extrínsecos

Recolectar la droga en el momento adecuado constituye un factor clave para la calidad, ya que el contenido de principios activos puede estar sometido tanto a variaciones estacionales como variaciones circadianas.

Se ha visto que las **variaciones estacionales** pueden afectar la mayor parte de grupos de metabolitos secundarios: iridoideos, lactonas sesquiterpénicas, aceites esenciales, saponinas, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos, alcaloides, heterósidos cianogénicos, glucosinolatos, etc.⁽¹⁸⁾.

Así, por ejemplo, según Southwell y Bourke⁽²⁰⁾, las concentraciones de hipericinas totales (hipericina y pseudohipericina) en la sumidad de hipérico (*Hypericum perforatum* L.), empleada en el tratamiento de depresiones leves y moderadas, varía desde un 0,01% en invierno hasta más del 0,3% en verano, máximo que en uno de los dos biotipos investigados llega al 0,5% (siempre respecto a material vegetal desecado) (FIGURA 2).

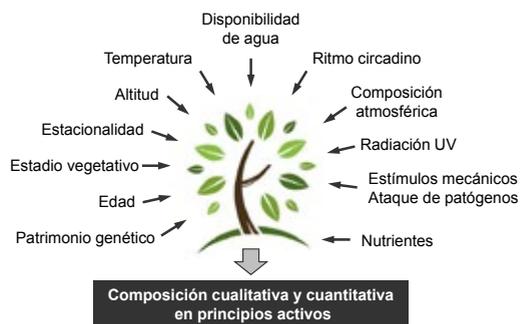


FIGURA 1. Principales factores extrínsecos e intrínsecos que pueden afectar la composición cualitativa y cuantitativa de una droga vegetal.

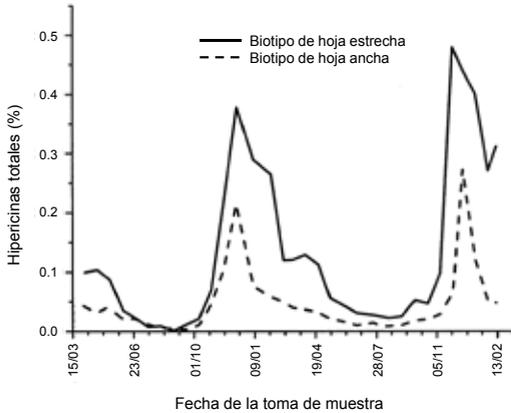


FIGURA 2. Variaciones estacionales (experimento realizado en Australia) del contenido de hipericinas totales (hipericina y pseudohipericina) en la sumidad de hipérico (adaptado de Southwell y Bourke ⁽²⁰⁾).

También en el caso de los ginsenosidos, grupo de saponinas triterpénicas, la mayoría de ellas derivadas del núcleo del dammarano, que se consideran los principales compuestos activos de la raíz de ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer), se ha encontrado que su contenido aumenta en verano ⁽²¹⁾.

En el caso de la raíz de valeriana (*Valeriana officinalis* L.), en un estudio realizado entre 1989 y 1993, Bos *et al.* ⁽²²⁾ observaron que, independientemente de importantes variaciones de año en año, el contenido máximo de aceite esencial en la raíz se encontraba en septiembre, situándose entre un 1,2% y un 2,1% (v/p) con respecto a peso seco. Durante los periodos vegetativos investigados, la composición del aceite esencial se mantuvo más o menos constante. En cuanto al ácido valerénico y derivados, y los valepotriatos, alcanzaron su máximo en febrero-marzo, con contenidos del 0,7 al 0,9% y del 1,1 al 1,4%, respecto a peso seco, respectivamente.

Existen suficientes estudios que demuestran la importancia del **ritmo circadiano** en el contenido de diferentes grupos de metabolitos secundarios, como aceites esenciales, iridoides, alcaloides, heterosidos cianogenéticos y glucosinolatos ⁽¹⁸⁾. Así, por ejemplo, el contenido de eugenol en el aceite esencial de *Ocimum gratissimum* L. (quimiotipo eugenol) varía desde un 98% a las 12:00 h hasta un 11% a las 17:00 h, demostrando la importancia de la luz solar en la producción de eugenol ⁽²³⁾.

El clima puede condicionar parámetros como la temperatura y la disponibilidad hídrica. Las plantas, generalmente, son capaces de sobrevivir en un amplio rango de **temperaturas**. Sin embargo, su desarrollo y, por tanto, la producción de principios activos pueden verse afectados por los márgenes entre los que varían estas temperaturas a lo largo del día, el mes o el año. Sin embargo, tal vez porque la temperatura es generalmente una consecuencia de otros factores como la altitud y la estacionalidad, no hay muchos estudios sobre su influencia aislada en la producción de metabolitos secundarios ⁽¹⁸⁾.

Un ejemplo interesante está en la producción de artemisinina en *Artemisia annua* L. La artemisinina es una lactona sesquiterpénica con un endoperóxido que se obtiene de las hojas de esta especie. Tiene actividad antimalárica frente a *Plasmodium falciparum* y *P. vivax*, incluyendo cepas multiresistentes a otros fármacos. Después de un estrés metabólico causado por una helada, se produjo un aumento de un 58% en el contenido de artemisinina, concomitante con una disminución del ácido dihidroartemisinínico, su precursor biosintético ⁽²⁴⁾.

La **disponibilidad de agua** está relacionada con el índice pluviométrico anual, la distribución de lluvias a lo largo del año, su efecto en la humedad ambiental, así como la capacidad de absorción de agua del suelo. Se han observado tanto correlaciones positivas del índice pluviométrico con la producción de metabolitos secundarios (por ejemplo, en algunas saponinas de *Phytolacca dodecandra* L'Hér.) como negativas (como en el caso de algunos componentes del aceite esencial de *Santolina rosmarinifolia* L.) ⁽¹⁸⁾.

En el caso del hipérico (*Hypericum perforatum* L.), Gray *et al.* ⁽²⁵⁾ demostraron que las plantas sometidas a estrés hídrico mostraban un incremento del contenido de hipericinas, flavonoides (rutósido, hiperósido, isoquercitrina, quercitrina y quercetina) y ácido clorogénico en las flores, al tiempo que se observaba una disminución de la concentración de hiperforina y adhiperforina, por comparación con las plantas control, bien hidratadas.

La **altitud y la radiación UV**, que no siempre se pueden separar la una de la otra, también pueden influir el contenido de principios activos. En particular, se ha observado una correlación positiva del contenido de flavonoides tanto con la altitud como con el aumento de la radiación UV. Este hecho se puede relacionar con la capacidad de estos compuestos de actuar como pantalla protectora frente de radiaciones UV B, sin alterar el aprovechamiento por parte

de la planta de las radiaciones fotosintéticamente activas. Esta correlación positiva con la radiación UV también se ha observado con otros polifenoles, como taninos y antocianósidos. Otros compuestos no fenólicos, como por ejemplo los iridoideos, se pueden ver afectados por la altitud: así, Darrow y Bowers ⁽²⁶⁾ encontraron que el contenido en capapol (iridoide heterosídico) de las hojas y tallos florales de *Plantago lanceolata* L. era significativamente más alto en plantas recolectadas en altitudes de unos 2300 m que a 1600 m.

En cuanto a la **composición atmosférica**, la concentración de CO₂ puede favorecer la producción de biomasa así como de algunos metabolitos secundarios. Así, Peñuelas y Llusà ⁽²⁷⁾ demostraron que concentraciones supra-atmosféricas de CO₂ favorecían el crecimiento del romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y producía un ligero incremento en la producción de terpenos volátiles con diferencias máximas que alcanzaban el 53% y el 36%, respectivamente. Otro ejemplo lo tenemos en la digital lanada (*Digitalis lanata* L.), que cultivada en una atmósfera enriquecida en CO₂ (1000 ppm) produjo el doble de biomasa con una concentración de digoxina 1,75 veces superior que en atmósfera normal ⁽²⁸⁾. En cambio, Fajer *et al.* ⁽²⁹⁾ encontraron que la producción de iridoideos en *Plantago lanceolata* L. era igual o menor en atmósfera enriquecida en CO₂ que en atmósfera normal.

Algunos autores también señalan que el metabolismo secundario puede ser sensible a algunos **estímulos mecánicos**, como heridas y daños causados por herbívoros o el **ataque de patógenos**, de manera que provocan una respuesta bioquímica destinada a reducir la aceptabilidad del órgano o de todo el organismo en caso de nuevos ataques. Finalmente, los **nutrientes** del suelo pueden influir en el desarrollo y el metabolismo de la planta. La producción global de metabolitos nitrogenados (alcaloides, heterósidos cianogenéticos, etc.) normalmente aumenta con una mayor disponibilidad de nitrógeno en el suelo, a la vez que ésta está correlacionada con una disminución de metabolitos fenólicos. En general, el estrés nutricional hace aumentar la producción de metabolitos secundarios, excepto cuando hay deficiencia de nitrógeno o azufre, situación en la cual disminuye la producción de metabolitos que contengan estos elementos ⁽¹⁸⁾.

- Factores intrínsecos

Varios factores inherentes a la propia planta, y a menudo a su **patrimonio genético**, tienen una influencia capital en su composición cuali y cuantitativa y, por tanto, el

contenido de principios activos puede verse notablemente afectado.

Uno de los más destacables es el polimorfismo químico, que hace que dentro de un mismo taxón existan **quimiotipos** o razas químicas. Estos se definen como grupos o poblaciones de individuos con un mismo fenotipo, y por tanto con una misma morfología externa, pero con un genotipo diferenciado que les hace tener composiciones químicas diferentes. Generalmente, los quimiotipos reciben el nombre del constituyente que más les caracteriza. Es evidente que esta variabilidad, si no se tiene en cuenta, puede afectar a la eficacia y, posiblemente, la seguridad del producto final. Si bien la existencia de quimiotipos en las plantas que contienen aceites esenciales ha sido probablemente la más estudiada, también se han descrito quimiotipos en relación con otros grupos de metabolitos secundarios con interés farmacológico, como alcaloides o flavonoides.

Un ejemplo clásico de la existencia de quimiotipos se encuentra en el tomillo ^(30, 31). En el caso de *Thymus vulgaris* L. se conocen siete quimiotipos en relación con la composición de su aceite esencial: 1,8-cineol, geraniol, linalol, α -terpineol, *trans*-tuyan-4-ol / terpinen-4-ol, carvacrol, y timol. Esta especie y *Thymus zygis* L., un endemismo ibérico para el que se han descrito un buen número de quimiotipos en relación con su aceite esencial, son las dos especies aceptadas en la Farmacopea Europea ⁽⁴⁾ para la producción de tomillo como droga vegetal. Ahora bien, sólo los quimiotipos ricos en timol y/o carvacrol podrán cumplir la especificación de la Farmacopea para el tomillo. Ésta exige un contenido mínimo de aceite esencial del 1,2% (v/p) y que éste contenga como mínimo un 40% del conjunto de fenoles constituido por timol y carvacrol. Estos dos compuestos son los principales responsables de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de tomillo.

Otro ejemplo interesante lo encontramos en la raíz de fécula (*Ferula communis* L.), en la que se han descrito dos quimiotipos, uno venenoso, debido a la presencia de prenil-cumarinas y otro no tóxico, que se caracteriza por la presencia de ésteres del daucano ⁽³²⁾.

Las variaciones pueden ser debidas también a diferencias en el **estadio vegetativo** y la edad de la planta en el momento de la recolección. No siempre es fácil separar estos factores de variaciones estacionales, por ejemplo en caso de plantas anuales.

Los ésteres de las lactonas sesquiterpénicas helenalina y dihidrohelenalina se consideran los principios activos de la

flor de árnica (*Arnica montana* L.), cuyos preparados se utilizan como antiinflamatorios por vía externa. Por una parte, se ha visto que existen dos quimiotipos, uno donde predominan ésteres de helenalina y otro donde son mayoritarios los de la dihidrohelenalina⁽³³⁾. Por otra parte, Schmidt *et al.*⁽³⁴⁾ han observado que pueden existir variaciones ligadas al estadio vegetativo: así, hay plantas jóvenes que acumulan principalmente derivados del helenalina, cuya concentración, sin embargo, se reduce casi a cero unas seis semanas después de la formación de las hojas, al tiempo que se observa un gran aumento de los derivados de la dihidrohelenalina.

Influencia de los procesos de cultivo, recolección y tratamiento post-cosecha

Las drogas vegetales se pueden obtener a partir de **plantas silvestres** o de **plantas cultivadas**. Cada una de estas fuentes de suministro tiene ventajas e inconvenientes^(6, 35). Para la industria farmacéutica es preferible el material de cultivo, ya que permite un mejor control de la cadena de producción, disminuye el riesgo de adulteraciones y falsificaciones, así como la variabilidad química. Justamente, buena parte de los factores expuestos en el apartado anterior que afectan a la variabilidad del material vegetal pueden controlarse si la producción de la droga vegetal se hace mediante cultivo. Este permite disponer de material de propagación seleccionado, controlado y homogéneo, aplicar técnicas agronómicas optimizadas, mejorar la trazabilidad del proceso, así como mantener un suministro más fiable y, consecuentemente, precios más estables. Las desventajas de los cultivos son que la droga vegetal producida suele ser más cara que la recolectada a partir de plantas silvestres, ya que se requiere hacer una inversión tanto antes como durante el proceso de cultivo. Además, muchas especies vegetales no son fáciles de cultivar o tienen crecimiento lento y, por lo tanto, no resultan económicamente interesantes para los productores.

Dado que la recolección de material de origen silvestre necesita menos infraestructura e inversión, suele ser menos costoso que el obtenido de cultivos. La recolección silvestre tiene sentido cuando el tamaño del mercado para una determinada droga vegetal es pequeño y, por tanto, el cultivo de la planta no sería económicamente viable. En España, la recolección de plantas aromáticas y medicinales silvestres en 2010 fue de 3.528 toneladas, unas 700 menos que en 2009, que fue de 4.243 toneladas^(36, 37)

No obstante, hay que subrayar que en ciertos casos la recolección a partir de plantas silvestres puede comprometer la sostenibilidad: las plantas de crecimiento lento, las que tienen una distribución limitada o aquellas de las que se recolectan las raíces o las cortezas, son susceptibles a la sobreexplotación. Además, la recolección silvestre suele proporcionar drogas vegetales menos homogéneas y conlleva un riesgo mayor de adulteración, por ejemplo, con plantas del mismo género que tengan características morfológicas similares y crezcan en la misma zona⁽³⁵⁾. Para la detección de estas adulteraciones es necesario disponer de un buen sistema de control de calidad.

Un ejemplo relativamente reciente de la importancia de este control es el caso de la adulteración o falsificación del anís estrellado (badiana de China, fruto de *Illicium verum* Hook. F.) por el fruto de *Illicium anisatum* L. (sinónimos: *I. japonicum* Sieb, *I. religiosum* Sieb) o badiana de Japón. La badiana de China contiene un aceite esencial rico en *trans*-anetol (FIGURA 3) y no comporta problemas de seguridad mientras se haga un uso adecuado. La badiana de Japón, en cambio, prácticamente no contiene *trans*-anetol y tiene efectos tóxicos neurológicos y gastrointestinales debido a su contenido en el sesquiterpeno anisatina (FIGURA 3). Durante la reciente epidemia de gripe aviar se pusieron en marcha, por parte de varios gobiernos, acciones para crear una reserva importante del antiviral oseltamivir (Tamiflu®). Este fármaco se produce por semisíntesis a partir del ácido siquímico, compuesto que se obtiene principalmente de la badiana de China y de la badiana de Japón. La distinción entre las dos badianas no es motivo de preocupación para la extracción del ácido siquímico, pero es trascendental para el uso medicinal o alimenticio. Con una demanda creciente de ácido siquímico, la situación se complicó aún

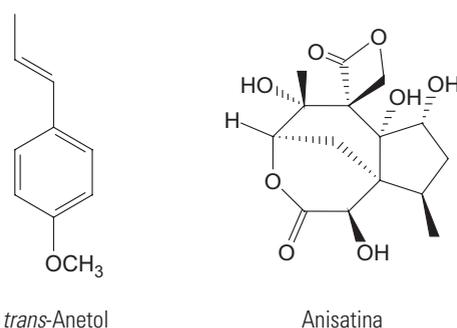


FIGURA 3. Estructuras del *trans*-anetol y la anisatina.

más cuando los cultivos de badianeros fueron casi completamente destruidos por una serie de tormentas tropicales severas. Parece que todo ello provocó que llegaran a Europa y también a EEUU partidas de anís estrellado adulterado con badiana de Japón, que causó problemas de intoxicaciones. Actualmente, existen varios métodos que permiten detectar la adulteración, más allá de las diferencias morfológicas, que no siempre se pueden utilizar ^(38, 39). La Farmacopea Europea ⁽⁴¹⁾ incluye tanto un ensayo morfológico como un análisis por cromatografía en capa fina para la detección de posibles adulteraciones del anís estrellado con frutos de *I. anisatum* y de otras especies de *Illicium*.

Independientemente de si la droga proviene de plantas silvestres o cultivadas, hay varios factores relacionados con la **recolección** y el **procesamiento post-cosecha** que pueden afectar la calidad de la droga vegetal y, consecuentemente, la de los preparados que se obtienen así como la eficacia clínica de los productos finales fabricados. A la hora de seleccionar cuál es el mejor momento para la recolección hay que tener en cuenta las variaciones estacionales, las circadianas, la edad y el estadio vegetativo de la planta, factores que ya se han tratado antes. Hay que encontrar las mejores condiciones para optimizar el rendimiento en biomasa y en principios activos.

La parte de la planta que se recolecta es importante. Por ejemplo, el contenido de aceite esencial de sumidad y hoja de melisa (*Melissa officinalis* L.) es diferente dependiendo de la altura de corte en el momento de la cosecha. El contenido de aceite esencial (volumen/peso) varía del 0,06% en la parte aérea entera al 0,13% en el tercio superior de la planta, y del 0,14% en las hojas de la parte aérea entera al 0,39% en las hojas del tercio superior de la planta ⁽⁴⁰⁾.

Los ginsenósidos, principios activos de la raíz de ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer) están presentes en mayor concentración en las raíces adventicias, no tanto en las raíces laterales, aun menos en la raíz principal, y sólo en cantidades muy pequeñas en los tallos. La raíz principal, sin embargo, es la parte utilizada porque es la parte más grande de la planta y constituye la mayor parte de su peso total. Contiene un porcentaje relativamente alto de ginsenósidos desde su primer año de vida, pero como el desarrollo de la raíz se produce entre el 4º y el 5º año de vida, se ha establecido que el mayor rendimiento de ginsenósidos y por tanto el mejor momento para la cosecha de la raíz se encuentra al final del verano del quinto año ^(41,42).

Cuando la raíz de ginseng se seca directamente después de la recolección, se obtiene el ginseng blanco. En cambio, si después de la recolección y antes de la desecación las raíces frescas se someten a un tratamiento de estabilización con vapor de agua, se obtiene el ginseng rojo, que se llama así por su color rojizo, causado por la caramelización de los azúcares en la epidermis debido al calor. Durante este proceso, sin embargo, los ginsenósidos son parcialmente alterados y/o destruidos, lo que puede conllevar una reducción de la actividad farmacológica del producto acabado ⁽⁴³⁾.

La desecación de la droga, destinada a una mejor conservación de la misma, puede tener consecuencias importantes en su calidad. Otro ejemplo lo tenemos en la hoja de sen (obtenida de *Cassia senna* L. y *C. angustifolia* Vahl.). Contiene heterósidos de diantronas (senósidos), responsables de su actividad laxante. Las hojas frescas contienen varios glucósidos de antrona que son cuantitativamente transformados en senósidos A, B, C y D y monoglucosido de reína cuando la desecación se hace a 20-40 °C. A temperaturas superiores a 50 °C, sin embargo, los senósidos no se forman, probablemente como consecuencia de la desnaturalización de una enzima específica que cataliza la transformación, y el contenido total de derivados hidroxiantracénicos disminuye ⁽⁴⁴⁾. Por lo tanto, la eficacia de la droga vegetal se ve afectada debido a la pérdida de sus principios laxantes.

La temperatura de desecación es especialmente importante en las drogas vegetales ricas en aceites esenciales, ya que temperaturas excesivas pueden favorecer la pérdida por evaporación. En el caso de la raíz de valeriana (*Valeriana officinalis* L.), por ejemplo, el aumento de la temperatura de desecación de 15 a 70 °C reduce el tiempo de secado en 176 h, con una pérdida del 23% de ácidos valerénicos si la desecación se realiza a 40 °C y del 51% si se efectúa a 50 °C ⁽⁴⁵⁾.

En general, pues, los problemas derivados del cultivo, recolección y tratamiento post-cosecha se pueden superar mediante el uso, siempre que sea posible, de plantas cultivadas como material de partida, cultivando variedades seleccionadas por su producción de biomasa y principios activos, así como por las características morfológicas, que deberán facilitar la recolección. Esto, conjuntamente con el control de las condiciones de cultivo y la optimización de las condiciones de recolección y tratamiento post-cosecha, mediante el desarrollo de investigación aplicada, permitirá obtener drogas vegetales de buena calidad. Las exigencias de trazabilidad del material vegetal en el ámbito del

medicamento son cada vez mayores y la propia Agencia Europea del Medicamento ⁽⁴⁶⁾, la Organización Mundial de la Salud ⁽⁴⁷⁾ y otras instituciones han publicado directrices sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (GAPC, *Good Agricultural and Collection Practices*) que abarcan el cultivo de plantas medicinales, así como su recolección y tratamiento post-cosecha.

Complejidad de las drogas y preparados vegetales y conocimiento de los constituyentes activos

Las drogas vegetales y preparados a base de drogas vegetales son mezclas complejas (FIGURA 4). Además de los componentes farmacológicamente activos, determinantes de la acción que producirán, contienen otros compuestos químicos que pueden influir en su actividad (coadyuvantes), por ejemplo, modulando su biodisponibilidad o la estabilidad, así como materiales inactivos o inertes y, a veces, constituyentes potencialmente alergénicos o tóxicos ⁽¹⁷⁾.

Esta complejidad hace a veces difícil tener un conocimiento claro de todos los constituyentes que intervienen en el efecto clínico y el grado de responsabilidad de cada uno. En algunas drogas vegetales conocemos bien el conjunto de sustancias responsables del efecto, como es el caso de los derivados hidroxiantracénicos de la hoja de sen o de las cortezas de cáscara sagrada o de frángula, a los que se puede asignar su efecto laxante. En otras ocasiones tenemos un conocimiento parcial de los principios activos, ya que los que conocemos no nos permiten explicar la totalidad del efecto clínico. Sería el caso de la raíz de valeriana, donde valepotriatos, ácidos valerénicos, aceite esencial, aminoácidos, lignanos y flavonoides pueden participar en la acción sedante, o de la sumidad de hipérico, donde hipericinas, flavonoides, hiperforina y xantonas podrían contribuir al efecto antidepresivo de sus extractos ⁽⁴⁸⁾. Finalmen-

te, hay algunos casos en los que el desconocimiento de los principios responsables de la actividad es grande, como por ejemplo en la raíz de ortiga (*Urtica dioica* L. y *U. urens* L.), que ha demostrado interés clínico en el tratamiento de los síntomas urinarios relacionados con la hiperplasia prostática benigna ⁽⁸⁾. Existen muchos otros ejemplos de drogas vegetales en las que los principios activos aún no han sido identificados o sólo se conocen parcialmente, pero se ha demostrado la eficacia clínica de sus extractos, como el rizoma de cimicífuga (*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.), empleada en el tratamiento de los síntomas de la menopausia ⁽⁴⁹⁾.

A menudo, pues, los efectos farmacológicos de un medicamento a base de plantas no se puede atribuir a un componente individual, sino que deben ser atribuidos, con una razonable plausibilidad a la droga o el extracto como un todo. De hecho, en los MP y los MTP, la EMA estipula que la droga o el preparado vegetal en su totalidad debe ser considerado el ingrediente activo ⁽⁵⁰⁾.

La complejidad hace más difícil el desarrollo de métodos de control de calidad y, paralelamente a los métodos que determinan una o varias sustancias individuales, hay que emplear siempre métodos que analicen un perfil más amplio de constituyentes de la droga vegetal o sus preparados.

Si bien, por una parte, la complejidad complica el control de calidad, por otra, la presencia de diferentes constituyentes activos en la droga vegetal y sus preparados, y la posible sinergia entre ellos, se ha considerado un valor positivo y un aspecto importante para la eficacia terapéutica. Varios ejemplos lo avalan ⁽⁵¹⁻⁵⁶⁾.

El extracto seco purificado y valorado de ginkgo se prepara a partir de la hoja desecada de *Ginkgo biloba* L. Tiene una relación droga-extracto de 35-67:1 y debe contener un 22-27% de flavonoides, un 2,6-3,2% de bilobárido y un 2,8-3,4% de ginkgólidos A, B y C ⁽⁴⁾. Se observa una sinergia de potenciación entre los ginkgólidos A y B en relación con el efecto antiagregante plaquetario, tal como muestra la isoblograma de la FIGURA 5 ^(52, 53). Se ha demostrado también que existe sinergia entre los ginkgólidos y otros componentes del extracto: una mezcla de ginkgólidos A, B y C, a una dosis de 100-240 mg, tiene un efecto antagonista del PAF en humanos ⁽⁵⁵⁾. Sin embargo, una dosis de 120 mg de un extracto de ginkgo que contiene sólo 6-7 mg de ginkgólidos, junto con bilobárido y heterósidos flavónicos, tiene un efecto equivalente ⁽⁵⁶⁾. Por tanto, aunque el ginkgólido B es conocido como un antagonista específico del PAF, el uso



FIGURA 4. Complejidad de las drogas vegetales ⁽¹⁷⁾.

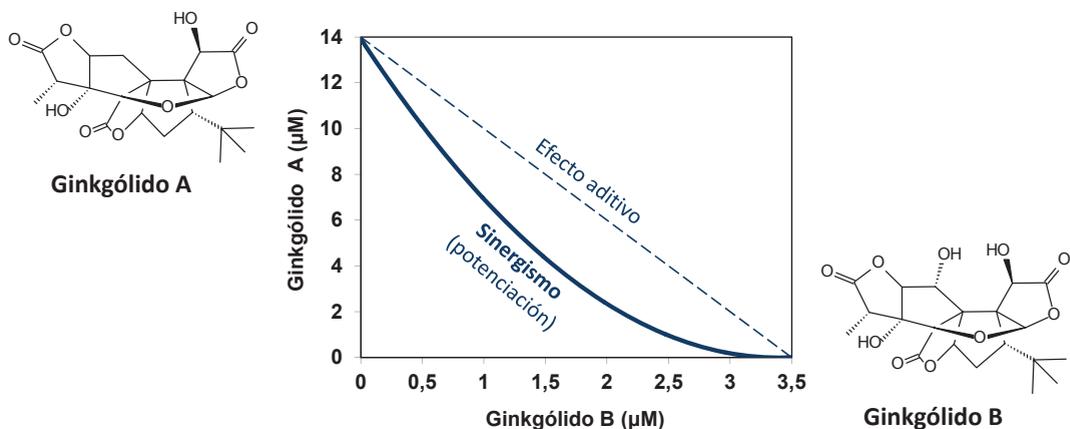


FIGURA 5. Curva isobólica para el 50% de inhibición (IC₅₀) de la agregación plaquetaria inducida por PAF (factor de activación plaquetaria) de la combinación de los ginkgólidos A y B. La curva obtenida (trazo continuo) indica que hay una sinergia de potenciación, ya que si sólo hubiera un efecto aditivo habría dado la línea discontinua⁽⁵³⁾.

del ginkgólido aislado sería menos eficaz terapéuticamente que la mezcla o el extracto.

Otros ejemplos de efectos sinérgicos han descrito para las kavapironas del rizoma de kava-kava (*Piper methysticum* G. Forst.), Los constituyentes de la raíz de regaliz (*Glycyrrhiza glabra* L.), los del rizoma de jengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) o los de la corteza de sauce (se admiten varias especies del género *Salix*), entre otros^(51, 54).

Influencia del proceso de extracción

Los ingredientes activos de los medicamentos a base de plantas son preparados vegetales (Directiva 2004/24/CE⁽³⁾), que la Farmacopea Europea denomina preparados a base de droga vegetal⁽⁴⁾: son los que se obtienen sometiendo las drogas vegetales a tratamientos como extracción, destilación, prensado, fraccionamiento, purificación, concentración o fermentación. Se incluyen dentro de este concepto drogas cortadas, trituradas o pulverizadas, tinturas y otros tipos de extractos, aceites esenciales, jugos obtenidos por expresión, etc.

La obtención de estos preparados implica, en el caso más típico de obtención de extractos, una etapa de molienda para triturar la droga, seguida por una de extracción con disolventes y, en su caso, concentración o desecación del extracto líquido obtenido inicialmente. Así se obtendrán, por ejemplo, tinturas, extractos fluidos, extractos blandos o extractos secos.

Los molinos utilizados para la trituración y pulverización de la droga pueden calentar la droga y favorecer la pérdida de sustancias volátiles. Este efecto, sin embargo, se puede disminuir mediante la utilización de molinos refrigerados. Así por ejemplo, la molienda convencional del clavo (botones florales de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry) provoca una pérdida del 34% de su aceite esencial, y del 33% en el caso de la pimienta negra (fruto de *Piper nigrum* L.), mientras que si las drogas se someten a criomolienda, la pérdida es sólo del 5% y el 7%, respectivamente⁽⁵⁷⁾.

Globalmente, en el proceso de extracción, existen numerosos factores que pueden afectar la calidad del producto final^(16, 58). Están resumidos en la FIGURA 6. Algunos dependen de la propia droga vegetal, como la textura de la parte de la planta utilizada, el grado de división, el estado fresco o desecado, además de la variabilidad ligada al origen de la droga, ya comentada anteriormente.

El tipo y composición del disolvente o mezcla de disolventes empleados en la extracción tienen una importancia capital, ya que de ello dependerá su polaridad y, por tanto, el tipo de constituyentes de la droga que se disolverán. La selectividad del disolvente se puede ver afectada, además por el pH del medio. La cantidad de disolvente empleada en relación con la cantidad de droga a extraer (relación droga-disolvente) también afectará a la composición del extracto.



FIGURA 6. Factores que influyen en el proceso de extracción con disolventes.

Finalmente, hay que tener en cuenta también las condiciones de extracción ligadas al método (temperatura, agitación, tiempo, presión) y el equipamiento utilizado (tamaño de lote, presión estática, flujo de solvente, etc.).

No queremos profundizar aquí en todos estos parámetros, pero si poner algún ejemplo para ilustrar esto, particularmente lo relativo a la composición del disolvente de extracción.

Los extractos de la raíz de ortiga (*Urtica dioica* L., *U. urens* L.) tienen interés clínico en el tratamiento sintomático de los trastornos de la micción de los estadios II y III (según Vahlensieck) de la hiperplasia prostática benigna (8). Lichius y Muth, (59), evaluaron la acción inhibitora sobre el crecimiento prostático de cinco extractos de raíz de ortiga, obtenidos con diferentes disolventes, en un modelo de hiperplasia prostática inducida en ratón. Como se puede ver en la TABLA 2, la actividad fue muy diferente dependiendo del disolvente de extracción: el extracto más activo resultó ser el obtenido con MeOH 20%, seguido del acuoso. El extracto más apolar (ciclohexánico), en cambio, mostró una acción contraria, ya que estimuló el crecimiento prostático. Esto explica por qué ESCOP recomienda la utilización de extractos hidroalcohólicos o acuosos.

En los extractos hidroalcohólicos, el grado alcohólico puede afectar la estabilidad de algunos constituyentes. Cuando la extracción se realiza con etanol de un porcentaje igual o menor al 50% (v/v), se pueden producir hidrólisis

Disolvente de extracción	Inhibición del crecimiento de la próstata (%)	p vs. control
Ciclohexano	-23,5	0,040
Acetato de etilo	5,0	1,000
n-Butanol	1,3	0,916
Metanol 20%	51,3	0,003
Agua	26,5	0,267
Suramina *	25,7	0,156

* Fármaco de referencia

TABLA 2. Efecto de diferentes extractos de la raíz de ortiga en la hiperplasia de próstata experimental inducida en ratón (adaptado de Lichius y Muth, (59)).

enzimáticas de heterósidos o ésteres, como se ha demostrado en el caso de los heterósidos de apigenina de la flor de manzanilla (*Matricaria recutita* L.), o del ácido achicórico en los jugos y extractos de equinácea purpúrea (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) (14).

Las diferencias en el disolvente utilizado para la extracción también pueden afectar a la seguridad, como se ha sugerido para los extractos del rizoma de kava-kava (*Piper methysticum* G. Forst.). Los extractos ricos en kavalactonas (kavapironas) han demostrado efectos ansiolíticos similares a algunos ansiolíticos de síntesis, como opipramol y buspirona (60). Algunas notificaciones de hepatotoxicidad sugerían que ésta podría estar relacionada con el consumo de extractos comerciales de rizoma de kava-kava (61, 62). En las islas del Pacífico Sur, sin embargo, hace siglos que se viene consumiendo una bebida acuosa tradicional de rizoma de kava-kava sin efectos adversos importantes. Algunos autores sugieren que esta discrepancia puede deberse a los diferentes procesos de extracción, y en particular a la utilización de acetona en lugar de agua como disolvente de extracción (61).

Lo expuesto explica por qué de una misma planta se pueden elaborar medicamentos con acciones cualitativamente diferentes, dependiendo de la parte de la planta utilizada, su calidad o el disolvente y el proceso utilizados para su extracción. Y también que los productos comercializados de una misma planta pueden ser de calidades muy des-

iguales, o incluso por qué se observa falta de consistencia lote a lote para un mismo producto, como se ha visto para algunos productos de ginseng comercializados EEUU ⁽⁶³⁾.

Para evitar esta situación, en los medicamentos a base de plantas es necesario fijar las especificaciones de la droga vegetal empleada para obtener el extracto, las de éste y las del producto final para que éste tenga la acción farmacológica y el efecto clínico deseados. También es necesario validar los procesos de fabricación y trabajar bajo normas de correcta fabricación (GMP, *Good Manufacturing Practices*) para garantizar que las especificaciones se reproduzcan lote a lote.

Posibles contaminantes

La presencia de contaminantes puede afectar drásticamente la calidad de los productos a base de plantas. Contaminantes microbianos, metales pesados, pesticidas o toxinas microbianas pueden estar presentes en las drogas vegetales, habiendo sido incorporados a partir de campos contaminados, por un tratamiento post-cosecha incorrecto, o por unas condiciones inadecuadas de almacenamiento ⁽⁶⁴⁾. Pueden tener consecuencias indeseables para la salud de los consumidores ⁽⁶⁵⁾. La contaminación se puede evitar o reducir a niveles seguros mediante la aplicación de controles ya desde el inicio de la cadena productiva, haciendo un uso racional de los plaguicidas en los campos de cultivo, así como proporcionando información y formación a los agricultores, tal como se hizo con éxito en China para la producción de la raíz de ginseng ⁽⁶⁶⁾. La aplicación de las GAPC y las GMP es, pues, clave para evitar este tipo de problemas.

Los posibles contaminantes pueden ser tanto químicos (metales pesados, pesticidas, micotoxinas) como biológicos (bacterias, hongos, insectos, etc.). No hay que olvidar que la pureza de una droga se puede ver comprometida también por adulteraciones y falsificaciones. Todos ellos han sido recientemente revisados por varios autores, como Chan ⁽⁶⁴⁾, Kosalec *et al.* ⁽⁶⁷⁾, Salgueiro *et al.* ⁽¹⁹⁾ o Pozdski *et al.* ⁽⁶⁵⁾.

Los **metales pesados** pueden estar presentes en las drogas y preparados vegetales de forma intencionada o no, como un artefacto del proceso de producción, a partir de los recipientes utilizados en la fabricación, o en pequeñas cantidades presentes de manera natural en las plantas que crecen enraizadas en el suelo. Pese a que el plomo y las sales de plomo algunas veces se introducen intencionadamente en ciertas preparaciones ayurvédicas, el plomo se encuentra a menudo como un contaminante en las drogas

vegetales, que también pueden contener arsénico y mercurio en cantidades tóxicas ⁽⁶⁸⁾. Algunos preparados tradicionales orientales que contienen cantidades notables de metales pesados están destinados sólo a uso externo, y pueden no presentar signos y síntomas de toxicidad cuando se utiliza de esta manera. De todos modos, el uso histórico del mercurio y el arsénico para combatir parásitos ya no es aceptable actualmente, debido a su toxicidad sobre los sistemas nervioso y renal ⁽⁶⁹⁾.

En general, hay que decir que son los productos vegetales de la India (medicina ayurvédica) y de China (medicina tradicional china) los que generan más publicaciones sobre contaminación por metales pesados por encima de lo que permiten las normas. Estos productos llegan a Europa, donde se han detectado efectos tóxicos: de los 12 casos de intoxicación por plomo, arsénico o mercurio relacionados con preparados de medicina tradicional, recogidos en un centro toxicológico de Londres entre 1991 y 1995, 9 se asociaron con preparados vegetales de la India y los otros 3 con cosméticos tradicionales del mismo origen ⁽⁷⁰⁾. En un estudio realizado en el área de Boston (EE.UU.), Saper *et al.* ⁽⁷¹⁾ mostraron que uno de cada 5 productos vegetales ayurvédicos contenía metales pesados por encima de los límites aceptados. En cuanto a productos vegetales de la medicina tradicional china, se han descrito contaminaciones por varios metales, pero la mayoría se consideran seguros ^(68, 72).

Existen varios métodos para la determinación de metales pesados aplicables a drogas y preparados vegetales, que han sido recientemente revisados por Yuan *et al.* ⁽⁶⁸⁾. La Farmacopea Europea, que describe un método para espectrometría de absorción atómica ⁽⁴⁾, está introduciendo también la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) y la espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) ⁽⁷³⁾.

Los **pesticidas** son compuestos químicos utilizados para controlar o erradicar plagas. Incluye insecticidas, fungicidas, nematocidas, herbicidas, rodenticidas y otros. En un estudio realizado en Egipto, el malatión fue el pesticida más frecuentemente encontrado en especies alimenticias y plantas medicinales ⁽⁷⁴⁾, mientras que el clorpirifós (detectado en un 26% de las muestras) lo fue en un estudio reciente sobre 334 drogas vegetales de la medicina tradicional china, recolectadas en China ⁽⁷²⁾. En este mismo estudio, se detectaron pesticidas (en total, 42 de diferentes) en un 36,7% de las muestras, pero en la mayor parte de ellas dentro de los límites permitidos por la norma ANS

(*American National Standard*) para complementos alimenticios en EEUU. De la misma manera que el de los metales pesados, el control de residuos de pesticidas es obligatorio en las drogas vegetales y la Farmacopea Europea tiene establecidos límites de aceptación para unos 70 pesticidas, cuya lista se va ampliando con la incorporación de aquellos que se van detectándose con más frecuencia en las drogas vegetales ⁽⁴⁾.

Las **micotoxinas** son metabolitos secundarios producidos por algunos hongos que son tóxicos para el hombre, ya a dosis muy bajas. La producción de micotoxinas depende de varios factores, entre ellos la predisposición genética de los hongos para producirlas, la humedad del sustrato, los nutrientes disponibles para el hongo, el pH del medio, la relación CO₂:O₂, y la presencia de fungicidas o de otras especies microbianas competitivas. Algunas drogas vegetales contienen aceites esenciales con actividad antimicrobiana que pueden inhibir la formación de mohos y la producción de micotoxinas ^(67, 75, 76). Esto hace que las diferentes drogas vegetales no sean igual de susceptibles a su presencia. La Farmacopea Europea ⁽⁴⁾, dentro de los métodos de Farmacognosia, ha incluido uno para la determinación de aflatoxina B₁ (que se considera la más frecuente y la más tóxica) y uno para la de ocratoxina A, para la que ha fijado un límite de 20 mg/kg en el caso de la raíz de regalíz (*Glycyrrhiza glabra* L.).

La contaminación por **microorganismos** de los medicamentos a base de plantas se puede producir en cualquier momento de la cadena productiva: cultivo, recolección, procesamiento, envasado y distribución. Las principales fuentes de contaminación microbiana se asocian con la heces humanas o animales utilizadas como abono, la utilización de agua contaminada para regar o en el procesamiento posterior de la droga, y la falta de condiciones adecuadas de higiene y saneamiento durante la recolección, clasificación, procesamiento, envasado y transporte ⁽¹⁹⁾.

La Farmacopea Europea tiene establecidos límites de contaminación microbiana en un capítulo específico (5.1.8) para medicamentos a base de plantas para administración oral, que se aplican a las drogas vegetales y sus preparados, y donde se distinguen tres categorías ⁽⁴⁾. Una (A) para productos con drogas vegetales destinados a la preparación de infusiones o decocciones con agua hirviendo. Otra (B) para productos con drogas vegetales o extractos en las que se ha reducido la carga microbiana por un pre-tratamiento o por el procesamiento (extracción). Y, finalmente, una tercera categoría (C) en la que se incluyen aquellos productos en los que el pre-tratamiento o procesamiento (por

ejemplo, extracción con agua fría o alcohol de baja graduación) no permite alcanzar los criterios de descontaminación de la categoría B. Los métodos a utilizar son los generales establecidos en la Farmacopea (2.6.12 y 2.6.13) con las modificaciones específicas descritas en la sección 2.6.31 para medicamentos a base de plantas para uso oral ⁽⁴⁾.

Las drogas vegetales también pueden estar contaminadas por **elementos extraños** consistentes ya sea por materiales vegetales procedentes de otras partes de la misma planta que no constituyen la droga (partes extrañas) o por elementos ajenos a la planta productora de droga, de procedencia vegetal o mineral (materias extrañas). Según la Farmacopea Europea, excepto aquellas en que se prescriba un límite diferente, las drogas vegetales no deben contener más de un 2% de materias extrañas ⁽⁴⁾.

Hay que tener en cuenta la posibilidad de **adulteraciones y falsificaciones**. Más arriba hemos expuesto algunos ejemplos, y hemos mencionado que las adulteraciones se pueden ver favorecidas por la recolección de drogas a partir de plantas silvestres. Las adulteraciones y falsificaciones pueden conllevar una disminución o pérdida de la eficacia o, incluso, comprometer gravemente la seguridad.

Uno de los casos que se ha hecho más tristemente famoso en los últimos años ha sido la sustitución, por un error en el proceso de fabricación, de la planta china *Stephania tetrandra* S. Moore por *Aristolochia fangchi* Y.C. Wu ex L.D. Chow & S.M. Hwang en unos comprimidos con una mezcla para adelgazar comercializados en Bélgica. El hecho provocó la aparición de una serie de casos graves de nefritis intersticial, fallo renal, en algunos casos irreversible, y carcinoma urotelial, principalmente en mujeres jóvenes. La toxicidad se debió al ácido aristolóquico (FIGURA 7), que es un conocido nefrotóxico presente en *A. fangchi*. La

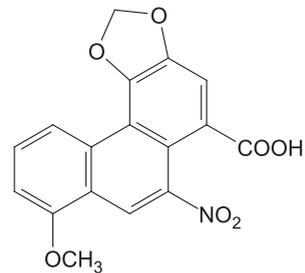


FIGURA 7. Ácido aristolóquico, compuesto nefrotóxico de *Aristolochia fangchi* Y.C. Wu ex L.D. Chow & S.M. Hwang.

confusión proviene del hecho de que especies del género *Aristolochia* y del género *Stephania* comparten el mismo nombre chino, que transcrito sería fangchi ^(77, 78).

En la literatura se han descrito otros casos de productos terminados adulterados con plantas tóxicas o, incluso, fármacos de síntesis. Ambas situaciones pueden derivar de la no aplicación de normas adecuadas de fabricación y control o ser, simplemente, el resultado de un fraude ⁽⁶⁴⁾.

Finalmente, cabe mencionar que después del accidente nuclear de Chernobyl, se detectaron niveles potencialmente peligrosos de **radiactividad** en algunas drogas vegetales que crecían en las zonas contaminadas. En general, sin embargo, la contaminación radiactiva no es una preocupación real, dados los valores extremadamente bajos registrados ⁽⁷⁹⁾.

Control de calidad y Farmacopea

Ya hemos visto que la superación del reto de calidad de los medicamentos a base de plantas significa preocuparse de fabricar calidad desde el inicio de la cadena productiva, a base de conocimiento, investigación aplicada, validación de procesos, y el seguimiento de las normas y directrices necesarias: GACP, GMP, directrices de la EMA, etc., que no entraremos a detallar aquí.

Además de un proceso de fabricación cuidadoso, para la producción de los medicamentos a base de plantas es necesario un adecuado control de calidad. Conjuntamente, deben garantizar que los ingredientes activos declarados se encuentran en el rango de tolerancia aceptable, que la misma cantidad de ingrediente activo está contenida en cada unidad de dosis y lote, que el producto está exento de impurezas y conserva sus ingredientes activos y la eficacia hasta llegar a la fecha de caducidad ⁽⁶⁾. La Farmacopea Europea es fundamental en la definición de especificaciones de calidad y ha producido más de 300 monografías sobre drogas y preparados vegetales, para los que describe los métodos de análisis y los criterios de aceptación.

Objetivos y métodos de control

Los objetivos del control de calidad son garantizar la identidad, la pureza y el contenido en principios activos o marcadores del producto evaluado, sea una droga vegetal, un preparado vegetal (extractos, aceites esenciales, etc.) o un medicamento ya acabado. Por ello, se utilizan una serie de métodos de análisis morfoanatómicos, físico-químicos y biológicos ⁽⁸⁰⁾.

Los **análisis organolépticos** de sabor y olor generan ciertas reticencias por la necesaria implicación del analista en su ejecución. Por ello, generalmente no son requerimientos de obligado cumplimiento a las Farmacopeas. De todas formas, ya se ha descrito que la utilización de instrumentos como las lenguas electrónicas puede ser útil en el control de calidad, tanto por su sensibilidad como por la capacidad de discriminación entre muestras de diferente calidad ⁽⁸¹⁾.

La **identificación** de una droga vegetal clásicamente se ha venido haciendo mediante el examen macroscópico de la droga y el estudio de la presencia de elementos microscópicos de diagnóstico en el polvo de la droga. En los últimos años, la Farmacopea Europea ha ido introduciendo, por cada droga vegetal, ilustraciones de los elementos microscópicos diagnósticos en forma de dibujos a la pluma: actualmente ya hay alrededor de un centenar y son de gran ayuda en el proceso de identificación. Un ejemplo se puede ver en la FIGURA 8.

Para la identificación, tanto de drogas vegetales como de productos extractivos, también se utilizan los perfiles cromatográficos obtenidos por diferentes técnicas, principalmente la cromatografía en capa fina. Esta técnica ha tomado un renovado interés y utilidad gracias a la incorporación, en la Farmacopea Europea, de la cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC, *High Performance Thin Layer Chromatography*), que gracias al equipamiento instrumental disponible permite un grado aceptable de automatización y ha incrementado notablemente la reproducibilidad, facilitando la validación de métodos ⁽⁸²⁻⁸⁴⁾. La FIGURA 9, muestra el cromatograma de un análisis para la identificación de diversas muestras de sumidad de pasiflora utilizando HPTLC instrumental.

Tanto el estudio morfoanatómico como los perfiles cromatográficos se emplean también en la evaluación de la **pureza**, principalmente para detectar adulteraciones y falsificaciones.

En un futuro no lejano es posible que para la evaluación de la identidad y la pureza de drogas vegetales incorporen otras técnicas, que por ahora todavía no son rutinarias en el control de calidad, pero que se usan ocasionalmente para resolver problemas de identificación de drogas. Entre ellas destaca la utilización de técnicas basadas en la identificación del ADN, ya que la composición genética de un individuo no se ve afectada por la edad, las condiciones fisiológicas o ambientales, la recolección, el tratamiento post-cosecha o el almacenamiento. El ADN se puede ex-

- A y E. Pelos protectores pluricelulares.
- B. Epidermis superior cerca de un nervio, vista en superficie, mostrando una cutícula estriada, un pelo glanduloso con pie unicelular y cabeza unicelular (Ba) y un pelo glanduloso con cabeza octacelular (Bb).
- C. Epidermis inferior vista en superficie, con estomas diacíticos (Ca) y un pelo glanduloso con pie unicelular y cabeza unicelular (Cb).
- D. Pelo glanduloso con pie unicelular y cabeza unicelular.
- F. Margen de la hoja con células de paredes granuladas y punteadas (Fa), y pelos tectores cortos, unicelulares (Fb).
- G. Lámina en sección transversal, con pelo glanduloso con pie unicelular y cabeza octacelular (Ga), parénquima lagunar (Gb), y parénquima en empalizada (Gc).
- H. Epidermis superior (Ha) vista en superficie con parte del parénquima en empalizada subyacente (Hb).

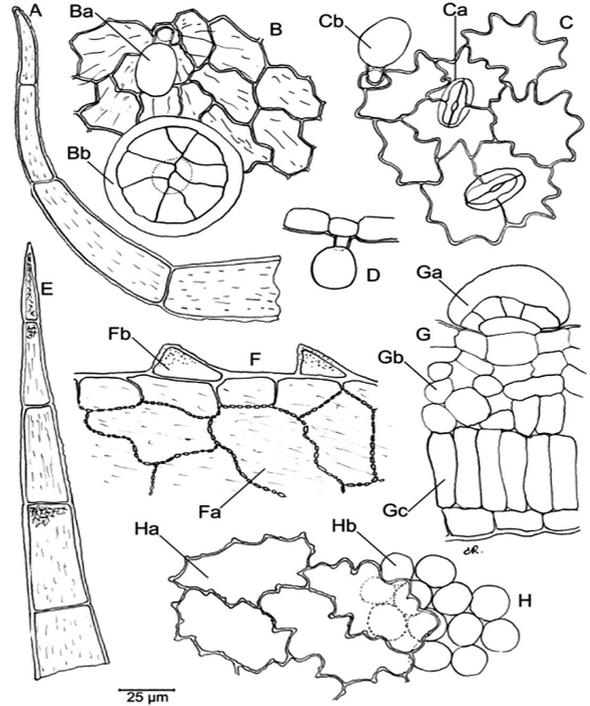


FIGURA 8. Ilustración de los elementos microscópicos de diagnóstico para la identificación de la hoja de menta piperita en la Farmacopea Europea (4).

traer tanto de material seco como desecado y su análisis requiere poca cantidad de muestra (85). Esta metodología puede permitir, incluso, la identificación en productos acabados, como cápsulas o comprimidos, a base de extractos de la droga. Esto, por ejemplo, se ha observado en productos a base de extractos de sumidad de hipérico (*Hypericum perforatum* L.) (86).

En la evaluación de la pureza, también se determinan las posibles contaminaciones, según los casos, por metales pesados, pesticidas, micotoxinas, o microorganismos, carga mineral, residuos de disolventes, etc.

Finalmente, el apartado de **valoración** incluye los métodos necesarios para la valoración de principios activos o marcadores, generalmente por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía de gases (CG), aunque un cierto número son espectrofotométricas y, pocas, volumétricas o gravimétricas. La tendencia es a ir migrando los métodos espectrofotométricos y volumétricos hacia

los cromatográficos y la Farmacopea Europea está trabajando activamente en este sentido. No podemos olvidar el interés que tienen otras técnicas de valoración, particularmente la Resonancia Magnética Nuclear Cuantitativa (87), si bien el coste del instrumental necesario dificulta su utilización como técnica de rutina en control de calidad.

La Farmacopea Europea en el control de calidad de drogas y preparados vegetales

La Farmacopea Europea, dependiente del Consejo de Europa, se elabora en la Dirección Europea para la Calidad de los Medicamentos y Atención de la Salud (EDQM, *European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care*), con sede en Estrasburgo. Iniciada en 1964, actualmente cuenta con 37 países firmantes del Convenio de la Farmacopea Europea, además de la propia Unión Europea. Adicionalmente, hay 25 observadores: 7 países europeos, 17 no europeos, y la Organización Mundial de la Salud. Cada país firmante implementa el contenido de la

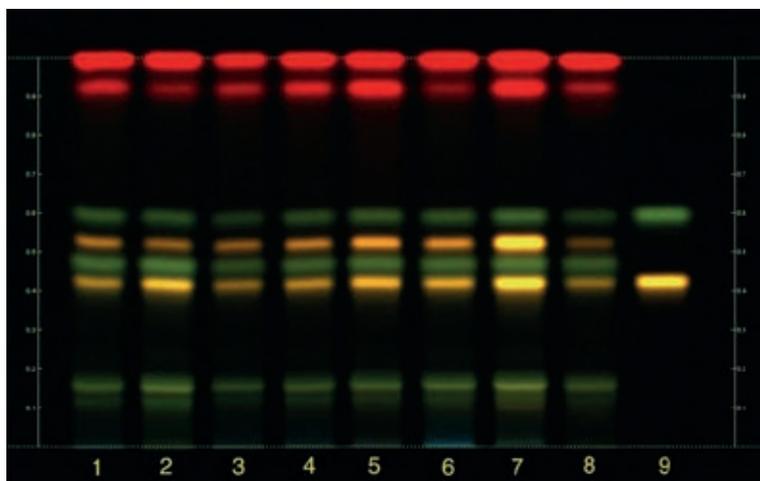


FIGURA 9. Cromatograma resultante del análisis mediante HPTLC instrumental de varias muestras de sumidad de pasiflora para su identificación. Se ha empleado un equipamiento CAMAG con sistema de aplicación semiautomático, cámara de desarrollo automático, derivatización por inmersión y un sistema digital de documentación. 1-8: muestras de sumidad de pasiflora; 9: sustancias de referencia (vitexina e isoorientina).

Farmacopea Europea a través de las propias farmacopeas, en nuestro caso la Real Farmacopea Española, que depende de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).

La edición de la Farmacopea Europea (*Ph.Eur.*) vigente hasta el 31 de diciembre de 2013 es la 7^a (88), que entró en vigor el primero de enero de 2011. A partir del 1 de enero de 2014 entra en vigor la 8^a edición, de la que ya se ha publicado también el primer suplemento (8.1), que entrará en vigor el primero de Abril de 2014 (4). La 4^a edición de la Real Farmacopea Española (RFE), que se publicó en 2010, exclusivamente en versión electrónica, contiene la sexta edición de la *Ph.Eur.* Está en preparación la 5^a edición de la RFE, que se prevé que contenga la 7^a de la *Ph.Eur.* En 2008, la AEMPS y la EDQM firmaron un convenio de colaboración para la traducción de la *Ph.Eur.* al español que ha contribuido a reducir los tiempos y retrasos en la traducción.

Los idiomas oficiales de la *Ph.Eur.* son el inglés y el francés, pero gracias a la traducción al español y los idiomas de los países firmantes, logra un alcance mundial, proporcionando una colección casi única de monografías oficiales de alto nivel sobre drogas vegetales y sus derivados.

En el apartado de métodos analíticos, la *Ph.Eur.* dispone de una sección sobre métodos de Farmacognosia don-

de incluye 23 métodos que le son específicos. Entre las monografías generales, hay 8 relacionadas con drogas vegetales y sus derivados: drogas vegetales, preparados a base de drogas vegetales, tisanas vegetales, extractos, aceites esenciales, aceites grasos vegetales, drogas vegetales para preparados homeopáticos y tinturas madre para preparados homeopáticos. En cuanto a las monografías específicas, el trabajo en la *Ph.Eur.* es intenso, por lo que desde la 2^a a la 8^a edición el número de monografías sobre drogas y preparados vegetales prácticamente se ha cuadruplicado, tal como se puede observar en la FIGURA 10. Actualmente contiene 314 monografías, de las cuales, un 57% son referidas a partes de plantas, alrededor de un 15% a extractos, y un 10% en aceites esenciales (TABLA 3). A partir de la 7^a edición de la *Ph.Eur.*, todas estas monografías específicas de drogas y preparados vegetales, excepto las de aceites grasos, se publican reunidas en un capítulo especial para ellas. En la TABLA 4 se resume el contenido de estas monografías.

La realización de las determinaciones prescritas en la Farmacopea precisa la utilización de sustancias de referencia. Estas resultan, a veces difíciles de encontrar comercialmente. Por este motivo, en los últimos años la *Ph.Eur.* ha puesto en marcha un programa para establecer las sustan-

Monografías de drogas vegetales y derivados en la Farmacopea Europea (2013)		
	Nº	%
Partes de planta	179	57,0
Extractos	46	14,7
Aceites esenciales	32	10,2
Aceites fijos / ceras	24	7,6
Exudados / almidones / mucílagos	25	8,0
Drogas para preparados homeopáticos	8	2,5
Total	314	

TABLA 3. Monografías de drogas vegetales y derivados en la 8ª edición de la Farmacopea Europea, incluido el suplemento 8.1 (4).

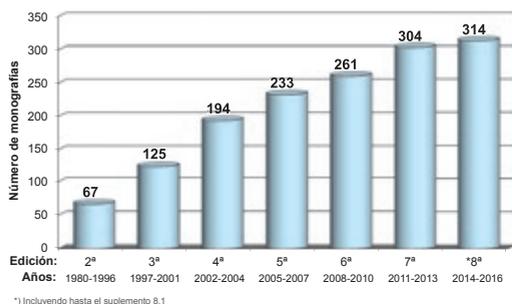


FIGURA 10. Evolución del número de monografías de drogas vegetales y derivados desde la 2ª (1980-1996) hasta la 8ª edición (2014-2016), suplemento 8.1, de la Farmacopea Europea.

cias químicas de referencia (SCR) necesarias para realizar las analíticas prescritas en las monografías de drogas y preparados vegetales. Así, se asegura que estén a disposición de los usuarios, que las pueden adquirir en el servicio específico de la EDQM.

En este mismo sentido, otra iniciativa reciente de la *Ph.Eur.* que está resultando muy útil es la de establecer sustancias de referencia complejas, principalmente extractos, aceites esenciales y drogas vegetales, que en este caso se llaman sustancias vegetales de referencia (SVR). En particular, estas SVR resultan especialmente útiles en la identificación de picos en cromatogramas complejos obtenidos por HPLC o CG, así como para establecer los criterios de adecuación del sistema en estas mismas analíticas.

1. Definición (Incluye contenido)

2. Producción

3. Características

4. Identificación

- *Macroscópica*
- *Microscópica*
- *Perfil cromatográfico (TLC / HPTLC, HPLC, CG)*
- *Otros*

5. Ensayos

- *Elementos extraños*
- *Pérdida por desecación, determinación de agua*
- *Cenizas totales*
- *Materia extraíble*
- *Posibles adulterantes*
- *Constantes físicas*
- *Disolventes residuales*
- *Alcohol*
- *Otros*

6. Valoración

Determinación cuantitativa de los principios activos o marcadores: HPLC, CG, espectrofotometría, volumetría, gravimetría

7. Conservación

8. Etiquetado

Otras determinaciones

(En base a monografías generales)

Posibles contaminantes:

- *Metales pesados*
- *Pesticidas*
- *Contaminación microbiana*
- *Aflatoxinas*
- *Ocratoxina A*

TABLA 4. Esquema del contenido de una monografía típica de una droga vegetal o un preparado vegetal en la Farmacopea Europea y determinaciones adicionales realizadas en base a lo que prescriben las monografías generales. La presencia de algunas secciones depende del tipo de producto: droga vegetal, extracto, aceite esencial, etc.

Para la elaboración de las monografías se establecen, dentro de la *Ph.Eur.*, **grupos de expertos** de cada sector, procedentes de los diferentes países, designados por las correspondientes agencias de medicamentos. Los grupos pueden ser permanentes o temporales. En el sector de las drogas vegetales y productos extractivos hay 3 grupos permanentes: los 13A y 13B (denominados de Fitoquímica), con una muy activa participación de expertos españoles, y el 13H (aceites fijos y derivados).

Entre los grupos temporales cabe destacar el grupo sobre drogas de la medicina tradicional china (TCM). Su creación responde a la preocupación sobre la seguridad y eficacia de las drogas vegetales de la medicina tradicional china comercializadas en la UE, ligada sobre todo a la observación de que estas plantas medicinales pueden tener un potencial de alto riesgo debido a una definición insuficiente, problemas con la identidad, la pureza y posibles falsificaciones. Para el control de calidad, las monografías de estas drogas vegetales se encuentran principalmente en la Farmacopea de la República Popular de China. En base a estos hechos, la Comisión de la Farmacopea Europea decidió en 2005 elaborar monografías de las drogas vegetales chinas más importantes importadas de Extremo Oriente. El trabajo se comenzó en los grupos 13A y 13B, y en 2008 se estableció un grupo de expertos *ad hoc* para trabajar

este grupo de drogas. En el programa de trabajo hay unas ochenta drogas ⁽⁸⁹⁾.

Otros grupos temporales que están activos o lo han estado recientemente son: grupo sobre calidad microbiológica de drogas vegetales y preparados de drogas vegetales (MQH), grupo sobre residuos de pesticidas (PST), grupo sobre agua por extracción (WXT) y, más recientemente, un grupo sobre extractos (EXT) para revisar la monografía general de extractos. Existe también un grupo temporal sobre preparados homeopáticos (HOM): se encarga de las drogas vegetales destinadas a preparados homeopáticos, pero esto representa sólo una pequeña parte de su tarea, ya que una buena parte de productos destinados a homeopatía no son de origen vegetal.

El **procedimiento de elaboración de una monografía** en la Farmacopea Europea se esquematiza en la FIGURA 11. Una vez que una propuesta de elaboración de una monografía (procedente de uno de los países firmantes y con el apoyo de al menos un segundo país) es aprobada por la Comisión de la Farmacopea Europea, ésta la asigna al grupo de expertos que corresponda. El trabajo realizado por parte del grupo incluye desde la obtención de muestras y la realización de la puesta a punto de métodos, hasta la validación y realización de ensayos interlaboratorio, pasando

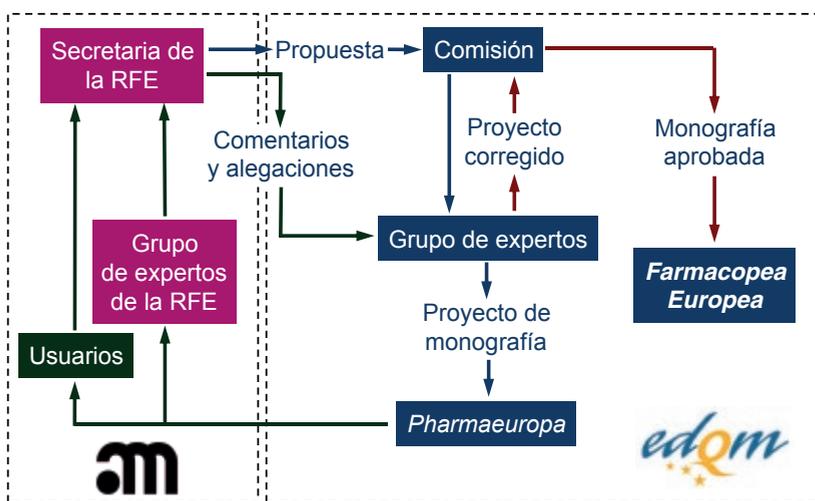


FIGURA 11. Diagrama de flujo para la elaboración de una monografía de la Farmacopea Europea, donde se muestra la interrelación con las Farmacopeas de los países firmantes del convenio, la Real Farmacopea Española (RFE), en el caso de España.

por las tareas de documentación y redacción de protocolos y, finalmente, del proyecto de monografía. Cuando este se considera suficientemente maduro, se publica en la revista *Pharmaeuropa*, que desde 2012 está disponible gratuitamente en formato electrónico, para someterlo a exposición pública. Los comentarios y alegaciones de usuarios y grupos de expertos de los diferentes países se canalizan a través de la autoridad de la Farmacopea de cada país, hacia el grupo de la Farmacopea Europea encargado de la elaboración de la monografía. Una vez revisado el proyecto a partir de los comentarios recibidos, éste se puede someter a una segunda ronda de exposición pública (si las modificaciones del proyecto previamente publicado son importantes) o enviarlo a la Comisión de la Farmacopea Europea (si los cambios han sido menores) para someterlo a su aprobación definitiva. Una vez aprobada, la monografía se publica en la *Ph.Eur.* y entrará en vigor a los 6 meses. En todo este proceso, cabe destacar la posibilidad de que todos los usuarios y profesionales del campo de los medicamentos a base de plantas tienen de implicarse en la elaboración de comentarios y alegaciones durante el proceso de exposición pública. Es más, queremos alentar su participación, ya que es la manera de disponer, al final, de monografías mejores y más útiles.

Conclusiones

La calidad de los medicamentos a base de plantas constituye un reto, principalmente por las **dificultades ligadas a las características específicas de las drogas y preparados vegetales** que se utilizan como ingredientes activos de los mismos. Entre ellas cabe destacar:

- Su variabilidad, ligada tanto a factores extrínsecos como intrínsecos.
- Su complejidad y un conocimiento a menudo limitado de cuáles son los constituyentes activos.
- Las posibles adulteraciones y la presencia de contaminantes.
- La influencia de los procesos de cultivo, recolección y tratamiento post-cosecha.
- La influencia de los procesos de extracción.

Se trata sin embargo de un **reto superable**. Para ello es necesario:

- Tener la calidad como objetivo desde un principio de la cadena productiva.

- Desarrollar investigación aplicada para mejorar el conocimiento del producto y optimizar los procesos de producción.
- Validar los procesos de producción y trabajar bajo normas GACP y GMP, sin olvidar las directrices de la EMA.
- Hacer un seguimiento y un control estricto de todas las etapas de producción.
- Establecer especificaciones de calidad, es decir métodos de control y criterios de aceptación.

Sobre todo en este último punto, pero también en otros, la **Farmacopea Europea**, en el ámbito español dentro de la Real Farmacopea Española, constituye una herramienta clave para la superación del reto y el establecimiento y mantenimiento de altos niveles de calidad de los medicamentos a base de plantas en la UE. Esto es así porque la Farmacopea Europea es:

- Un documento normativo consensuado y armonizado a nivel internacional por 37 países, que se revisa y actualiza constantemente.
- Una colección singular de métodos para el análisis de drogas y preparados vegetales.
- Una colección amplia y de alto nivel de monografías de calidad de estos productos.
- Un instrumento de ayuda importante para el usuario, tanto como fuente de información como de sustancias de referencia.

La elaboración de sus monografías se transparente y está abierta a todos los usuarios, principalmente a través de los periodos de exposición pública. Su participación en este proceso es esencial para obtener una Farmacopea mejor y más útil.

Nota de la editorial

Este artículo es una traducción adaptada del discurso de ingreso de S. Cañigueral como Académico Numerario en la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, el día 14 de Octubre de 2013, disponible en: www.fitoterapia.net/biblioteca/pdf/SCF_DISCURS_RAFC.pdf

Referencias bibliográficas

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1980 to 2010. *J Nat Prod* 2012; 75: 311–335.
2. FDA (Food and Drug Administration) FDA approves first anti-diarrheal drug for HIV/AIDS patients [nota de prensa]. Silver Spring, MD: US FDA; December 31, 2012. Disponible en: www.fda.gov/

NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm333701.htm?source=govdelivery. Consultat: 10/09/2013.

3. Directiva 2004/24/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004, por la que se modifica, en lo que se refiere a los medicamentos tradicionales a base de plantas, la Directiva 2001/83/CE por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano. Diario Oficial de la Unión Europea de 30.4.2004, L136: 85-90.

4. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). European Pharmacopoeia. 8th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2013.

5. Cañigüeral S. La Fitoterapia ¿una terapéutica para el tercer milenio? Revista de Fitoterapia 2002; 2 (2): 101-121.

6. Cañigüeral S, Tschopp R, Ambrosetti L, Vignutelli A, Scaglione F, Petrini O. The development of herbal medicinal products: quality, safety and efficacy as key factors. Pharm Med. 2008; 22 (2): 107-118.

7. Cañigüeral S. Bases para el desarrollo racional de la Fitoterapia. Revista de Fitoterapia. 2009; 9 (Supl. 1): 17-20.,

8. ESCOP. ESCOP Monographs. The scientific foundation for herbal medicinal products. 2nd ed. Exeter: European Scientific Cooperative for Phytotherapy. 2003.

9. ESCOP. ESCOP Monographs. The scientific foundation for herbal medicinal products. Supplement to the 2nd ed. Exeter: European Scientific Cooperative for Phytotherapy. 2009.

10. WHO (World Health Organization). WHO monographs on selected medicinal plants. Volume 1. Geneva: WHO, 1999.

11. WHO (World Health Organization). WHO monographs on selected medicinal plants. Volume 2. Geneva: WHO, 2002.

12. WHO (World Health Organization). WHO monographs on selected medicinal plants. Volume 3. Geneva: WHO, 2007.

13. WHO (World Health Organization). WHO monographs on selected medicinal plants. Volume 4. Geneva: WHO, 2009.

14. Bauer R. Quality criteria and standardization of phytopharmaceuticals: Can acceptable drug standards be achieved. Drug Inf J. 1998; 32: 101-110.

15. Bauer R, Tittel G. Quality assessment of herbal preparations as a precondition of pharmacological and clinical studies. Phytomedicine. 1996; 2 (3): 193-198.

16. Busse W. The significance of quality for efficacy and safety of herbal medicinal products. Drug Inf J. 2000; 34: 15-23.

17. Franz G, Vlietinck A. 2001. Results and methods of work of the european pharmacopoeia. Proceedings of the International Symposium on Herbal Medicinal Products: Quality Evaluation. Contribution of the European Pharmacopoeia. Pharmaeuropa, nombre especial (Febrer 2001), pp.: 17-25.

18. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim. Nova. 2007; 30 (2): 374-381.

19. Salgueiro L, Martins AP, Correia H. Raw materials: the importance of quality and safety. A review. Flavour Fragr J. 2010 25: 253-271.

20. Southwell IA, Bourke CA. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). Phytochemistry 2001; 56: 437-441.

21. Kim SK, Sakamoto I, Morimoto K, Sakata M, Yamasaki K, Tanaka O. Seasonal variation of saponins, sucrose and monosaccharides in cultivated ginseng roots. Planta Med. 1981; 42 (6): 181-186.

22. Bos R, Woerdenbag HJ, van Putten FMS, Hendriks H, Scheffer JJC. Seasonal variation of the essential oil, valerenic acid and derivatives, and valepotriates in *Valeriana officinalis* roots and rhizomes, and the selection of plants suitable for phytomedicines. Planta Med. 1998; 64 (2): 143-147.

23. De Vasconcelos Silva MG, Craveiro AA, Abreu Matos FJ, Machado MIL, Alencar JW. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. Fitoterapia. 1999; 70: 32-34.

24. Wallaart TE, Pras N, Beekman AC, Quax WJ. Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* of different geographical origin: proof for the existence of chemotypes. Planta Med. 2000; 66 (1): 57-62.

25. Gray DE, Pallardy SG, Garret HE, Rottinghaus GE. Effect of acute drought stress and time of harvest on phytochemistry and dry weight of *St. John's wort* leaves and flowers. Planta Med. 2003; 69: 1024-1030.

26. Darrow K, Bowers MD. Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). Biochem Syst Ecol. 1997; 25: 1-11.

27. Peñuelas J, Llusià J. Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*. J Chem Ecol. 1997; 26 (4): 979-993.

28. Stuhlfauth T, Fock HP. Effect of whole season CO₂ enrichment on the cultivation of a medicinal plant, *Digitalis lanata*. J Agron Crop Sci. 1990; 164 (3): 168-173.

29. Fajer ED, Bowers MD, Bazzaz FA. The Effect of nutrients and enriched CO₂ environments on production of carbon-based allelochemicals in *Plantago*: A test of the carbon/nutrient balance hypothesis. Am Nat. 1992; 140 (4): 707-723.

30. Adzet T, Granger R, Passet J, San Martin R. Le polymorphisme chimique dans le genre *Thymus*: sa signification taxonomique. Biochem Syst Ecol. 1977; 5: 269-272.

31. Stahl-Biskup E. Essential oil chemistry of the genus *Thymus* - a global view. In Stahl-Biskup E, Sáez X (Eds) *Thyme. The genus Thymus*. Capítulo 3, pp 75-124. London: Tylor and Francis, 2002.

32. Arnoldi L, Ballero M, Fuzzati N, Maxia A, Percalli E, Pagni L. HPLC-DAD-MS identification of bioactive secondary metabolites from *Ferula communis* roots. Fitoterapia. 2004; 75: 342-354.

33. Perry BB, Burgess EJ, Rodríguez Guitián MA, Romero Franco R, López Mosquera E, Smallfield BM, Joyce NI, Littlejohn RP. Sesqui-

- terpene lactones in *Arnica montana*: helenalin and dihydrohelenalin chemotypes in Spain. *Planta Med.* 2009; 75: 660-666.
34. Schmidt TJ, Bomme U, Alfermann AW. Sesquiterpene lactone content in leaves of in vitro and field cultivated *Arnica montana*. *Planta Med.* 1998; 64, 268-270.
35. Lubbe A, Verpoorte R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind Crop Prod.* 2011; 34: 785-801.
36. MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) Anuario de Estadística Forestal 2009. Madrid: MAGRAMA, 2013b. Disponible a: http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/estadisticas/AEF_2009_DOCUMENTO_COMPLETO_tcm7-215486.pdf. Consultado: 10/09/2013.
37. MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) Anuario de Estadística Forestal 2010. Madrid: MAGRAMA, 2013a Disponible a: http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/estadisticas/AEF_2010_final_tcm7-226979.pdf. Consultado: 10/09/2013.
38. Techen N, Pan Z, Scheffler BE, Khan IA. Detection of *Illicium anisatum* as adulterant of *Illicium verum*. *Planta Med.* 2009; 75: 392-395.
39. Wang GW, Hu WT, Huang BK, Qin LP. *Illicium verum*: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol.* 2011; 136: 10-20.
40. Mrljanová M, Tekel'ová D, Felklová M, Reinöhl V, Tóth J. The influence of the harvest cut height on the quality of the herbal drugs *Melissae folium* and *Melissae herba*. *Planta Med.* 2002; 68 (2): 178-180.
41. Soldati F, Tanaka O. *Panax ginseng*: Relation between age of plant and content of ginsenosides. *Planta Med.* 1984; 50 (4):351-2.
42. Sprecher E. *Ginseng* - miracle drug or phytopharmakon? *Apoth J.* 1987; 9: 52-61.
43. Kitagawa I, Taniyama T, Shibuya H, Noda T, Yoshikawa M. Chemical studies on crude drug processing: V. On the constituents of *ginseng radix rubra* (2). Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same *Panax ginseng* root. *J Pharm Soc Jpn.* 1987; 107: 495-505.
44. Lemli J, Cuveele J. Les transformations des hétérosides antroniques pendant le séchage des feuilles de *Cassia senna* et de *Rhamnus frangula*. *Planta Med.* 1978; 34: 311-318.
45. Shohet D, Wills RBH. Effect of postharvest handling on valerenic acids content of fresh valerian (*Valeriana officinalis*) root. *J Sci Food Agric.* 2006; 86:107-110.
46. HMPC. Guideline on good agricultural and collection practice (GACP) for starting materials of herbal origin. EMEA/HMPC/246816/2005 (20.02.2006). London: European Medicines Agency, 2006.
47. WHO (World Health Organization). WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. Geneva: WHO, 2003.
48. Cañigueral S, Vanaclocha B, Vila R. Principios Fitoterapéuticos. In: Salazar M, Peralta C, Pastor J (Eds.) *Tratado de Psicofarmacología. Bases y aplicación clínica. 2ª Edición. Capítulo 36*, pp. 542-562. Madrid: Ed. Médica Panamericana. 2009.
49. ESCOP. *Cimicifugae rhizoma*. Black cohosh. In ESCOP Monographs. The scientific foundation for herbal medicinal products. Online Series. Exeter: European Scientific Cooperative For Phytotherapy. 2011.
50. HMPC. Guideline on declaration of herbal substances and herbal preparations in herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products in the SPC. EMEA/HMPC/CHMP/CVMP/287539/2005 (26.07.2007). London: European Medicines Agency. 2007.
51. Williamson EM. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine.* 2001; 8 (5): 401-409.
52. Ulrich-Merzenich G, Zeitler H, Jobst D, Panek D, Vetter H, Wagner H. Aplicación de las tecnologías ómicas a la Fitoterapia. *Revista de Fitoterapia* 2007; 7 (2): 115-129.
53. Wagner H. Futuro en la investigación en Fitoterapia: tendencias y retos. *Revista de Fitoterapia* 2006; 6 (2): 101-117.
54. Mukherjee PK, Ponnusankar S, Venkatesh P. Synergy in herbal medicinal products: concept to realization. *Ind J Pharm Educ Res.* 2011; 45 (3): 210-217.
55. Chung KF, McCusker M, Page P, Dent G, Guinot P, Barnes PJ. Effect of a ginkgolide mixture (BN 52063) in antagonising skin and platelet responses to platelet activating factor in man. *The Lancet* 1987; 329 (8527): 248-250.
56. Wagner H. New targets in the Phytopharmacology of plants. In: Ernst E (Ed.) *Herbal medicine, a concise overview for healthcare professionals*. pp 34-42. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2000.
57. List PH, Schmidt PC. *I farmaci di origine vegetale. Tecnologie di estrazione dalle piante medicinali*. Milán: Ed. U. Hoepli, 1989.
58. Lang F, Stumpf H. Considerations on future pharmacopoeial monographs for plant extracts. *Pharmaeuropa.* 1999; 11 (2): 268-276.
59. Lichius JJ, Muth C. The inhibiting effects of *Urtica dioica* root extracts on experimentally induced prostatic hyperplasia in the mouse. *Planta Med.* 1997; 63:307-310.
60. Boerner RJ, Sommer H, Berger W, Kuhn U, Schmidt U, Mannei M. Kava-Kava extract LI 150 is as effective as opipramol and buspirone in generalised anxiety disorder: an 8-week randomized, double-blind, multi-centre clinical trial in 129 out-patients. *Phyto-medicine.* 2003; 10: 38-49.
61. Whitton PA, Lau A, Salisbury A, Whitehouse J, Evans CS. Kava lactones and the kava-kava controversy. *Phytochemistry.* 2003; 64: 673-679.
62. Ernst E. A reevaluation of kava. *Br J Clin Pharmacol.* 2007; 64: 415-417.
63. Arnason JT, Awang DVC, Blumenthal M, Fitzloff JF, Fong HHS, Hall T, Lu Z, Yat PN. Evaluation of consistency of standardized

Asian ginseng products in the Ginseng Evaluation Program. *Herbalgram* 2001; 52: 31-45.

64. Chan K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere*. 2003; 52 (9):1361-1371.

65. Posadzki P, Watson L, Ernst E. Contamination and adulteration of herbal medicinal products (HMPs): an overview of systematic reviews. *Eur J Clin Pharmacol* 2013, 69: 295-307.

66. Sodati, F. Panax ginseng: Standardization and biological activity. In Cutler SJ, Cutler HG (Eds.) *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals*. pp 209-232. Washington: CRC Press. 1999.

67. Kosalec I, Cvek J, Tomić S. Contaminants of medicinal herbs and herbal products. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2009; 60: 495-501.

68. Yuan X, Chapman RL, Wu Z. Analytical methods for heavy metals in herbal medicines. *Phytochem Anal*. 2011; 22: 189-198.

69. Bateman J, Chapman RD, Simpson D. Possible toxicity of herbal remedies. *Scott Med J*. 1998; 43 (1): 7-15.

70. Ernst E. Contamination of herbal medicines. *Pharm J*. 2005: 275: 167-168.

71. Saper RB, Kales SN, Paquin J, Burns MJ, Eisenberg DM, Davis RB, Phillips RS. Heavy metal content of ayurvedic herbal medicine products. *JAMA*. 2004; 292 (23): 2868-2873.

72. Harris ESJ, Cao S, Littlefield BA, Craycroft JA, Scholten R, Kapchuk T, Fu Y, Wang W, Liu Y, Chen H, Zhao Z, Clardy J, Woolf AD, Eisenberg DM. Heavy metal and pesticide content in commonly prescribed individual raw Chinese Herbal Medicines. *Sci Total Environ*. 2011; 409: 4297-4305.

73. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). Heavy metals in herbal drugs and fatty oils (2.4.27). *Pharmeuropa* 2012, 24 (2): 15-18.

74. Abou-Arab AAK, Abou Donia MA. Pesticide residues in some Egyptian spices and medicinal plants as affected by processing. *Food Chem*. 2001; 72: 439-45.

75. Busch J, Allmann I, Hölz H, Klötzel M, Kühn M, Mackiw T, Riegert U, Steinhoff B. Evaluation of the risk of aflatoxin contamination in fresh medicinal plants *Pharmeuropa Bio Sci Notes* 2012: 39-54.

76. Santos L, Marín S, Sanchís V, Ramos AJ. Mycotoxin in Medicinal/Aromatic Herbs – a Review. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 2012; 12 (2): 119-142.

77. Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, Vanberweghem JL. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. *Lancet* 1994; 343: 174.

78. Nortier JL, Martinez MCM, Schmeiser HH, Arlt VM, Bieler CA, Petein M, Depierreux MF, De Pauw L, Abramowicz D, Vereerstraten P, Vanherweghem JL. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *N Engl J Med* 2000; 342: 1686-1692.

79. De Smet P. Overview of herbal quality control. *Drug Inf J*. 1999; 33 (3): 717-724.

80. WHO (World Health Organization). Quality control methods for herbal materials. Updated edition. Geneva: WHO, 2011.

81. Eckert C, Lutz C, Breitkreutz J, Woertz K. Quality control of oral herbal products by an electronic tongue - Case study on sage lozenges. *Sensors Actuators B* 2011 156: 204-212.

82. Reich E, Schibli A, DeBatt A. Validation of high-performance thin-layer chromatographic methods for the identification of botanicals in a cGMP environment. *J AOAC Int* 2008; 91: 13–20.

83. Reich E, Widmer V, Plant Analysis 2008 – Planar Chromatography. *Planta Med*. 2009; 75: 711-718.

84. Reich, E., Schibli, A. 2006. High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants. New York, Stuttgart: Thieme. 2006.

85. Sheorey RR, Tiwari A. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of herbal materials and medicines - A review. *J Sci Ind Res*. 2011; 70: 319-326.

86. Kazi T, Hussain N, Bremner P, Slater A, Howard C. The application of a DNA-based identification technique to over-the-counter herbal medicines. *Fitoterapia* 2013, 87: 27-30.

87. Napolitano JG, Gödecke T, Rodríguez-Brasco MF, Jaki BU, Chen SN, Lankin DC, Pauli GF. The tandem of full spin analysis and qHNMR for the quality control of botanicals exemplified with *Ginkgo biloba*. *J Nat Prod* 2012, 75: 238-248.

88. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). *European Pharmacopoeia*. 7th ed. Including Supplements 7.1 to 7.8. Strasbourg: Council of Europe, 2010-2013.

89. Bauer R, Franz G. Modern European monographs for quality control of Chinese herbs. *Planta Med*. 2010; 76: 2004-2011.