

Kakvoća biljnog lijeka

Cvek, Josipa; Medić-Šarić, Marica; Tomić, Siniša

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2006, 62, 187 - 204**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:245920>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Kakvoća biljnog lijeka

JOSIPA CVEK¹, ANA BORIĆ^{1,2}, MARICA MEDIĆ-ŠARIĆ² i SINIŠA TOMIĆ¹

¹Agencija za lijekove i medicinske proizvode RH, Ksaverska c. 4, 10000 Zagreb,

²Zavod za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb

UVOD

U posljednjih dvadesetak godina, usporedo s popularnošću prirodnog načina liječenja, u razvijenim zemljama značajno je poraslo zanimanje za biljne lijekove (1). Po učestalosti primjene biljni proizvodi čine više od 50 % nekonvencionalne medicine (2). Njihovom statusu u suvremenom društvu doprinosi niz čimbenika kao što su sklonost samoliječenju i sprječavanju bolesti, rijetke nuspojave (većinom se pojavljuju blage probavne smetnje i reakcije na koži) kada se ispravno primjenjuju, veća saznanja o kemijskom sastavu uvođenjem novih analitičkih metoda, više raspoloživih toksikoloških i kliničkih podataka te kulturološki i filozofski pogledi na život i zdravlje (3,4). Sve većoj uporabi ove vrste lijekova pomogao je obnovljeni interes farmaceutske industrije za istraživanje ljekovitog bilja kao izvora novih djelatnih tvari, ali i za razvoj standardiziranih biljnih proizvoda dokazane djelotvornosti i neškodljivosti.

Poznato je da biljni lijekovi imaju središnju ulogu u zdravstvenom sustavu siromašnih zemalja. Prema istraživanju Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) zbog nedostupnosti modernih lijekova 65–80% stanovništva nerazvijenog svijeta ovisi o tradicionalnim principima liječenja. Dobar primjer je tradicionalna kineska medicina (engl. *Traditional Chinese Medicine*, TCM), koja je kao sastavni dio kineske kulture služila potrebama održavanja zdravlja kineskog naroda skoro pet tisućljeća (5).

Širenje tržišta biljnim lijekovima, iako ekonomski prihvatljivo, stvorilo je prostor za proizvode neprihvatljive kakvoće koji stoga mogu biti i škodljivi za zdravlje.

KAKVOĆA POLAZNE SIROVINE

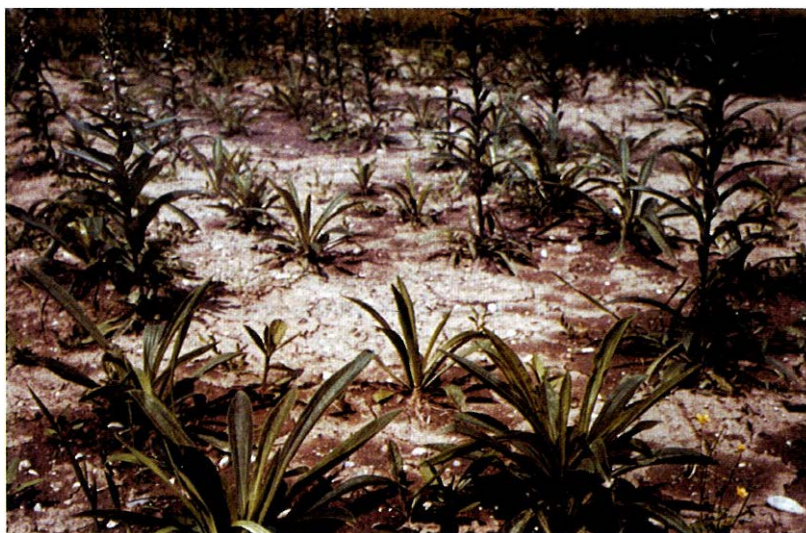
U svibnju 1997. god. Američka agencija za lijekove i hranu (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) zabilježila je slučaj trovanja nakon primjene biljnog programa za čišćenje, čiji su simptomi bili mučnina, povraćanje, vrtoglavica, nepravilni rad srca sa srčanim zastojem i toksična razina digoksina. Detaljnom kemijskom analizom utvrđena je zamje



na biljne vrste *Plantago lanceolata* L. (uskolisni trputac, Slika 1.) s *Digitalis lanata* Ehrh. (vunasti naprstak, Slika 2.) (6). Prisustvo štetnih biljnih vrsta u biljnom lijeku najčešće je posljedica pogreške pri botaničkom raspoznavanju ili pak namjerne zamjene (patvorenja). Poznati primjer je belgijski slučaj atipične renalne fibroze zbog uzimanja proizvoda za mršavljenje u kojima je biljna vrsta *Stephania tetrandra* S. MOORE slučajno bila zamijenjena s vrstom *Aristolochia fangchi* WU (sadrži nefrotoksične i kancrogene aristolohne kiseline) (7). Opće je rašireno patvorenje esencijalnih ulja sa sintetskim spojevima (npr. vrlo toksičan cinamaldehyd umjesto esencijalnog ulja cimeta) ili jeftinijim uljima (npr. umjesto prave lavande ulje lavandina bogato neurotoksičnim kamforom) (8).



Slika 1. *Plantago lanceolata* L. – uskolisni trputac.



Slika 2. *Digitalis lanata* Ehrh. – vunasti naprstak u prvoj godini vegetacije (rozeta prizemnih listova) kada postoji mogućnost zamjene s uskolisnim trputcem (9).

Kako bi se prikazali klinički djelotvornima te povećala njihova prodaja u biljne proizvode često se dodaju sintetski lijekovi. Najčešće kemijske patvorine su nesteroidni antiinflamatorni lijekovi i kortikosteroidi (Tablica 1.) (10). Prema jednom istraživanju u Velikoj Britaniji od 11 ispitanih biljnih krema TCM-e, koje su primjenjivali pacijenti općih i pedijatrijskih dermatoloških ambulanti za liječenje egzema (uglavnom na području osjetljive, tanke kože lica i pregiba), osam ih je sadržavalo deksametazon u koncentraciji 64–1500 $\mu\text{g/g}$ (11).

Tablica 1. Nedeklarirane sintetske djelatne tvari pronađene u »biljnim« lijekovima TCM-e (10).

aminopirin	kofein
karbamazepin	klorzoksazon
klobetazol propionat	deksametazon
diazepam	diklofenak
etoksibenzamid	fenfluramin
fluocinolon acetonid	glibenklamid
hidroklorotiazid	hidrokortizon
indometacin	mefenaminska kiselina
mctilsalicilat	paracetamol
fenacetin	fenilbutazon
fenitoin	natrijev valproat

Lošoj kakvoći biljnih lijekova doprinose i onečišćenja koja potječu iz okoline te uvjeta proizvodnje biljne sirovine kao što su pesticidi, mikroorganizmi, metaboliti plijesni (npr. hepatotoksični aflatoksin iz *Aspergillus flavus*), teški metali, radioaktivne tvari i strane primjese (neželjeni dijelovi biljke, insekti, izlučine životinja i dr.). Europska farmakopija (engl. *European Pharmacopoeia*, Ph. Eur.) propisuje prihvatljive granice za sadržaj pesticida (12). Dozvoljene granice za prisutnost teških metala još uvijek nisu usklađene u Europi, pa su na snazi nacionalni propisi (npr. u Njemačkoj 5 ppm za olovo, 0,2 ppm za kadmij i 0,1 ppm za živu) (13). Američka farmakopeja (engl. *The United States Pharmacopoeia*, USP) navodi granicu od najviše 20 ppm za ukupni sadržaj teških metala u biljnim ekstraktima (14). Ispitivanje teških metala od izuzetne je važnosti kod proizvoda kineske i indijske tradicionalne medicine, za koje je poznato da uz biljne i životinjske sastojke koriste i one mineralnog podrijetla. Ayurveda (tradicionalna indijska medicina) naglašava važnost metala (poput olova, bakra, zlata, željeza, žive, srebra, cinka i kositra) za pravilnu funkciju ljudskog organizma. Ona također priznaje toksičnost teških metala predlažući posebne fizikalno-kemijske postupke znanstveno nepotvrđene »detoksikacije« (uzastopno ponavljanje zagrijavanja/hlađenja i dodatak određenih biljnih vrsta). U TCM-i sastavni dio nekih pripravaka su živa (cinnabaris – živin sulfid, calomel – živin klorid, hydrargyri oxydum rubrum – živin oksid), olovo (Mi Tuo Seng/lithargyrum – olovni monoksid) i arsen (Xiong Huang/rcalgar – arsenik sulfid) (10). Nerijetko su ovi metali prisutni u nedozvoljenim količinama te su zabilježeni slučajevi trovanja olovom, živom, arsenom i kadmijem (15,16). Rast mikroorganizama u biljnom materijalu najčešće se sprječava sterilizacijom ozračivanjem posljedica čega može biti radioaktivno oštećenje. Radioaktivne tvari mogu se taložiti na/u biljci i uslijed nuklearnog zagađenja okoliša (npr. izuzetno su opasni radioizotopi cezija Cs¹³⁴ i Cs¹³⁷ iz nuklearnih reaktora). Radioaktivna ispravnost procjenjuje se u skladu s preporukama Međunarodne agencije za atomsku energiju (engl. *International Atomic Energy Agency*, IAEA) (17).

Očigledno je da kakvoća biljnog lijeka ovisi o kakvoći polazne biljne sirovine. Biljke su kao živi organizmi vrlo dinamičan i kemijski složen materijal za proizvodnju lijeka. Nji-

hov sastav uvjetovan je staništem (npr. hranjive tvari u tlu), uvjctima rasta (klima, dnevne i sezonske varijacije i dr.), vremenom sabiranja (nakupljanje kemijskih tvari u biljci najčešće se odvija u vrijeme cvatnje, a opada sazrijevanjem), načinom obrade (npr. temperatura sušenja bitna je kod sirovina s termolabilnim tvarima) i čuvanja (svjetlo, temperatura, vlaga) (18). Razlike u sastavu biljnog materijala zajedno s različitim postupcima proizvodnje između pojedinih proizvođača rezultiraju značajnom varijabilnosti u farmaceutskoj kakvoći biljnih lijekova. Npr., analizom osam proizvoda gospine trave prisutnih na tržištu SAD-a utvrđen je različiti sadržaj hiperforina (od 0,01% do 1,89%) te su samo dva proizvoda sadržavala količinu potrebnu za antidepresivno djelovanje. Također se razlikovao sadržaj hipericina, koji u nekoliko proizvoda nije bio jednak navedenom sadržaju u označavanju lijeka (iznosio je od 57% do 130% od deklarirane količine) (19). Ujednačena, stalna kakvoća biljnog lijeka najbolje se postiže standardizacijom biljne sirovine, jer se time dobiva proizvod s točno određenim sadržajem aktivne tvari ili tzv. »marker« spoja (kemijske karakteristike) dok se istovremeno mogu ukloniti neželjene i štetne tvari. Primjer je standardizirani ekstrakt ginka, koji sadrži 22–27% ginkoflavonoid glikozida, 5–7% terpenskih laktona i manje od 5 ppm ginkolnih kiselina (uzrokuju alergijsku kožnu reakciju) (20). Postupak se standardizacije provodi u proizvodnji, korištenjem polaznih sirovina iz različitih područja (nadoknađuje se nedostatak godišnjih varijacija prisutnih na istom staništu biljke), miješanjem s proizvodnom serijom višeg sadržaja ili dodatkom inertnih tvari (npr. dekstrin, laktoza). Neke od uzroka varijabilnosti moguće je ukloniti uzgojem ljekovitog bilja, koji dodatno omogućava genetsku selekciju vrsta otpornih na bolesti, bogatih bioaktivnim tvarima i sa smanjenim sadržajem štetnih metabolita (21).

KAKVOĆA DJELATNE TVARI (BILJNE DROGE/PRIPIRAVKA)

Prema smjernicama SZO-e i Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) djelatna tvar u biljnom lijeku je biljna droga (cjelovite ili usitnjene biljke, dijelovi biljaka, alge, lišajevi, gljive i neobrađene izlučine biljaka) i/ili biljni pripravak (usitnjene ili praškaste biljne droge, tinkture, ekstrakti, eterična ulja, istisnuti sokovi i prerađene izlučine biljaka), koji se dobivaju obradom sirovog biljnog materijala (sušenje, usitnjavanje, ekstrakcija i dr.) (22). Na njemačkom tržištu biljnih lijekova približno 80% proizvoda sadrži djelatnu tvar u obliku suhog ekstrakta. Ključni parametri pri ekstrakciji koji utječu na sastav (i djelotvornost) biljnog lijeka su omjer biljne droge i otapala za ekstrakciju (pokazatelj standardiziranog/validiranog postupka proizvodnje), vrsta i koncentracija otapala za ekstrakciju (npr., farmakološkim ispitivanjem korijena koprive utvrđeno je da 20%-tni metanolni ekstrakt značajno inhibira rast stanica prostate dok ekstrakti pripremljeni drugom vrstom otapala nisu djelotvorni) te postupak ekstrakcije i standardizacije.

Prema analitičkoj i terapijskoj namjeni sastavnice biljne droge/pripravka možemo svrstati u nekoliko skupina (Tablica 2.):

1. *aktivni principi* – kemijski definirane sastavnice poznate kliničke djelotvornosti, čiji sadržaj određuje terapijsku vrijednost biljne droge/pripravka/lijeka; vrlo je mali broj biljnih droga s ovom skupinom tvari (npr. senozidi u listu u sene)

2. *aktivni markeri* – kemijski definirane sastavnice s farmakološkim svojstvom, koje zajedno s drugim prisutnim tvarima doprinose djelotvornosti biljne droge/pripravka/lijeka (ne postoji dokaz da su same odgovorne za kliničku djelotvornost)
3. *negativni markeri* – neželjene sastavnice, npr. alergeni, toksini, tvari koje ometaju a p sorpciju aktivnih sastavnica
4. *analitički (nedjelatni) markeri* – kemijska karakteristika ili glavne sastavnice biljne droge/pripravka (4)

Tablica 2. Skupine biljnih droga obzirom na sastavnice

Biljne droge s poznatim klinički aktivnim principima	
Sennae folium	senozidi
Hippocastani semen	escini
Silybi mariae fructus	silibinin
Piperis methystici rhizoma (Kava-Kava)	kavalaktoni
Aloe	aloin
Biljne droge s poznatim farmakološki aktivnim markerima	
Crataegi folium cum flore	oligomerni procijanidini
Ginkgo folium	flavonoglikozidi, terpenolaktoni
Allii sativi bulbus	aliini, alicini
Hyperici herba	hiperforin, hipericin
Ginseng radix (azijski ginseng)	ginsenzozidi
Serenoae repentis fructus (Sabal fructus)	masne kiseline i njihovi esteri
Biljne droge s analitičkim markerima	
Valerianae radix	valerenske kiseline
Echinaceae purpureae herba	kavene kiseline
Eleutherococci radix (sibirski ginseng)	lignanoglikozidi
Melissae folium	ružmarinska kiselina
Urticae radix	skopoletin
Biljne droge s negativnim markerima	
Valerianae radix	valepotrijati
Ginkgo folium	ginkolne kiseline
Symphyti radix	pirolizidinski alkaloidi

Kakvoća biljne droge/pripravka ocjenjuje se na osnovu rezultata ispitivanja niza parametara propisanih njihovim zahtjevom kakvoće (engl. *specification*).

Zahtjev kakvoće biljne droge

- A) *Opis* – navodi se dio biljke i njeno stanje (cjelovita, sasječena, usitnjena, svježa, suha), geografsko stanište/mjesto sabiranja ljekovite biljke te uvjeti dobivanja biljne droge
- B) *Osobine (izgled)* – navode se organoleptička svojstva te makroskopske i mikroskopske botaničke karakteristike biljne droge

- C) *Identifikacija* – provode se ispitivanja kojima je moguće razlikovati drogu od srodnih vrsta i/ili mogućih patvorina/zamjena; postupak identifikacije mora biti specifičan za biljnu drogu i najčešće obuhvaća kombinaciju ispitivanja (makroskopska i mikroskopska karakterizacija, kromatografske metode i kemijske reakcije)
- D) *Ispitivanja*:
1. strane primjese (engl. *foreign matter*)
 2. ukupni pepeo
 3. pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini
 4. određivanje ekstrakta
 5. broj bubrenja (za droge sa sluzima)
 6. veličina čestica – utječe na topljivost, bioraspoloživost i stabilnost pa je zbog toga važna za biljne droge koje se koriste u pripremi biljnih čajeva ili čvrstih oblika
 7. sadržaj vode – određuje se kod higroskopskih biljnih droga (najčešće ispitivanjem gubitka sušenjem ili posebnim postupcima, npr. za biljke koje sadrže eterična ulja)
 8. anorganska onečišćenja, teški metali – ispituju se ukoliko je potrebno, a na osnovu podataka o biljnoj vrsti, njenom uzgoju i proizvodnom postupku; primjenjuju se farmakopejski (sulfatni pepeo/ostatak nakon žarenja) ili dr. prikladni postupci ispitivanja (atomska apsorpcijska spektroskopija, AAS)
 9. mikrobiološka čistoća – navodi se dozvoljeni ukupni broj aerobnih mikroorganizama, kvasnica, plijesni uz odsutnost patogenih bakterija (prema zahtjevu Ph. Eur.); porijeklo biljnog materijala može utjecati na dodatno propisivanje ispitivanja prisutnosti drugih mogućih patogena (npr. *Campylobacter* i *Listeria* vrste)
 10. mikotoksini, pesticidi i fumigacijska sredstva – primjenjuju se validirane metode za provjeru prisutnosti mikotoksina, ostataka pesticida (prema Ph. Eur.) i fumigacijskih sredstava; ukoliko je biljna droga proizvedena organskim uzgojem moguće je provesti djelomično ispitivanje ostataka pesticida
- E) *Sadržaj* – ako biljne droge sadrže tvari poznate djelotvornosti obvezatno je njihovo određivanje primjenom specifične ili nespecifične analitičke metode uz potporu specifičnosti dodatnom primjenom drugih analitičkih metoda (npr. sadržaj droge ispituje se određivanjem eteričnog ulja u kombinaciji s »fingerprint« kromatografijom); ako nisu poznate tvari odgovorne za terapijsko djelovanje provodi se određivanje sadržaja markera (izbor markera mora biti opravdan ili se marker odabire prema odgovarajućoj monografiji Ph. Eur.)

Zahtjev kakvoće biljnog pripravka

- A) *Opis* – navodi se dio biljke, vrsta pripravka (npr. suhi ili tekući ekstrakt), omjer biljne droge prema biljnom pripravku
- B) *Izgled* – navode se organoleptička svojstva biljnog pripravka
- C) *Identifikacija* – provode se specifična ispitivanja kojima je moguće razlikovati biljni pripravak od patvorine/zamjene (kombinacija tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti, HPLC i tankoslojne kromatografije, TLC procijenjene denzitomet

rijska ili vezani sustavi: tekućinska kromatografije visoke djelotvornosti, HPLC i spektrometrija masa, MS te plinska kromatografija, GC i spektrometrija masa, MS)

D) *Ispitivanja:*

1. ostatna otapala (prema Ph. Eur.)
2. sadržaj vode
3. anorganska onečišćenja, teški metali – postoji mogućnost da se tijekom postupka proizvodnje sadržaj ostataka toksičnih tvari ukoncentrira (npr. uslijed migracije iz proizvodne opreme) ili pak smanji (u drugom slučaju dovoljno je ispitivanje provesti samo na biljnim drogama)
4. mikrobiološka čistoća (prema zahtjevu Ph.Eur.)
5. mikotoksini, pesticidi i fumigacijska sredstva

E) *Sadržaj* – ako biljni pripravak sadrži tvari poznate djelotvornosti obvezatno je njihovo određivanje specifičnim analitičkim postupkom ili kombinacijom nespecifične i dr. potporne metode analize (npr. određivanje UV/VIS-spektrofotometrijskom metodom uz identifikaciju HPLC metodom); ako nisu poznate tvari odgovorne za terapijsko djelovanje određuje se sadržaj markera (23).

KAKVOĆA GOTOVOG BILJNOG LIJEKA

Pojam biljnog lijeka po svom značenju obuhvaća široki raspon proizvoda, od jednostavnih tinktura, čajeva i kapsula s praškastom biljnom drogom do čvrstih farmaceutskih oblika koji sadrže koncentrirane suhe ekstrakte, dobivenih složenim tehnološkim postupcima.

Zahtjev kakvoće gotovog biljnog lijeka treba propisivati ispitivanje parametara koji čine osnovu za njegovu neškodljivost i djelotvornost. Predloženi parametri trebaju biti opravdani od strane proizvođača, a nadležno regulatorno tijelo ih zatim odobrava ili ako je potrebno predlaže proizvođaču provođenje dodatnih ispitivanja. Kad god je moguće potrebno je primjenjivati farmakopejske metode ispitivanja. Prihvatljivi kriteriji kakvoće definiraju se na osnovu dobivenih rezultata ispitivanja više proizvodnih serija lijeka u okviru validacije proizvodnog postupka ili na osnovu literaturnih podataka (npr. opća monografija za biljne droge/pripravke u Europskoj farmakopeji). Dodatno, za provjeru kakvoće biljnog lijeka potrebno je propisati različite kriterije u zahtjevu kakvoće za puštanje lijeka u promet u odnosu na zahtjev kakvoće u roku valjanosti lijeka (npr. puno strože granice za sadržaj djelatne tvari i onečišćenja/razgradne produkte propisuju se u zahtjevu kakvoće za puštanje lijeka u promet). Također je potrebno utvrditi učestalost ispitivanja pojedinih parametara (npr. ispitivanje mikrobiološke čistoće provodi se na svakoj desetoj proizvedenoj seriji, npr. kod tableta).

Zahtjev kakvoće biljnog lijeka

A) *Izgled* – kvalitativan opis farmaceutskog oblika (veličina, oblik, boja)

- B) *Identifikacija* – provode se specifična ispitivanja kojima je moguće razlikovati biljnu drogu i/ili pripravak u biljnom lijeku od moguće prisutnih patvorina/zamjena (kombinacija HPLC i TLC-denzitometrije ili vezani sustavi: HPLC/UV, HPLC/MS i GC/MS); kod biljnih lijekova koji sadrže praškaste ili usitnjene biljne droge identifikacija se može provoditi ispitivanjem makroskopskih i mikroskopskih karakteristika droge, u kombinaciji s drugim metodama
- C) *Sadržaj* – validiranim analitičkim postupcima određuje se sadržaj tvari poznate djelotvornosti ili markera (ako biljni lijek sadrži biljne droge i/ili pripravke gdje tvari odgovorne za terapijsko djelovanje nisu poznate)
- D) *Onečišćenja* – ispituje se prisustvo organskih i anorganskih onečišćenja, razgradnih produkata (ukoliko su biljne droge/pripravci u sastavu biljnog lijeka skloni razgradnji u određenoj formulaciji i u predloženim uvjetima čuvanja lijeka) i ostatnih otapala (koja se koriste u proizvodnji gotovog lijeka); nije potrebno ispitivati prisustvo onečišćenja (npr. pesticidi, teški metali, ostatna otapala) koja potječu od biljnih droga i/ili biljnog pripravka (ona se kontroliraju tijekom provjere kakvoće droge/pripravka)
- E) *Mikrobiološka čistoća* – granične vrijednosti su propisane Europskom farmakopejom; ispitivanje se najčešće ne provodi na svakoj proizvedenoj seriji već periodično

Dodatna ispitivanja za određene oblike biljnog lijeka

1. Tablete (neobložene i obložene) i tvrde kapsule

Neka od navedenih ispitivanja mogu se primijeniti i za meke kapsule i granule.

Otpuštanje (oslobađanje)/raspadljivost – *in vitro* ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari (engl. *dissolution*) provodi se kod biljnih lijekova s terapijski poznatim djelatnim sastavnim (aktivni princip i aktivni marker), a *raspadljivost* (engl. *disintegration*) kod biljnih lijekova s analitičkim markerom

Tvrdoća – ispitivanje tvrdoće najčešće se provodi tijekom postupka proizvodnje biljnog lijeka kao parametar procesne kontrole; ukoliko je svojstvo tvrdoće kritično za kakvoću gotovog biljnog lijeka (npr. kod tableta za žvakanje) onda ga je potrebno uključiti u zahtjev kakvoće

Variranje mase/ujednačenost sadržaja – ispituju se prema općim farmakopejskim postupcima

Sadržaj vode – ponekad se određuje ispitivanjem gubitka sušenjem, a obvezatno specifičnim metodama analize (npr. Karl Fischer titracija)

Mikrobiološka čistoća – ovaj parametar je pokazatelj provođenja dobre proizvođačke prakse (engl. *Good Manufacturing Practice*, GMP), ali i kakvoće lijeka te ga je stoga preporučljivo ispitati (osim kada je validacijom utvrđeno da postupak proizvodnje ne nosi rizik mikrobiološke kontaminacije, a prethodno je provjerena mikrobiološka čistoća polaznih sirovina); primjenom farmakopejske ili drugih validiranih postupaka postavljaju se prihvatljivi kriteriji za ukupni broj aerobnih mikroorganizama, kvasnica, plijesni te odsutnost patogenih bakterija (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas*)

2. Tekući pripravci za oralnu primjenu

Neka od navedenih ispitivanja mogu se primijeniti i na praške za pripremu tekućih oralnih pripravaka.

Variranje volumena punjenja / ujednačenost sadržaja – ispituju se prema općim farmakopejskim postupcima (kod praška za pripremu tekućih oralnih pripravaka ispituje se variranje mase)

pH vrijednost – izražava se rasponom, tj. gornjom i donjom dozvoljenom granicom

Mikrobiološka čistoća

Sadržaj konzervansa – propisuje se donja granica sadržaja konzervansa potrebna za očuvanje mikrobiološke kakvoće lijeka tijekom roka valjanosti, a koja je utvrđena provođenjem testa antimikrobne djelotvornosti konzervansa prema Ph. Eur.

Sadržaj antioksidansa

Tvari koje se otpuštaju iz spremnika – ukoliko je potrebno ovaj se parametar ispituje kod otopina opremljenih u spremnike koji nisu izrađeni od stakla ili u staklene spremnike sa zatvaračem od drugih materijala

Sadržaj alkohola

Otpuštanje – ispitivanje se provodi kod oralnih suspenzija i suhog praška za pripremu oralne suspenzije (sadrže biljne droge i pripravke čije su sastavnice teško topljive)

Veličina čestica – ukoliko je opravdano propisuje se umjesto ispitivanja otpuštanja (za oralne suspenzije)

Sposobnost resuspendiranja – ispituje se kod oralnih suspenzija mehaničkim ili ručnim protresanjem nastalog taloga te se mjeri vrijeme potrebno za ponovno dobivanje homogene suspenzije

Reološka svojstva (viskoznost) – kod viskoznih otopina i suspenzija

Specifična težina – kod oralnih suspenzija, viskoznih i nevodenih otopina

Vrijeme rekonstitucije (pripreme suspenzije) – ispituje se kod suhih praška za pripremu oralne suspenzije (izbor otapala mora biti opravdan)

Sadržaj vode – određuje se ispitivanjem gubitka sušenjem, a u određenim slučajevima Karl-Fischer titracijom (npr. kod pripravaka s eteričnim uljem)

3. Biljni lijekovi koji isključivo sadrže biljne droge (npr. biljni čajevi)

Gubitak sušenjem

Ukupni pepeo / pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini

Identifikacija – provodi se primjenom kromatografskih metoda te ispitivanjem makroskopskih i mikroskopskih karakteristika (potpora identifikaciji)

Onečišćenja – određuje se prisutnost patvorina i mogućih zamjena (ako su poznate)

Variranje mase / prosječna masa sadržaja čajne vrećice – primjenjuju se opći farmakopejski postupci

Sadržaj – validiranim analitičkim postupcima određuje se sadržaj tvari poznate djelotvornosti (ako su sadržane u biljnoj drogi) ili markera

Veličina čestica

Mikrobiološka čistoća – zahtjev prema Ph. Eur., kategorija 4 mikrobiološke kakvoće:

A) biljni pripravci/lijekovi kojima se prije primijene dodaje uzavrela voda

ukupni broj aerobnih bakterija	10 ⁷ / 1 gram (mL)
ukupni broj gljivica	10 ⁵ / 1 gram (mL)
<i>Escherichia coli</i>	10 ² / 1 gram (mL)

B) biljni pripravci/lijekovi kojima se prije primijene ne dodaje uzavrela voda (23,24).

ukupni broj aerobnih bakterija	10 ⁵ / 1 gram (mL)
ukupni broj gljivica	10 ⁴ / 1 gram (mL)
enterobakterije i dr. gram (-) bakterije	10 ³ / 1 gram (mL)
<i>Escherichia coli</i>	dsutnost u 1 gramu ili 1 mL
<i>Salmonella</i>	odsutnost u 10 grama ili 10 mL

DOKUMENTACIJA O KAKVOĆI BILJNOG LIJEKA

Sastavni dio zahtjeva za registraciju biljnog lijeka je dokumentacija o kakvoći djelatne tvari i gotovog lijeka, tzv. **Dio II** (kemijska, farmaceutska i biološka dokumentacija) standardne tehničke dokumentacije (engl. *European dossier*) ili **Modul 3** zajedničkog tehničkog dokumenta (engl. *Common Technical Document*, CTD; vidi Prilog 1.) (25,26). Pri kreiranju sadržaja ovih dokumenata EMEA predlaže nedavno obnovljene smjernice za biljne lijekove EMEA/CVMP/814/00 Rev 1 i EMEA/CVMP/815/00 Rev 1 (iz 2005. god.), koje opisuju opće principe kakvoće biljnih lijekova (uključujući tradicionalne biljne lijekove koji dodatno mogu sadržavati vitamine ili minerale) te ističu posebnosti u problematici kakvoće ove vrste lijekova u odnosu na lijekove s kemijski sintetiziranim djelatnim tvarima.

Pojedinosti o kvalitativnom i kvantitativnom sastavu lijeka

A) djelatna tvar je usitnjena ili praškasta biljna droga / biljni pripravak koji sadrži usitnjenu ili praškastu biljnu drogu

1. količina biljne droge/pripravka u biljnom lijeku izražava se prema sadržaju tvari (prisutnih u biljnoj drogi/pripravku) poznate djelotvornosti

Primjer:

NAZIV	KOLIČINA
<u>Djelatna tvar</u>	
<i>Scnnae folium</i>	415–500 mg što odgovara 12,5 mg hidroksiantracenskih glikozida izraženih kao scnozid B

Druge tvari

2. ako nisu poznate terapijski aktivne tvari navodi se količina same droge/pripravka

Primjer:

NAZIV	KOLIČINA
<u>Djelatna tvar</u> Valerianae radix	900 mg
<u>Druge tvari</u>	

B) djelatna tvar je biljni pripravak dobiven ekstrakcijom

- potrebno je naznačiti vrstu i koncentraciju upotrijebljenog otapala, oblik ekstrakta (tekući, žitki i suhi) te ekvivalentnu količinu (x-y) ili omjer (a-b):1 droge prema količini pripravka (ekstrakta)

1. količina standardiziranog ekstrakta izražava se prema sadržaju tvari poznate dje lotvornosti

Primjer:

NAZIV	KOLIČINA
<u>Djelatna tvar</u> Sennae folium suhi etanolni ekstrakt 60% (v/v) ((a-b):1)	50-65 mg što odgovara 12,5 mg hidroksiantracenskih glikozida izrađenih kao senozid B
<u>Pomoćne tvari</u>	

2. kod ekstrakta koji sadrži markere potrebno je naznačiti najmanji sadržaj ili raspon sadržaja markera

Primjer:

NAZIV	KOLIČINA
<u>Djelatna tvar</u> Ginkgo biloba L. folium suhi acetonski ekstrakt 60% (v/v) ((a-b):1)	60 mg sadrži 13,2-16,2 mg flavonoida izrađenih kao flavonoglikozidi, 1,68-2,04 mg ginkgolida A, B i C i 1,56-1,92 mg bilobalida
<u>Pomoćne tvari</u>	

3. ako nisu poznate terapijski aktivne tvari u ekstraktu navodi se samo ekvivalentna količina ili omjer droge prema količini pripravka

Primjer:

NAZIV	KOLIČINA
<u>Djelatna tvar</u>	
Valerianae radix suhi etanolni ekstrakt 60% (v/v) ((a-b):1)	125 mg ekvivalentno x-y mg Valerianae radix
<u>Pomoćne tvari</u>	

Opis proizvodnog postupka

Postupak proizvodnje je priprema gotovog lijeka iz biljnih droga i/ili biljnih pripravaka, a u slučaju tradicionalnog biljnog lijeka i iz vitamina i/ili minerala. Opis proizvodnog postupka mora obuhvaćati sve faze proizvodnje, parametre procesne kontrole i podatke o validaciji.

Provjera kakvoće sirovina

Potrebno je dostaviti zahtjev kakvoće za svaku biljnu drogu, čak i kada je djelatna tvar biljni pripravak (npr. eterično ulje).

A) Provjera kakvoće biljne droge

Ako biljna droga nije opisana monografijom farmakopeje zahtjev kakvoće proizvođača mora imati oblik monografije Ph.Eur. (botanički naziv biljke), a poželjno je da sadrži i podatke o mjestu i razdoblju sabiranja biljke, tretiranju s pesticidima tijekom rasta te uvjete sušenja i čuvanja. Obvezatno je ispitivanje mikrobiološke čistoće, pesticida, teških metala, patvorina i dr. Uz zahtjev kakvoće s propisanim granicama potrebno je priložiti opis analitičkih metoda s validacijom (ako metoda nije farmakopejska).

B) Provjera kakvoće biljnog pripravka

Zahtjev kakvoće mora obuhvaćati opis, identifikaciju, ispitivanje onečišćenja (kromatografske metode), određivanje sadržaja markera ili tvari poznate djelotvornosti, ispitivanje mikrobiološke čistoće, pesticida, ostatnih otapala i teških metala. Kod standardiziranih pripravaka potrebno je navesti postupak standardizacije. Ukoliko je pripravak opisan u Ph. Eur. kao dokaz usklađenosti njegove kakvoće sa zahtjevima propisanim u monografiji Ph.Eur. može se priložiti Ovjernica Ph. Eur. (engl. *Certification of Suitability of Monographs of the European Pharmacopoeia*, CEP), koju izdaje Europsko ravnateljstvo za kakvoću lijekova pri Vijeću Europe (engl. *European Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe*, EDQM).

C) Provjera kakvoće vitamina i minerala

Provodi se u skladu sa zahtjevima opće smjernice EMEA-e za kakvoću djelatnih tvari (CHMP/WP/297/97 Rev 1 corr) (27). Zahtjev kakvoće mora obuhvaćati identifikaciju

(prema Ph. Eur. ako nije drugačije propisano), određivanje sadržaja (validiranim postupcima određivanja) i onečišćenja (ostatna otapala, razgradni produkti ukoliko su vitamini i minerali u određenoj formulaciji i u predloženim uvjetima čuvanja lijeka skloni razgradnji).

D) Provjera kakvoće pomoćnih tvari

Za svaku pomoćnu tvar (uključujući i one u proizvodnji biljnih pripravaka) prilaže se zahtjev kakvoće s metodama ispitivanja, a za pomoćne tvari koje se prvi put koriste u liječkovima (nove pomoćne tvari) i znanstveni podaci.

Provjera kakvoće gotovog lijeka

Predloženi validirani analitički postupci moraju omogućiti kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava lijeka. Ukoliko je biljni lijek složenog sastava i nije moguće odrediti pojedinu djelatnu tvar određivanje sadržaja provodi se za više djelatnih tvari zajedno. Na ovo se poglavlje primjenjuje smjernica EMEA/CVMP/815/00 Rev 1 (opisana poglavljem »Kakvoća gotovog biljnog lijeka«) (23,28).

Stabilnost

Svrha ispitivanja stabilnosti je dobivanje podataka o promjeni kakvoće djelatne tvari i gotovog lijeka tijekom određenog vremena pod utjecajem vanjskih faktora (temperature, vlage i svjetla), uz čuvanje u predloženom spremniku za daljnju distribuciju i primjenu. Ispitivanje stabilnosti uključuje provjeru svojstava koja su podložna promjeni tijekom čuvanja, a utječu na kakvoću, neškodljivost i djelotvornost lijeka. Validiranim metodama ispitivanja prate se promjene fizičkih, kemijskih, bioloških i mikrobioloških karakteristika. Na osnovu dobivenih podataka predlaže se retest period djelatne tvari i rok valjanosti gotovog lijeka te uvjeti čuvanja.

A) Stabilnost djelatne tvari

Ispitivanje stabilnosti obvezatno je za djelatne tvari koje nisu opisane monografijom Europske farmakopeje ili nacionalne farmakopeje neke od zemalja članica EU.

Ubrzano i dugoročno ispitivanje stabilnosti provodi se na najmanje dvije proizvodne serije ili tri pilot serije tijekom najmanje šest mjeseci. U uvjetima dugoročnog čuvanja (prema odabiru proizvođača pri $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 60\% \text{ RV} \pm 5\% \text{ RV}$ ili $30\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 65\% \text{ RV} \pm 5\% \text{ RV}$) učestalost testiranja je svaka tri mjeseca tijekom prve godine, svakih šest mjeseci tijekom druge godine te jednom godišnje tijekom predloženog retest perioda (engl. *long term stability study*). Ubrzano ispitivanje (pri $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 75\% \text{ RV} \pm 5\% \text{ RV}$) provodi se tijekom 6 mjeseci (engl. *accelerated stability study*). U slučaju značajnih promjena pri ubrzanim uvjetima, obvezatno je potrebno provesti ispitivanje pri $30\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 65\% \text{ RV} \pm 5\% \text{ RV}$ kroz 12 mjeseci (engl. *intermediate stability study*).

Za biljne droge / pripravke nije potrebno provoditi stres ispitivanja (utjecaj oksidacije, svjetlosti, povišene temperature i dr.), a ako je od strane proizvođača opravdano moguće

je i izostaviti ubrzano praćenje stabilnosti uz obvezatno navođenje uvjeta čuvanja pri temperaturi do 25 °C.

B) Stabilnost gotovog lijeka

Postupak ispitivanja stabilnosti gotovog lijeka temelji se na podacima o ponašanju i svojstvima djelatne tvari i farmaceutskog oblika. Za standardne farmaceutske oblike (npr. tablete, otopine) i stabilne djelatne tvari, stabilnost se ispituje na najmanje dvije pilot serije. Za kritične oblike doziranja i nestabilne djelatne tvari praćenje stabilnosti provodi se na tri proizvodne serije.

Učestalost dugoročnog ispitivanja (pri 25 °C ± 2 °C / 60% RV ± 5% RV ili 30 °C ± 2 °C / 65% RV ± 5% RV) mora biti dovoljna za procjenu profila stabilnosti gotovog lijeka (najčešće svaka tri mjeseca tijekom prve godine, svakih šest mjeseci tijekom druge godine te jednom godišnje tijekom predloženog roka valjanosti). Pri ubrzanim uvjetima čuvanja (pri 40 °C ± 2 °C / 75% RV ± 5% RV) preporučuje se šestomjesečno ispitivanje. U slučaju značajnih promjena (npr. promjena izgleda, porast sadržaja razgradnih produkata iznad postavljene granice i dr.) ispitivanje je potrebno provesti pri 30 °C ± 2 °C / 65% RV ± 5% RV kroz 12 mjeseci. Ako biljni lijek sadrži drogu ili pripravak s tvarima poznate djelotvornosti dozvoljeno odstupanje početne vrijednosti sadržaja tijekom predloženog roka valjanosti iznosi najviše ± 5 %. Ako biljni lijek sadrži drogu ili pripravak u kojima terapijski aktivne tvari nisu poznate dozvoljeno odstupanje početne vrijednosti sadržaja markera tijekom predloženog roka valjanosti može iznositi najviše ± 10 %.

U dokumentaciji za registraciju prilažu se rezultati dugoročnog ispitivanja stabilnosti najmanje tijekom šest mjeseci, koje se mora nastaviti do kraja predloženog roka valjanosti. Ako se pri ubrzanim uvjetima čuvanja nisu ustanovile značajne promjene, može se temeljem raspoloživih rezultata dugoročnog ispitivanja stabilnosti biljnog lijeka postaviti rok valjanosti dvostruko duži od perioda dugoročnog ispitivanja stabilnosti, a najviše do 36 mjeseci. Izrazi »ambijentalni uvjeti« i »sobna temperatura« nisu dozvoljeni (29).

Prilog 1. Struktura Modula 3 CTD-a (registracijske dokumentacije) za biljne lijekove (26).

3.1. SADRŽAJ

3.2.S. DJELATNA(E) TVAR(I)

3.2.S.1. Opći podaci

Nazivlje

- biljne droge – znanstveni naziv biljke (rod, vrsta, podvrsta i autor) i kemotip (ako je primjenjivo), dio biljke i drugi nazivi (sinonimi navedeni u nacionalnim farmakopejama)
- biljnog pripravka – znanstveni naziv biljke (rod, vrsta, podvrsta i autor) i kemotip (ako je primjenjivo), dio biljke, omjer biljne droge i biljnog pripravka, ekstrakcijsko otapalo(a) i drugi nazivi (sinonimi)

Struktura

- navodi se fizički oblik biljne droge i biljnog pripravka, opis sastavnica poznate djelotvornosti ili markera (molekulska i strukturna formula, relativna molekulska masa)

Opća svojstva

3.2.S.2. Proizvodni postupak

Proizvođač(i)

- biljne droge
 - biljnog pripravka
- navodi se naziv, adresa i odgovornost svih proizvođača (uključujući suradne) te svakog

predloženog mjesta sabiranja, proizvodnje i provjere kakvoće

Opis proizvodnog postupka i procesne kontrole

- a) biljne droge – priloženi podaci moraju obuhvaćati opis staništa (nalazišta), uzgoja, sabiranja, sušenja i uvjeta čuvanja ljekovite biljke te veličinu proizvodne serije
- b) biljnog pripravka – priloženi podaci moraju obuhvaćati opis postupka proizvodnje biljnog pripravka uz prikaz svih faza proizvodnje dijagramom tijeka (upotrebljena otapala i reagensi, opis faza pročišćavanja i standardizacije) te veličinu proizvodne serije

Provjera kakvoće polaznih sirovina

Validacija i/ili evaluacija proizvodnog postupka

Razvoj proizvodnog postupka

3.2.S.3. Karakterizacija

Objašnjenje strukture i drugih karakteristika

- a) biljne droge – podaci o botaničkim, makroskopskim, mikroskopskim i fitokemijskim karakteristikama te biološkoj aktivnosti
- b) biljnog pripravka – podaci o fitokemijskim i fizikalnokemijskim karakteristikama te biološkoj aktivnosti

Onečišćenja

3.2.S.4. Provjera kakvoće djelatne(ih) tvari

Zahtjev kakvoće

Opis analitičkih metoda

Validacija analitičkih metoda

Certifikat analize proizvedene serije djelatne tvari

3.2.S.5. Referentni standardi ili materijali

3.2.S.6. Spremnik

3.2.S.7. Stabilnost

3.2.P. GOTОВИ LIJEK

3.2.P.1. Opis i sastav gotovog lijeka

3.2.P.2. Farmaceutski razvoj gotovog lijeka

Kvalitativni i kvantitativni sastav gotovog lijeka

– djelatne i pomoćne tvari

Razvoj formulacije lijeka

Podaci o suvišku sastavnica gotovog lijeka

Fizikalno-kemijska i biološka svojstva

Razvoj proizvodnog postupka

Spremnik

Mikrobiološka svojstva

Kompatibilnost

3.2.P.3. Proizvodni postupak

Proizvođač(i)

Proizvodna receptura

Opis proizvodnog postupka i procesna kontrola

Kontrola kritičnih faza i međuproduoda

Validacija i/ili evaluacija proizvodnog postupka

3.2.P.4. Provjera kakvoće pomoćnih tvari

Zahtjev kakvoće za pomoćne tvari

Opis analitičkih metoda

Validacija analitičkih metoda

Pomoćne tvari humanog ili životinjskog podrijetla

Nove pomoćne tvari (znanstveni podaci)

3.2.P.5. Provjera kakvoća gotovog lijeka

Zahtjev kakvoće gotovog lijeka

Opis analitičkih metoda

Validacija analitičkih metoda

Certifikat analize proizvedene serije gotovog lijeka

Karakterizacija onečišćenja

3.2.P.6. Referentni standardi ili materijali

3.2.P.7. Spremnik

3.2.P.8. Podaci o stabilnosti gotovog lijeka

ZAKLJUČAK

Prema definiciji *Zakona o lijekovima i medicinskim proizvodima* (Narodne novine, broj 121/03) **kakvoća lijeka** je prihvatljivo fizičko, kemijsko, biološko, farmaceutsko-tehnološko i drugo svojstvo lijeka. Kriteriji prihvatljivosti pokazatelja kakvoće lijeka najmjerodavnije su opisani smjernicama SZO-e i EMEA-e. Ove smjernice potrebno je slijediti pri kreiranju i evaluaciji dokumentacije o kakvoći djelatne tvari i gotovog lijeka, koja se obve-

zatno prilaže uz zahtjev za registraciju biljnog lijeka tradicionalne, medicinski provjerene i terapijski nove primjene. Smjernicama propisane kriterije prihvatljivosti jedino je moguće postići primjenom sustava osiguranja kakvoće u proizvodnji polaznih biljnih sirovina (engl. *Good agricultural and collection practice*, GACP) te djelatnih tvari (biljnih droga/pripravaka) i gotovog biljnog lijeka (engl. *Good manufacturing practice*, GMP). Nakon dobivanja odobrenja za stavljanje u promet nastavlja se praćenje kakvoće biljnog lijeka putem laboratorijske provjere svake serije proizvedenoga lijeka, farmaceutske inspekcije lijekova iz prometa, prijavljivanja nuspojava i dr. U današnjem vremenu dostupnosti široke palete različitih biljnih proizvoda, među kojima su i oni krivotvoreni (npr. patvoreni s kemijskim lijekovima) i/ili nedostatne kakvoće (zbog nestandardiziranog sastava, zamjene sa štetnim biljnim vrstama, onečišćenja s teškim metalima, pesticidima, mikotoksinama, mikroorganizmima), jedina sigurnost za pacijenta je primjena proizvoda provjerene kakvoće koji imaju oznaku broja i datuma odobrenja izdanog na period od pet godina od strane nadležnog regulatornog tijela (Agencija za lijekove i medicinske proizvode RH za biljne lijekove, a Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi RH za ostale regulatorne skupine biljnih proizvoda – dodatke prehrani i kozmetiku s posebnom namjenom). Na ovom je području svakako potrebna edukacija i informiranost farmaceuta i liječnika primarne zdravstvene zaštite.

Quality of Herbal Medicinal Product (HMP)

by J. Cvek, A. Borić, M. Medić-Šarić and S. Tomić

S u m m a r y

A lot of factors such as temperature, light exposure, water availability, nutrients, period and site of collection, age and part of plant collected, method of collection, processing (drying, chemical/radioactive treatment,...), storage and distribution of starting herbal material, etc., can greatly affect the quality and consequently the therapeutic value of herbal medicines. Therefore, it is essential to produce starting material under *Good Agriculture and Collection Practice* (GACP) conditions. Because of plant's genetic and chemical content variations, the site and date should be recorded for each collection. The production of starting materials by cultivation would normally lead to more consistent herbal products due to greater genetic uniformity. Furthermore, cultivation permits monitoring of active constituents and defining of the best period for harvesting. Whether field collected from the wild or produced by cultivation, botanical authentication of plant species and identification by their binomial Latin names are necessary to insure that the correct herbal material is obtained. Also, care must be taken to free the targeted starting material of undesirable plant parts, soil, insects, animal excreta and other contaminants. During post-collection treatments microbial, agrochemical residues and toxic metals contamination should be reduced to a minimum. The harvested starting material must be processed to produce the finished herbal product under *Good Manufacture Practices* (GMPs) which are similar to those employed for the manufacture of conventional drugs.

Frequent variability in the composition of herbally based medicines can be avoided by proper standardization of herbal drugs/preparations and their quality control using pharmacopoeial and/or validated testing methods. In the cases where the active principles are unknown, marker substance(s) should be established for analytical purposes. Independently on traditional use of HMP, all data concerning the quality »from the seeds to the final product« should be provided in the application dossier for marketing authorisation. Post-marketing surveillance by regulatory agencies is further pivotal step in the permanent quality assurance of HMP.

Literatura – References

1. H. H. S. Fong, Integration of Herbal Medicine Into Modern Medical Practices: Issues and Prospects, *Integr. Cancer. Ther.* **1**(3) (2002) 287–293.
2. A. T. Williamson, P. C. Fletcher, K. A. Dawson, Complementary and alternative medicine. Use in an older population, *J. Gerontol. Nurs.* **29**(5) (2003) 20–8.
3. M. D. Rotblatt, Herbal medicine: a practical guide to safety and quality assurance, *West. J. Med.* **171** (1999) 172–175.
4. W. Busse, The significance of quality for efficacy and safety of herbal medicinal products, *Drug Inf. J.* **34** (2000) 15–23.
5. G. B. Mahady, Global Harmonization of Herbal Health Claims, *J. Nutr.* **131** (2001) 1120S–1123S.
6. N. R. Slifman, W. R. Obermeyer, B. K. Aloï, S. M. Musser, W. A. Correll, S. M. Cichowicz, J. M. Betz, L. A. Love, Contamination of botanical dietary supplements by *Digitalis lanata*, *N. Engl. J. Med.* **339**(12) (1998) 806–811.
7. www.emea.eu.int, Public Statement on the Risks Associated with the Use of Herbal Products containing *Aristolochia* Species, April 2005.
8. S. Marković, Aromaterapija, *Farm. Glas.* **4** (2005) 209–223.
9. D. Kuštrak, Farmakognozija fitofarmacija, Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb 2005, 473.
10. E. Ernst, Contamination of herbal medicines, *Pharm. J.* **275** (2005) 167–168.
11. F. M. Keane, S. E. Munn, A. W. P. du Vivier, N. F. Taylor, E. M. Higgins, Analysis of Chinese herbal creams prescribed for dermatological conditions, *Br. Med. J.* **318** (1999) 563–564.
12. Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM), European Pharmacopoeia 5th Edition Volume 1, 2.8.13. Pesticide residues, Strasbourg, June 2004., 218–221.
13. R. Bauer, Quality criteria and standardization of phytopharmaceuticals: Can acceptable drug standards be achieved?, *Drug Inf. J.* **32** (1998) 101–110.
14. Pharmacopoeial Forum, USP Monograph (565) Botanical Extracts, **25**(2) (1999) 7880–7883.

15. E. O. Espinosa, M.-J. Mann, B. Bleadsdell, S. DeKorte, M. Cox, Toxic metals in selected traditional Chinese medicinals, *J. Forensic Sci.* **41** (1996) 453–456.
16. R. B. Saper, S. N. Kales, J. Paquin, M. J. Burns, D. M. Eisenberg, R. B. Davis, R. S. Phillips, Heavy Metal Content of Ayurvedic Herbal Medicine Products, *JAMA* **292**(23) (2004) 2868–2873.
17. World Health Organization, Quality control methods for medicinal plant material, Geneva, September 2005, 41.
18. World Health Organization, WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants, Geneva, 2003.
19. G. C. de los Reyes, R. T. Koda, Determining hyperforin and hypericin content in eight brands of St. John's wort, *Am. J. Health Syst. Pharm.* **59** (2002) 545–547.
20. J. Barnes, Quality, efficacy and safety of complementary medicines: fashions, facts and the future. Part I: Regulation and quality, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **55**(3) (2003) 226–33.
21. J. B. Calixto, Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents), *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **33**(2) (2000) 179–189.
22. J. Cvek, *Regulativa za biljne lijekove*, *Farm. Glas.* **12** (2005) 699–715.
23. www.emea.eu.int, Guideline on Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Herbal Substances, Herbal Preparations and Herbal Medicinal Products / Traditional Herbal Medicinal Products (EMA/CVMP/815/00 Rev 1), June 2005.
24. Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM), European Pharmacopoeia 5th Edition Volume 1, 5.1.4. Microbiological quality of pharmaceutical preparations, Strasbourg, June 2004., 449.
25. Narodne novine, broj 143/98, Pravilnik o postupku i načinu davanja odobrenja za stavljanje u promet gotovog lijeka, Zagreb, 25. rujna 1998.
26. www.pharmacos.eudra.org, CTD – Module 3 Quality – herbal, srpanj 2003.
27. www.emea.eu.int, Guideline on Summary of requirements for active substances in the quality part of the dossier (CHMP/QWP/297/97 Rev 1 corr), July 2005.
28. www.emea.eu.int, Guideline on Quality of Herbal Medicinal Products / Traditional Herbal Medicinal Products (EMA/CVMP/814/00 Rev 1), 2004.
29. www.emea.eu.int, Guideline on Stability Testing: Stability Testing of Existing Active Substances and Related Finished Products, December 2003.

Primljeno: 13. 02. 2006.