

Artemisia absinthium

(assenzio)



Nome: *Artemisia absinthium*

Famiglia: *Compositae*

Genere: *Artemisia* L.

Specie: *Artemisia absinthium* L.

Sinonimi: artemisia maggiore, artemisia romana, alvina, bon maistro, cinz dragon, erba branca, medeghetto, megu, scenzio

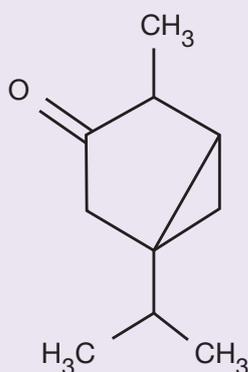
Provenienza: Europa (cresce spontanea particolarmente in Italia)

Principi attivi: α - e β -tujone, absintina, anabsintina, artabsina, anabsina e anabsinina. Il tujone è un principio attivo contenuto anche nella *Salvia officinalis*

I principi attivi sopra menzionati si trovano soprattutto nelle foglie, negli steli e nelle sommità fiorite della pianta. L' α - ed il β -tujone, dei monoterpeni, sono molecole presenti nell'olio essenziale e nelle porzioni aeree dell'*Artemisia absinthium*, della *Salvia sclarea*, del *Tanacetum vulgare* e nelle varie specie di ginepro e cedro. Il rapporto tra l' α - ed il β -tujone varia secondo la fonte vegetale da cui vengono estratti. Nell'*Artemisia absinthium* le concentrazioni di α -tujone variano tra lo 0,53 e l'1,22% e quelle del β -tujone tra il 17,5 ed il 42,3%⁽¹⁾. Dai dati raccolti intorno al IX secolo risulta che il liquore assenzio, così come veniva preparato a partire dall'*Artemisia absinthium* proprio in quel periodo, contenesse circa 260 ppm di tujone (260 mg/l). Alcuni autori ritengono ancor oggi che l'assenzio, così come veniva preparato nel IX secolo, contenesse un quantitativo elevato di tujone⁽²⁾. Analisi recenti, tuttavia, non hanno confermato tale ipotesi, rilevando in liquori datati (1930) e preparati secondo le ricette originali, valori di tujone estremamente più bassi (~1,8 mg/l)⁽³⁾.

La (+)-absintina, è stata isolata nel 1953 quando è stata anche classificata come il principale guaianolide dimerico estratto dall'*Artemisia absinthium* L. La completa struttura molecolare di questo triterpene è stata tuttavia completata solo nel 1980, utilizzando tecniche quali la risonanza magnetica nucleare e la cristallografia ai raggi-X⁽⁴⁾. L'absintina è responsabile del sapore estremamente amaro della pianta.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: tujone (absintolo).

Formula Molecolare: C₁₀H₁₆O (peso molecolare = 152,2).

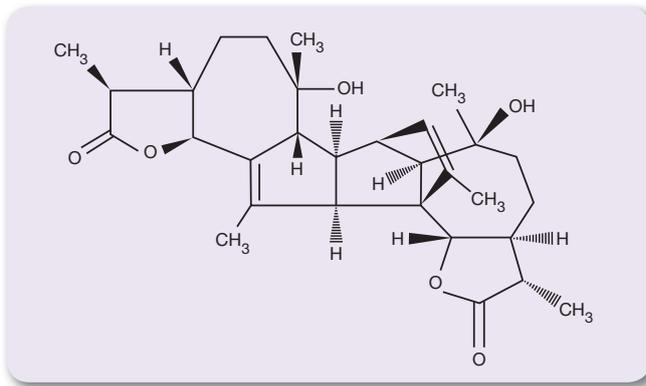
Nome sistematico: 4-metil-1-(1-metiletil)biciclo[3.1.0]-esan-3-one; 3-tujanone.

Numero di registro CAS: 546-80-5.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: in isoottano, 300 nm.

Solubilità: praticamente insolubile in acqua, solubile in alcol e diversi altri solventi organici⁽⁵⁾.



Nome: absintina.

Formula Molecolare: C₃₀H₄₀O₆ (peso molecolare = 496,6).

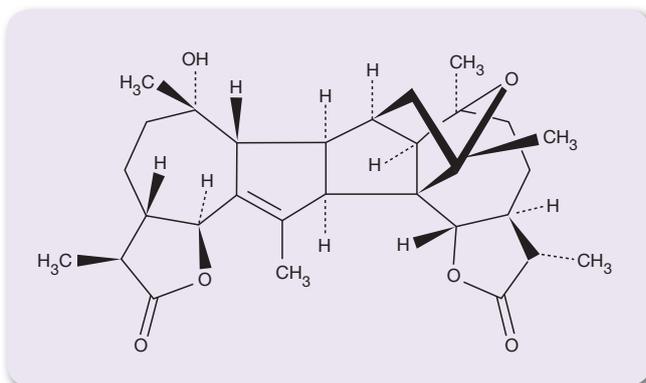
Nome sistematico: (1R,2R,5S,8S,9S,12S,13R,14S,15S,16R,17S,20S,21S,24S)-12,17-diidrossi 3,8,12,17,21,25-esametil -6,23-diossaeptaciclo[13.9.2.0(1,16).0(2,14).0(4,13).0(5,9).0(20,24)] esacosa-3,25-diene-7,22-dione.

Numero di registro CAS: 1362-42-1.

Punto di fusione: 179-180°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: anabsintina.

Formula Molecolare: C₃₀H₄₀O₆ (peso molecolare = 496,6).

Nome sistematico: 3,3a,4,5,6,6a,6b,7,7a,8,9,10,10a,13a,13c,14b-esadecaidro-3,6,8,11,14,15-esametil-2H-8,15-epossi, 13b-etanopentaleno (1'',2'':6,7;5'',4'':6',7') diciolepta (1,2-b:1',2'-b')difuran-2,12(11H)-dione.

Numero di registro CAS: 6903-12-4.

Punto di fusione: 267°C (anidro), 210°C (monoidrato).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono in presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: artabsina.

Formula Molecolare: C₁₅H₂₀O₃ (peso molecolare = 248,3).

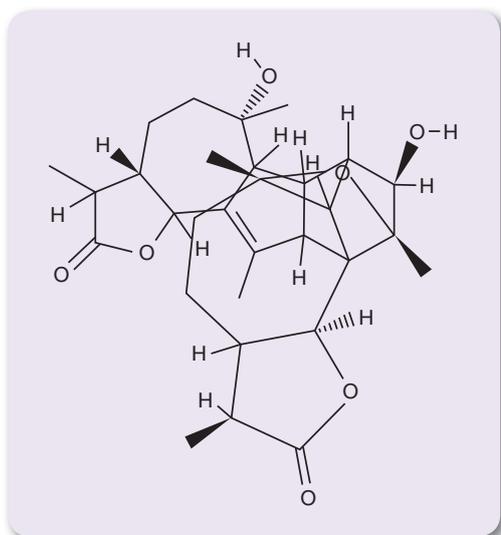
Nome sistematico: (3S,3aS,6S,9bS)-6-idrossi-3,6,9-trimetil-3,3a,4,5,8,9b-esaidroazuleno[4,5-b]furan-2-one.

Numero di registro CAS: 24399-20-0.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono in presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: anabsina.

Formula Molecolare: C₃₀H₄₀O₇ (peso molecolare = 512,6).

Nome sistematico: non sono presenti in letteratura dati relativi al nome sistematico.

Numero di registro CAS: 72542-39-3.

Punto di fusione: 276°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: dissolve a caldo in soluzioni diluite di alcali.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla formula molecolare, al nome sistematico, al punto di fusione, all'UVmax e alla solubilità relativi all'anabsinina.

Uso storico

Le proprietà officinali dell'*Artemisia absinthium* erano conosciute ed utilizzate fino dall'antichità: sembra infatti che la pianta venga addirittura citata in un papiro egiziano del 1600 a.C.

Plinio e Plutarco, dal canto loro, nel 150 a.C. riferiscono come l'assenzio venisse utilizzato in qualità di insetticida per i campi.

Le foglie ed i fiori dell'*Artemisia absinthium* sono soprattutto conosciuti in qualità di ingredienti utilizzati per la preparazione di un liquore particolare, conosciuto, appunto, con il nome di assenzio⁽⁶⁾. Storicamente, l'inventore del liquore fu un medico francese, Pierre Ordinaire, che nel 1792, dopo essere fuggito dalla Rivoluzione Francese, si stabilì a Couvet, in Svizzera. Come molti medici di campagna, egli preparava da solo i rimedi contro le più comuni malattie utilizzando erbe officinali. In Svizzera trovò l'assenzio maggiore (*Artemisia absinthium*) e conoscendo l'uso di tale pianta nei tempi antichi, iniziò a sperimentarlo. Il Dr. Ordinaire distillò un forte liquore (circa 60° di volume alcolico) contenente oltre all'assenzio anche anice, issopo, dittamo, acoro, melissa (un tipo di menta) e svariate quantità di altre erbe comuni. Il suo assenzio divenne estremamente famoso come toccasana a Couvet e fu denominato già da allora la *Fée Verte* (La Fata Verde). Si dice che alla sua morte Ordinaire lasciò la sua ricetta segreta alle sorelle Henriod, anch'esse di Couvet, ma alcuni credono che le sorelle producessero il loro assenzio già molto prima di Pierre Ordinaire. Nel XIX secolo molte distillerie comparvero in Francia e in Svizzera producendo marchi diversi di assenzio e tale liquore divenne poi noto per la popolarità che ebbe in Francia tra gli scrittori ed artisti parigini alla fine del XIX secolo e all'inizio del XX⁽⁷⁾.

L'assenzio fu l'ispirazione del modo di vivere *bohémien* ed era la bevanda preferita di artisti famosi come ad esempio Van Gogh e Toulouse Lautrec. Il liquore non veniva, di solito, bevuto "d'un fiato", ma consumato dopo un rituale abbastanza elaborato nel quale uno specifico cucchiaino scanalato contenente un cubetto di zucchero era posto sopra un bicchiere sul quale veniva versata dell'acqua ghiacciata sino a raggiungere un volume pari a cinque volte quello del liquore. Gli accessori utilizzati nei locali dell'epoca erano estremamente stravaganti: i bicchieri ed i cucchiaini dalle forme bizzarre davano al rito del bere un'atmosfera fascinosa e piena di mistero.

Il successo dell'assenzio in Europa fu clamoroso, ma altrettanto rapido fu poi il suo declino: scomparve da tutti i mercati d'Europa e d'oltre oceano in poco più di un decennio. Le ragioni di ciò furono essenzialmente tre: innanzitutto il forte movimento che si batteva contro l'alcolismo che attraversò tutta l'Europa nei primi anni del '900; poi gli studi scientifici che individuarono il tujone quale neurotossina in grado di provocare convulsioni e morte negli animali di laboratorio; infine la pressione esercitata dai produttori di vino francesi che temevano la crescente popolarità dell'assenzio.

Uso attuale

Il liquore è conosciuto in Europa con nomi diversi: in Francia, sua patria naturale, è conosciuto con il nome di *absinthe*, in Inghilterra con il nome di *wormwood*, in Germania con il nome di *wermuth*, in Italia con il nome di assenzio, appunto. Il *vermut* prodotto in Piemonte deve il suo nome proprio all'assenzio (dal tedesco *Wermuth*) che viene usato nella sua preparazione, e che conferisce al vino un particolare aroma ed uno speciale sapore amaro.

L'*absinthe* ha solitamente un colore verde pallido (di qui il nome "Fata verde") ed un sapore simile a un liquore a base di anice, ma con un aroma più aspro dovuto alle molte erbe usate, ed un retrogusto leggermente amaro. Il contenuto alcolico della bevanda è estremamente elevato (tra il 45 ed il 90%).

La "fatina verde", questo liquore che sa d'alchimia, la cui fama è stata alimentata dalla passione d'interesse generazioni d'artisti, sta di nuovo risvegliando l'interesse di una nuova schiera di consumatori, attirati soprattutto dal mito legato al suo utilizzo. Cosa può attrarre di più, infatti, di una bevanda descritta e rappresentata da artisti famosi e popolari quali Van Gogh, Toulouse Lautrec, Ernest Hemingway, Oscar Wild e Pablo Picasso?

Legislazione

In Italia la monarchia vietò l'assenzio dopo un referendum nel 1931, ma il decreto legislativo del 25 gennaio 1992 n. 107⁽⁸⁾, a dispetto di un articolo di legge mai abrogato, sembra tuttavia consentirne la vendita (in *e-commerce*) per soddisfare la libera circolazione delle merci in ambito dell'Unione Europea. Negli Stati Uniti non è ammesso l'utilizzo del tujone in qualità di sostanza aromatizzante. A livello europeo, l'Allegato II della Direttiva 88/388/EEC⁽⁹⁾ sugli aromatizzanti fissa a 0,5 mg/kg il massimo livello consentito di tujone (α e β) nelle derrate alimentari e nelle bevande cui sono stati aggiunti aromatizzanti o ingredienti alimentari con proprietà aromatizzanti. Fanno eccezione, essendo consentiti in tali casi livelli maggiori di tujone: 1) le bevande alcoliche con non più del 25% in volume di alcol (5 mg/kg); 2) le bevande alcoliche con più del 25% di alcol in volume (10 mg/kg); le derrate alimentari contenenti preparazioni a base di salvia (25 mg/kg), le birre (35 mg/kg). Il tujone non può essere aggiunto come tale al cibo.

Il Ministero della Salute (Circolare n. 2 del 25 novembre 2004, pubblicata in Gazzetta Ufficiale n. 302 del 27 dicembre 2004) ha inserito l'olio dell'*Artemisia absinthium* L. in una lista degli estratti vegetali non ammessi negli integratori alimentari. La capitula, l'herba c. floribus e il folium dell'*Artemisia absinthium* L. invece, sono state inserite nella lista degli estratti vegetali ammessi negli integratori alimentari⁽¹⁰⁾.

La Francia e la Gran Bretagna hanno fissato il quantitativo massimo giornaliero di tujone che può essere assunto da un individuo. In Francia, tale quantitativo è tra i 15,6 e 44,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporeo/die. La Gran Bretagna, invece, ha fissato livelli più bassi, e pari, rispettivamente, a 3,9 e 14,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporeo/die. Questi valori sono stati ricavati in funzione dei limiti massimi proposti dal Consiglio d'Europa nel 2000. Il maggior apporto alimentare di tujone sembra derivare dal consumo di *Salvia officinalis* (o dai prodotti aromatizzati con la salvia) nonché dalle bevande alcoliche.

In Francia il Decreto 88-1.024 del 2 Novembre 1988 ha confermato la Legge 16 Marzo 1915, ristabilendo il divieto di vendita dell'assenzio e di liquori similari ed elencando le sostanze la cui presenza pone il liquore nella medesima categoria di divieto dell'assenzio.

Negli Stati Uniti l'assenzio inteso come bevanda tradizionale è proibito a causa del contenuto in tujone. Il tujone è proibito come additivo alimentare in accordo alla sezione 801° del Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (agosto 1972)⁽¹¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La tossicità dell'assenzio è stata fino a pochi anni fa attribuita esclusivamente al monoterpene tujone e ai suoi metaboliti, sebbene recentemente siano state attribuite proprietà farmacologiche anche ai lattoni sesquiterpenici quali absintina, anabsintina, artabsina, anabsina e anabsinina presenti nell'olio essenziale estratto dalla pianta.

Sono stati identificati due metaboliti urinari neutri: il 3- α -idrossi- β -tujone e il 3- β -idrossi- β -tujone. Questi metaboliti indicano che la reazione di riduzione è stereospecifica, in virtù della differente configurazione dei due gruppi metilici. Inoltre esperimenti effettuati su microsomi di topo hanno mostrato come il metabolismo dell' α -tujone generi un metabolita principale, il 7-idrossi- α -tujone e cinque metaboliti secondari (4-idrossi- α -tujone, 4-idrossi- β -tujone, 8-idrossi- α -tujone, 10-idrossi- α -tujone ed il 7,8-deidro- α -tujone)⁽¹²⁾.

Le reazioni stereospecifiche e le differenze specie-specifiche nel metabolismo dei diastereoisomeri del tujone sono state osservate nei microsomi epatici di ratto e di topo *in vivo* e di uomo *in vitro*. La 2-idrossilazione è stata osservata solamente nel topo, dove il metabolita coniugato rappresenta il maggior metabolita urinario. La 4-idrossilazione dell' α - e β -tujone rappresenta un'altra via metabolica ed il 4-idrossi-tujone è il principale metabolita urinario nel ratto. La 7-idrossilazione genera nelle urine di topo un metabolita coniugato secondario. La sito-specificità nella glucuronidazione favorisce la coniugazione del (2R)-9-idrossi e 4-idrossi-tujone glucuronide rispetto agli altri idrossitujoni⁽¹⁾.

Nella medicina popolare l'assenzio è stato utilizzato nella cura dei sintomi dispeptici, oltre che come eupeptico (sostanza di intenso sapore amaro che favorisce la digestione) e carminativo (sostanza che favorisce l'eliminazione di gas dallo stomaco e dall'intestino)⁽¹³⁾.

L'assenzio possiede anche proprietà antimicrobiche. In un recente studio è stata osservata la capacità dell'olio essenziale di inibire la crescita di *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*⁽¹⁴⁾.

L'assenzio esercita inoltre un effetto protettivo nei confronti di insulti tossici a carico del fegato, parzialmente associato all'inibizione degli enzimi microsomiali epatici. Uno studio effettuato sui ratti ha evidenziato che l'estratto crudo della pianta, somministrato per via orale alla dose di 500 mg/kg, è in grado di esercitare sui roditori un'azione preventiva e curativa nei confronti del danno epatico indotto da paracetamolo e da tetracloruro di carbonio (CCl₄), due modelli sperimentali di epatotossicità ampiamente utilizzati⁽¹⁵⁾.

Altri effetti biologici determinati dal tujone derivano da studi effettuati su colture di cellule embrionali di fegato di pollo. Da questi studi si evince che il tujone è porfirigenico (causa un accumulo di copro- e protoporfirina) e può essere responsabile di porfiria acuta. L'accumulo di porfirina indotto dal terpene viene ulteriormente incentivato dalla contemporanea somministrazione di desferossamina, un chelante per il ferro che inibisce la biosintesi dell'eme e mima il blocco che si verifica nei casi di porfiria acuta. Da questi studi risulta pertanto che la somministrazione di tujone può essere pericolosa in pazienti con deficit nella biosintesi dell'eme a livello epatico⁽¹⁶⁾.

In uno studio recente, partendo dall'osservazione *in vitro* dell'azione soppressiva sul fattore di necrosi tumorale (TNF- α) esercitata dagli estratti di assenzio, si è voluto indagare sui loro possibili effetti sul decorso della malattia di Crohn. I pazienti selezionati sono stati trattati, oltre che con la loro terapia abituale, con assenzio in polvere per sei settimane. In questi soggetti, rispetto al gruppo di controllo, si è notata una diminuzione del livello sierico di TNF- α , ed un miglioramento del tono dell'umore e, in alcuni individui tra quelli testati, la remissione dei sintomi⁽¹⁷⁾.

Tossicità

In accordo con la normativa europea (88/388/EEC 1988) il livello massimo di tujone nelle bevande alcoliche non può essere maggiore di 5 mg/kg e, in ogni caso, la percentuale di questa sostanza non deve superare il 25% del volume di alcol e i 35 mg/kg negli amari.

Nonostante sia presente in quantità minori rispetto al β -tujone, il principale responsabile degli effetti psicoattivi e tossici dell'assenzio è considerato l' α -tujone.

La neurotossicità dell' α -tujone è stata associata alla sua capacità di bloccare a livello cerebrale i recettori dell'acido γ -aminobutirrico (GABA). In particolare, uno studio condotto da Hold e coll.,⁽¹²⁾ ha dimostrato che il tujone agisce da antagonista dei recettori GABA_A. L' α -tujone è circa 2-3 volte più attivo e quindi più tossico del β -tujone. Per quanto meno potenti dell' α -tujone, i metaboliti 7-idrossi- α -tujone e deidro- α -tujone manifestano anch'essi effetti neurotossici. La riduzione dell'attività gabaergica prodotta dall' α -tujone contenuto nell'assenzio sembra favorire l'insorgenza di scariche elettriche neuronali anomale, responsabili delle manifestazioni cliniche di tipo comiziale^(12,18). È stato ipotizzato che l'attività pro-convulsivante dell' α -tujone possa essere correlata anche ad una riduzione della risposta del recettore 5-HT₃ per la serotonina⁽¹⁹⁾.

Il tujone, inoltre, in virtù della somiglianza strutturale con il delta-9-tetraidrocannabinolo, principio attivo psicotropo della cannabis, possiede una lieve affinità per i recettori dei cannabinoidi senza tuttavia indurre effetti cannabis-mimetici⁽¹⁸⁾.

La comparsa di effetti tossici è concentrazione-dipendente. Estratti di assenzio somministrati per 13 settimane al ratto nell'acqua da bere ad una concentrazione inferiore al 2% (equivalente a 1,27 g/kg/die nei maschi e 2,06 g/kg/die nelle femmine) non producono effetti tossici⁽¹⁹⁾.

L'Unione Europea nel 2002 ha redatto un documento circa la sicurezza nell'utilizzo di bevande alcoliche o alimenti contenenti aromatizzanti a base di tujone. In questo contesto si è stabilito che il consumo di 1 litro di una bevanda alcolica (25% di alcol) contenente 5 mg/l di tujone determina in un adulto di 60 kg di peso l'assunzione di una dose di tujone pari a 4,8 mg (0,08 mg/kg). Questi valori sono 100 volte inferiori a quelli stabiliti negli studi di NOEL (No Observed Effect Level) sul ratto (NOEL per le convulsioni nel ratto maschio: 12 mg/kg)⁽¹⁾.

Dati relativi alla tossicità acuta del tujone

Nel coniglio - DL50 dopo somministrazione endovenosa: 0,031 mg/kg

Nel ratto - DL50 dopo somministrazione orale: di 500 mg/kg

Effetti avversi

I sintomi associati ad intossicazione acuta sono rappresentati da convulsioni (scariche neuronali corticali), ipotensione da vasodilatazione generalizzata, diminuzione del ritmo cardiaco e difficoltà respiratorie.

In passato (XIX e del XX secolo) si riteneva che l'abuso cronico di absinthe (il liquore a base di assenzio) fosse responsabile dell'insorgenza di "absintismo", sindrome caratterizzata da una iniziale sensazione di benessere cui facevano seguito la percezione di allucinazioni ed un profondo stato depressivo. All'uso prolungato di assenzio venivano inoltre attribuiti l'insorgenza di convulsioni, la cecità, allucinazioni e deterioramento mentale. Caratteristico è il caso di Vincent Van Gogh che negli ultimi anni della sua vita ha patito allucinazioni che si riteneva fossero conseguenti alla malattia di tipo psicotico da cui era affetto. In realtà sembra che l'artista fosse un forte bevitore di absinthe e che avesse sviluppato la sindrome dell'absintismo⁽²⁰⁾.

Recentemente è stato evidenziato che gli effetti tossici che si manifestano in seguito ad assunzione cronica non sono correlabili al solo contenuto di tujone nel liquore preparato secondo la ricetta tradizionale. Gli "effetti non desiderati" imputati nel tempo al tujone potrebbero in realtà derivare dall'abuso cronico di alcol contenuto nel liquore e dalla miscela di alcune erbe tossiche (*Acorus calamus*, *Tanacetum vulgare*) che venivano utilizzate come adulteranti del liquore, o ancora, dall'uso di adulteranti quali zinco o cloruro di antimonio⁽³⁾.

Il tujone è potenzialmente neurotossico e, somministrato all'animale da esperimento, causa l'insorgenza di convulsioni. Nonostante il basso contenuto di tujone presente nel liquore, sono documentati diversi casi clinici in cui viene riportato il manifestarsi di effetti avversi (attacchi epilettici) in individui che hanno assunto olio essenziale contenente tujone⁽¹⁾.

In letteratura è riportato un caso clinico riferito ad un paziente ospedalizzato a causa di episodi convulsivi associati a raddomiolisi, insufficienza renale e scompenso cardiaco congestizio, insorti a seguito dell'assunzione erronea di 10 ml di olio essenziale di assenzio. La sintomatologia è regredita insieme ad una normalizzazione dei parametri di laboratorio dopo 17 giorni di degenza⁽²¹⁾.

Interazioni farmacologiche

Negli animali da laboratorio gli estratti di assenzio sono in grado di esercitare un effetto inibitorio sugli enzimi microsomiali epatici e possono prolungare il sonno indotto dal pentobarbital e incrementare la tossicità della stricnina⁽¹⁴⁾.

Poiché il tujone contenuto nell'assenzio può ridurre l'efficacia clinica del fenobarbital, con un meccanismo non ancora chiarito, l'associazione con tale farmaco deve essere evitata⁽²²⁾.

Effetti in gravidanza

L'American Herbal Products Association ha assegnato l'assenzio alla classe 2b (non usare in gravidanza), 2c (non usare durante l'allattamento) e 2d (non usare per lunghi periodi e non superare la dose consigliata)⁽²³⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi dell'*Artemisia absinthium* nei liquidi biologici. Non sono altresì presenti metodologie per la determinazione di tali principi attivi nelle diverse porzioni

della pianta. Si riportano qui di seguito i dettagli analitici della procedura in gas cromatografia per la determinazione del tujone in bevande contenenti *Artemisia absinthium* messa a punto nei Laboratori dell'Unità "Farmacodipendenze, tossicodipendenze e doping del Dipartimento del Farmaco dell'Istituto Superiore di Sanità".

Analisi per la determinazione del tujone in bevande a base di *Artemisia absinthium*

(metodologia messa a punto nei Laboratori dell'Unità "Farmacodipendenze, tossicodipendenze e doping del Dipartimento del Farmaco dell'Istituto Superiore di Sanità).

L'analisi per la determinazione del tujone viene eseguita su bevande di *Artemisia absinthium* mediante gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa.

Estrazione del campione

Ad 1 ml di campione si aggiungono 50 µl di idrossido di sodio 1M a pH 9. Dopo aver agitato il campione su un vortex per 1 minuto circa si esegue una estrazione liquido-liquido con 2 ml di etere dietilico. Successivamente si centrifuga il campione a 3000 rpm per 15 minuti e si raccoglie la fase organica. Il procedimento di estrazione con etere dietilico viene ripetuto per due volte. La fase organica raccolta si trasferisce in un tubo di vetro, e viene portata a secco sotto flusso di azoto. L'essiccato così formato si riprende con 200 µl di esano. 2 µl vengono iniettati nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: 5MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 250°C

Gas: elio alla pressione di 11,60 psi

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: 60°C per un minuto, 60°C-240°C a 4°C/min, 240°C per cinque minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico.

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

Tujone: 5,8 minuti

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

Tujone: m/z 110, 68, 55

Standard

Lo standard di tujone utilizzato per le analisi si può acquistare presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano-Italia).

Curva di calibrazione

La soluzione standard dell'analita (1 mg/ml) viene preparata in alcol metilico. Le soluzioni standard di lavoro (range di concentrazioni di 1 - 100 µg/ml) sono preparate diluendo le soluzioni madri e conservandole a -20°C fino al momento dell'analisi. Gli standard di calibrazione (con range di concentrazioni tra 50 e 1000 µg/ml per il tujone) vengono preparati quotidianamente aggiungendo le soluzioni metanoliche a concentrazione nota a campioni alcolici di controllo.

I campioni utilizzati per il controllo di qualità vengono preparati aggiungendo le soluzioni metanoliche a campioni di controllo. Questi campioni vengono inseriti in ciascun batch analitico per controllare la calibrazione, la precisione, l'accuratezza e la stabilità di campioni sottoposti a conservazione.

Risultati

L'analisi di diversi campioni liquidi con la metodologia sopra riportata ha evidenziato una quantità di principio attivo variabile a seconda del prodotto da un minimo di 0,014 mg/l ad un massimo di 28,5 ± 1,6 mg/l per un prodotto distillato.

Bibliografia

1. EUROPEAN COMMISSION- Health & Consumer Protection Directorate general- 2003. Opinion of the Scientific Committee on food on Thujone. Document SCF/CS/FLAV/FLAVOUR/23 ADD2 Final.
2. STRANG J, ARNOLD WN, PETERS T. Absinthe: what's your poison? *BMJ*. 1999; 319: 1590-1592.
3. LACHENMEIER DW, EMMERT J, KUBALLA T, SARTOR G. Thujone – cause of absinthism? *Forensic Sci Int*. 2006; 158: 1-8.
4. ZHANG W, LUO S, FANG F, CHEN Q, HU H, JIA X, ZHAI H. Total synthesis of absinthin. *J. Am. Chem. Soc.* 2005; 127: 18-19.
5. THE MERCK INDEX An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 10th Ed. Merck & Co., Inc. 1983: 1346.
6. <http://www.galenotech.org/assenzio.htm>
7. <http://www.lafeeabsinthe.com/it/faq.php>
8. GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA - Decreto Legislativo 25/0171992, N° 107 “Attuazione delle direttive 88/388/CEE e 91/71/CEE relative agli aromi destinati ad essere impiegati nei prodotti alimentari ed ai materiali di base per la loro preparazione” - G.U. n° 39 del 17.2.92.
9. EEC, 1988. Council Directive 88/388/EEC of 21 June 1988 on the approximation of the laws of the Member States relating to flavouring for use in foodstuffs and to source materials for their production. *Official Journal of the European Communities*, 15.07.1988, L184/61-67.
10. L'elenco delle piante e degli estratti vegetali non ammessi negli integratori alimentari è reperibile dal sito <http://www.salute.gov.it>
11. http://erowid.org/chemicals/absinthe/absinthe_law.shtml
12. HÖLD KM, SIRISOMA NS, IKEDA T, NARAHASCHI T, CASIDA JE. A-thujone (the active component of absinthe): γ -aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. *Proc Natl Acad Sci*. 2000; 97: 3826-3831.
13. BLUMENTHAL M, BUSSE WR, GOLDBERG A. (eds). *The Complete German Commission E Monographs*, 1st ed. American Botanical Council, Austin, TX; 1998.
14. JUTEAU F, JERKOVIC I, MASOTTI V, MILOS M, MASTELIC J, BESSIERE JM, VIANO J. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France. *Planta Med*. 2003; 69: 158-161.
15. GILANI AH, JANBAZ KH. Preventive and curative effects of *Artemisia absinthium* on acetaminophen and CC₁₄-induced hepatotoxicity. *Gen Pharmacol*. 1995; 26: 309-315.
16. BONKOVSKY HL, CABLE EE, CABLE JW, DONOHUE SE, WHITE EC, GREENE YJ, LAMBRECHT RW, SRIVASTAVA KK, ARNOLD WN. Porphyrinogenic properties of the terpenes camphor, pinene, and thujone (with a note on historic implications for absinthe and the illness of Vincent van Gogh). *Biochem Pharmacol*. 1992; 43: 2359-2368.
17. KREBS S, OMER TN, OMER B. Wormwood (*Artemisia absinthium*) suppresses tumour necrosis factor alpha and accelerates healing in patients with Crohn's disease -A controlled clinical trial. *Phytomedicine*. 2009 in press, Epub ahead of print
18. RIETJENS I, MARTENA MJ, BOERSMA MG, SPIEGELBERG W, ALINK GM. Molecular mechanisms of toxicity of important food-borne phytotoxins. *Mol Nutr Food Res*. 2005; 49: 131-158.
19. DEIML T, HASENER R, ZIEGLGANSBERGER W, RAMES G, EISENSAMER B, RUPPRECHT R, HAPFELMEIER G. Alpha-thujone reduces 5-HT₃ receptor activity by an effect on the agonist-reduced desensitization. *Neuropharmacology*. 2004; 46: 192-201.
20. MESCHLER JP, HOWLETT AC. Thujone exhibits low affinity for cannabinoid receptors but fails to evoke cannabinimetic responses. *Pharmacol Biochem Behav*. 1999; 62: 473-480.
21. MUTO T, WATANABE T, OKAMURA M, MOTO M, KASHIDA Y, MITSUMORI K. Thirteen-week repeated dose toxicity study of wormwood (*Artemisia absinthium*) extract in rats. *J Toxicol Sci*. 2003; 28: 471-478.
22. ARNOLD WN. Vincent van Gogh and the thujone connection. *JAMA*. 1988; 260: 3042-3044.
23. WEISBORD SD, SOULE J, KIMMEL PL. Brief Report: Poison on line - acute renal failure caused by oil of wormwood purchased through the internet. *N Engl J Med*. 1997; 337: 825-827.
24. TYAGI A, DELANTY N. Herbal remedies, dietary supplements, and seizures. *Epilepsia*. 2003; 44: 228-235.
25. MCGUFFIN M, HOBBS C, UPTON R. *American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook*, CRC Press, Boca Raton, FL; 1997.