

Citrus aurantium

(arancio amaro)



Nome: *Citrus aurantium*

Famiglia: *Rutaceae*

Genere: *Citrus*

Specie: *Citrus aurantium* L.

Sinonimi: sour orange, bitter orange, seville orange

Provenienza: sud est asiatico, ma é una pianta ormai regolarmente introdotta nei paesi a clima temperato. In Europa viene coltivato soprattutto in Spagna e in Italia, nella regione Sicilia

Principi attivi: (\pm)-*p*-sinefrina; (\pm)-*p*-octopamina

Il *Citrus aurantium* contiene un'ampia gamma di costituenti tra cui glucosidi flavononici (tra cui l'esperidina), cumarina, polimetossiflavoni, aldeidi, amine e monoterpene. I principi attivi sono due: l'octopamina e la sinefrina, contenute soprattutto nella buccia (dalla quale si estrae anche un olio essenziale) e nella polpa del frutto.

La principale sostanza farmacologicamente attiva contenuta nei frutti (arance) di *Citrus aurantium* è la sinefrina (chiamata anche *p*-sinefrina o ossedrina). Chimicamente si riconoscono sei possibili isomeri della sinefrina (orto-, meta- e para-, e, per ciascuna di esse, la forma *d* (+) o *l* (-)). L'isomero contenuto nel *Citrus aurantium* sembrerebbe essere appunto la para-sinefrina, sebbene alcuni autori abbiano rilevato anche la presenza della meta-sinefrina (conosciuta anche con il nome di fenilefrina o neosinefrina). La fenilefrina è un agonista dei recettori α adrenergici, utilizzata nella pratica clinica come decongestionante nasale e come agente per indurre midriasi. Anche la sinefrina sembra coinvolgere direttamente i recettori α -1 adrenergici: i suoi effetti, infatti, sono bloccati dalla somministrazione del prazosin, un antagonista di suddetti recettori. Strutturalmente la sinefrina è strettamente correlata ai neurotrasmettitori endogeni (adrenalina) e all'efedrina, l'alcaloide principale di *Ephedra sinica* (Ma-huang)^(1,2). Dal punto di vista chimico, ci sono due differenze tra la sinefrina e l'efedrina: nella prima, infatti, uno degli atomi di carbonio che compongono l'anello benzenico è idrossilato, mentre un gruppo metilico della catena laterale è sostituito con un idrogeno.

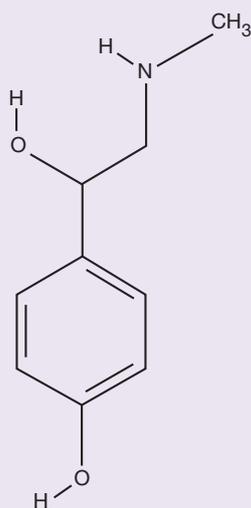
L'octopamina è un'ammina biologica derivata dalla β -idrossilazione della tiramina da parte della dopamina β -idrossilasi. La forma naturale D (-) è tre volte più potente della forma L (+) nel produrre risposte cardiovascolari di tipo adrenergico. Nel sistema nervoso degli invertebrati l'octopamina può agire come neurotrasmettitore⁽³⁾. L'octopamina viene utilizzata come cardiotonico nel trattamento dell'ipotensione.

La sinefrina sembrerebbe essere presente in quantità lievemente maggiori nel frutto essiccato immaturo di *Citrus aurantium* rispetto al frutto essiccato portato a completa maturazione (0,26% vs 0,22%). In ogni caso, il frutto fresco contiene quantità inferiori di principio attivo (*d,l*-sinefrina) rispetto al frutto essiccato (0,02% vs 0,3%) mentre l'estratto secco *Citrus aurantium* contiene percentuali di *d,l*-sinefrina piuttosto elevate (3%). Prodotti erboristici a base di *Citrus aurantium* analizzati al fine di quantificare il contenuto di sinefrina, hanno dato risultati corrispondenti a concentrazioni variabili tra lo 0,3% e lo 0,99% come mostrato in Tabella 1⁽⁴⁾.

Tabella 1. Contenuto di *d,l*-octopamina e *d,l*-sinefrina in *Citrus aurantium* L. varietà amara⁽⁴⁾

Campione	Octopamina (%)	Sinefrina (%)
Frutto fresco	<LOQ	0,02
Frutto essiccato	<LOQ	0,352
Estratto secco n. 1	0,028	3,003
Estratto secco n. 2	0,023	3,079
Prodotto erboristico n. 1	0,013	0,989
Prodotto erboristico n. 2	0,147	0,664
Prodotto erboristico n. 3	0,015	0,250

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: sinefrina (ossedrina).

Formula Molecolare: C₉H₁₃NO₂ (peso molecolare = 167,2).

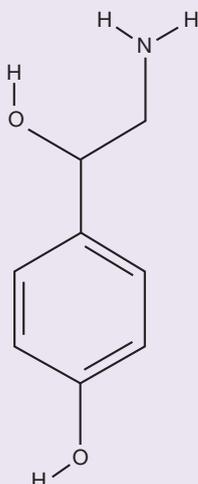
Nome sistematico: 1-(4-idrossifenil)-2-metilaminoetano.

Numero di registro CAS: 94-07-5.

Punto di fusione: 184-185°C in forma cristallina, 151-152°C sotto forma di cloridrato. Stabile all'aria ed alla luce⁽⁵⁾.

UVmax: 224 nm. 231, 272 nm in una miscela di tampone acetato pH 4,9: acetonitrile (9:91, v/v).

Solubilità: acqua.



Nome: octopamina.

Formula Molecolare: C₈H₁₁NO₂ (peso molecolare = 153,1).

Nome sistematico: 1-(4-idrossifenil)-2-aminoetano.

Numero di registro CAS: 104-14-3.

Punto di fusione: 160°C.

UVmax: 224 nm. 231, 272 nm in una miscela di tampone acetato pH 4,9: acetonitrile (9:91, v/v).

Solubilità: acqua. La forma D(-) cristallizza in acqua calda; a 160°C muta in un composto con punto di ebollizione >250°C.

Uso storico

Storicamente il “*Citrus aurantium* L.”, cioè l’arancia amara, è stato poco utilizzato in ambito alimentare a causa del forte sapore acre dei suoi frutti. Tuttavia, i frutti maturi vengono consumati in Iran mentre in Messico i frutti freschi vengono talvolta mangiati conditi con sale e chili. La buccia fresca del frutto (arancia) è spesso utilizzata nella preparazione di marmellate, la buccia essiccata invece è utilizzata per aromatizzare alcune birre (come la belga Orange Muscat) e liquori (Curaçao, Cointreau etc.). I fiori vengono utilizzati per la preparazione di tè mentre l’olio essenziale estratto dagli stessi fiori viene utilizzato nella preparazione di profumi. L’utilizzo più frequente e storicamente più importante della pianta è tuttavia quello che la vede coinvolta nell’ambito della medicina tradizionale. La medicina erboristica asiatica riconosce le proprietà adjuvanti del frutto immaturo essiccato (Zhi-schi in cinese, Kijitsu in giapponese) nel trattamento dei problemi del tratto digerente. Anche la medicina tradizionale occidentale utilizza il *Citrus aurantium* per stimolare l’appetito e la secrezione gastrica⁽³⁾.

Uso attuale

All’utilizzo storico del *Citrus aurantium* in ambito culinario o medico si è aggiunto l’uso della pianta negli integratori alimentari al fine di promuovere la riduzione del peso corporeo. Un recente annuncio della Food and Drug Administration (FDA) americana circa la messa al bando dei prodotti a base di *Ephedra sinica*, ha determinato un grande fermento ed interesse, da parte dei media statunitensi, attorno agli integratori alimentari cosiddetti “ephedra-free”. I prodotti commercializzati come “ephedra-free” contengono una vasta gamma di miscele erboristiche, nella maggior parte dei casi a base di caffeina (per esempio, estratto di tè verde [*Camelia sinensis*], guaranà [*Paullinia cupana*], cola nut [*Cola nitida*], yerba mate [*Ilex paraguariensis*]) ma sono quelli a base di arancia amara (contenenti sinefrina) ad aver attirato maggiormente l’attenzione della FDA, che ha posto in osservazione i prodotti a base di *Citrus aurantium*⁽⁶⁾. È altresì noto come la maggior parte degli integratori contenga in realtà miscele od estratti di diverse piante: non è infrequente dunque trovare integratori a base, per esempio, di caffeina e sinefrina, i cui effetti sinergici sono poi difficilmente valutabili. Gli integratori alimentari utilizzati per perdere peso contengono mediamente 100-200 mg di estratto di arancia amara (*Citrus aurantium*), che forniscono 10-40 mg di sinefrina per dose. Un estratto puro può contenere sino al 95% di sinefrina. Gli estratti utilizzati nella maggior parte degli integratori alimentari oggi utilizzati per perdere peso contengono una quantità di sinefrina maggiore rispetto a quella degli estratti del frutto secco o della buccia utilizzati nell’ambito della medicina tradizionale⁽⁷⁾.

Legislazione

In Italia la Circolare n. 3 del 18 luglio 2002, pubblicata in Gazzetta Ufficiale n. 188 del 12/08/2002, riporta avvertenze specifiche per prodotti contenenti alcuni ingredienti vegetali. Riguardo il *Citrus aurantium* la circolare recita: «l’apporto giornaliero di sinefrina con le quantità d’uso indicate non deve superare i 30 mg, corrispondenti a circa 800 mg di *Citrus aurantium* con un titolo del 4% di tale sostanza. Avvertenze: non superare la dose giornaliera consigliata. In presenza di cardiovasculopatie e/o ipertensione, prima di assumere il prodotto, consultare il medico. Si sconsiglia l’uso in gravidanza, durante l’allattamento e al di sotto dei 12 anni»⁽⁸⁾. Il Ministero della Salute ha inserito il *Citrus aurantium* nell’elenco degli estratti vegetali ammessi negli integratori alimentari⁽⁹⁾.

La vendita di prodotti per perdere peso contenenti *Citrus aurantium* o sinefrina non è autorizzata in Canada⁽¹⁰⁾. Negli Stati Uniti il *Citrus aurantium* (bitter orange) è inserito nel Poisonous Plants Database (PPD), tuttavia la FDA ha solo proposto, ma non definito, la proibizione della vendita dei prodotti contenenti estratti di pianta o sinefrina. L’olio estratto dalla buccia, i fiori e le foglie sono altresì inseriti nel database americano degli additivi alimentari (EAFUS, o “Everything Added to Food in the United States”), un inventario di tutto ciò che negli Stati Uniti viene aggiunto al cibo in qualità di additivo. Nel succo d’arancia concentrato, il volume di succo d’arancia amara non può eccedere il 5%.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I principali componenti presenti negli estratti di *Citrus aurantium* sono la *p*-sinefrina e la *p*-octopamina, due sostanze prodotte anche nei vertebrati. La sinefrina è un simpaticomimetico, agonista dei recettori α -1 adrenergici⁽¹¹⁾ in grado di stimolare il sistema nervoso simpatico dando luogo alla caratteristica risposta del “combatti o fuggi” (fight or flight). Sia la sinefrina che l’octopamina endogene, sembrano essere coinvolte nella fisiopatologia dell’emicrania⁽¹²⁾.

A livello periferico la sinefrina, attraverso la stimolazione dei recettori α -1 adrenergici, produce vasocostrizione ed incremento della pressione sanguigna⁽¹³⁾.

Negli Stati Uniti il composto viene utilizzato come decongestionante nasale e come vasocostrittore mentre in Europa si usa per il trattamento dell’asma e dell’ipotensione. Test clinici hanno dimostrato che la somministrazione endovenosa di sinefrina alla velocità di 4 mg/min in volontari sani, incrementa la pressione sistolica e la pressione arteriosa media, diminuisce la resistenza vascolare periferica ma non influenza la pressione diastolica e la frequenza cardiaca⁽⁷⁾.

Gli estratti di arancio amaro e la sinefrina rientrano nella composizione di numerose preparazioni dimagranti. Tale uso viene giustificato dall’effetto agonista che la sinefrina esercita sui recettori β -3 adrenergici, la stimolazione dei quali potrebbe essere correlata ad un’attività lipolitica.

Gli effetti farmacologici della sinefrina sono strettamente correlati alla dose, alla forma isomerica ed alla via di somministrazione. Una volta assorbita a livello sistemico l’emivita della molecola è di circa 2 ore e la sua eliminazione avviene soprattutto attraverso le urine; una parte della sostanza viene eliminata in forma immodificata, la restante parte viene trasformata in acido *p*-idrossimandelico, il principale metabolita eliminato con le urine⁽⁵⁾.

L’octopamina è il secondo componente più importante del *Citrus aurantium*. È considerata, tra gli analoghi delle catecolamine, la sostanza con maggiore affinità per i recettori β -3 adrenergici. L’octopamina stimola *in vitro* la lipolisi ed il consumo di ossigeno negli adipociti di ratto e di cane mentre è molto meno attiva sulle cellule umane⁽¹⁴⁾.

Si pensa che l’octopamina, naturalmente presente in modeste concentrazioni nel sistema nervoso centrale dei vertebrati, possa essere un sottoprodotto metabolico delle catecolamine. Nel ratto, *m*- e *p*-octopamina sono presenti in eguale concentrazione nel cuore, nel fegato e nella milza. Nei reni, nell’intestino, nella vescica e nei polmoni la *m*-octopamina è invece più abbondante rispetto alla *p*-octopamina.

I principali metaboliti urinari dell’octopamina sono l’acido *o*-idrossimandelico, l’acido *p*-idrossimandelico e l’acido *m*-idrossimandelico⁽⁵⁾.

Studi sui topi hanno dimostrato una possibile azione protettiva dell’esperidina - da ricondurre alle sue proprietà antiossidanti - dall’azione tossica esercitata dal benzopirene a livello testicolare⁽¹⁵⁾.

Tossicità

I valori di tossicità acuta in modello animale per l’octopamina e la sinefrina sono riportati in Tabella 2.

Nel ratto la somministrazione di estratti standardizzati di arancio amaro contenenti concentrazioni differenti di sinefrina (4 e 6%) può causare la morte a causa dell’insorgenza di aritmie ventricolari associate ad allargamento del complesso QRS nell’elettrocardiogramma⁽¹⁶⁾.

Nel topo la tossicità acuta dopo somministrazione orale di un estratto di *Citrus aurantium* (2,5% di *p*-sinefrina) alla dose di 300-5000 mg/kg è caratterizzata da riduzione dell’attività locomotoria. Sempre nel topo la somministrazione orale acuta di *p*-sinefrina alla dose di 150-2000 mg/kg provoca riduzione dell’attività locomotoria, salivazione, piloerezione, esoftalmo. Tali effetti sono stati collegati a stimolazione del sistema adrenergico⁽¹⁷⁾.

Tabella 2. Valori di tossicità acuta in modello animale per octopamina e sinefrina⁽⁷⁾.

Modalità di somministrazione	Specie	DLo/DL50/TDL0
<i>(±)-p-octopamina [104-14-3]</i>		
s.c.	topo	DL50 = 2070 mg/kg (13,51 mmol/kg)
i.p.		DL50 = 600 mg/kg (3,92 mmol/kg)
i.v.		DL50 = 75 mg/kg (0,49 mmol/kg)
i.c.		DL50 = 2100 mg/kg (13,71 mmol/kg)
Orale		DL50 = 4200 mg/kg (27,42 mmol/kg)
s.c.	ratto	DL50 = 350 mg/kg (2,28 mmol/kg)
i.p.		DL50 = 1350 mg/kg (8,813 mmol/kg)
Orale		DL50 = 1240 mg/kg (1,31 mmol/kg)
i.v.	cavia	DLLo = 200 mg/kg (1,31 mmol/kg)
<i>(±)-p-sinefrina [94-07-5]</i>		
s.c.	topo	DLLo = 1500 mg/kg (8,971 mmol/kg)
	ratto	DLLo = 1500 mg/kg (8,971 mmol/kg)
i.p.	topo	DL50 = 1000 mg/kg (5,981 mmol/kg)
i.v.	topo	DL50 = 270 mg/kg (1,61 mmol/kg)
	coniglio	DLLo = 150 mg/kg (0,897 mmol/kg)
<i>(S)-(+)-p-sinefrina [532-80-9]</i>		
s.c.	topo	DLo = 700 mg/kg (4,19 mmol/kg)
Orale	topo	TDL0 = 1 mg/kg (6 µmol/kg)
<i>(±)-p-sinefrina [5985-28-4]</i>		
s.c.	topo	DLo = 400 mg/kg (1,96 mmol/kg)
	ratto	DLo = 320 mg/kg (1,57 mmol/kg)
	cavia	DLo = 500 mg/kg (2,45 mmol/kg)

i.c. = intracerebrale; i.p. = intraperitoneale; i.v. = intravenosa; DL50 = dose letale per il 50% degli animali testati; DLo = minima dose letale; s.c. = sottocutaneo; TDL0 = minima dose tossica per vie di somministrazione diverse dalle precedenti, per un lungo periodo di tempo e che ha dimostrato di generare effetti carcinogenici, teratogeni in animali o nell'uomo, o di produrre alcuni effetti tossici nell'essere umano.

Effetti avversi

Negli Stati Uniti, a causa dell'effetto vasoconstrictore esercitato dalla sinefrina, l'FDA ha stabilito che negli spray usati come decongestionanti nasali venga apposta l'avvertenza: "Utilizzare il prodotto alle dosi previste e per non più di tre giorni". Gli effetti avversi che sono stati associati all'uso di tali preparazioni sono tachicardia, aumento della pressione sanguigna, insonnia, nervosismo, tremori, cefalea e difficoltà nella minzione. L'autorità regolatoria FDA consiglia nel caso si sia affetti da disturbi cardiaci, ipertensione e/o problemi urinari di consultare un medico prima di assumere decongestionanti nasali contenenti *sinefrina*. Viene anche sconsigliata l'associazione di decongestionanti nasali con altri farmaci dotati degli stessi effetti secondari al fine di evitare l'insorgenza di complicanze pericolose.

I prodotti dimagranti a base di *Citrus aurantium* o di sinefrina possono provocare effetti avversi cardiovascolari gravi, caratterizzati da tachicardia, arresto cardiaco, fibrillazione e collasso.

Dal 1° Gennaio 1998 al 24 Febbraio 2004, l'Health Canada (Ministero della Salute Canadese) ha ricevuto 16 segnalazioni di eventi avversi, a carico dell'apparato cardiovascolare, in soggetti che avevano assunto prodotti a base di arancio amaro o di sinefrina. Tutti i casi segnalati erano di notevole gravità. In sette dei suddetti casi gli integratori incriminati contenevano anche caffeina ed in otto casi era presente anche efedrina. In un solo caso si è trattato di un paziente che aveva assunto prodotti a base di arancio amaro privi di caffeina o efedrina. In due casi si è verificato il decesso del paziente.

Le informazioni sul quantitativo e sulla composizione della miscela assunta erano insufficienti; pertanto, sulla base di queste segnalazioni, non è stato possibile valutare con certezza la pericolosità della sinefrina o del *Citrus aurantium*⁽¹⁸⁾.

In letteratura sono riportati vari casi di segnalazioni di effetti avversi associati all'uso di integratori a base di arancio amaro o di sinefrina.

In un caso viene documentato, in una donna di 55 anni, un ricovero in regime di pronto soccorso a causa di un infarto insorto in seguito all'assunzione di un prodotto dimagrante a base di arancio amaro e di caffeina⁽¹⁹⁾. Un altro caso si riferisce, invece, ad un paziente di 38 anni ricoverato a causa di un ictus ischemico insorto a seguito dell'assunzione di prodotti dietetici contenenti sinefrina⁽²⁰⁾.

Infine si segnala il caso di una ragazza di 22 anni che, in seguito all'assunzione di un prodotto a base di *Citrus aurantium*, ha manifestato una sincope da sforzo con prolungamento dell'intervallo QT nel tracciato elettrocardiografico⁽²¹⁾.

Tuttavia, è necessario sottolineare che in nessuno dei casi sopradescritti è stato determinato con certezza il rapporto di causalità tra l'assunzione di estratti di *Citrus aurantium* e l'insorgenza degli effetti avversi⁽²²⁾.

Negli Stati Uniti, a seguito della messa al bando dell'*Ephedra sinica* negli integratori alimentari, la FDA ha focalizzato la sua attenzione sui preparati a base di *Citrus aurantium*, divenuto componente di elezione, al posto dell'*Ephedra sinica*, nei prodotti utilizzati per perdere peso. Le segnalazioni di reazioni avverse correlate all'uso di *Citrus aurantium* sono state contestate in una contro-analisi operata dall'American Herbal Products Association (AHPA), l'ente che negli Stati Uniti rappresenta le industrie erboristiche⁽²³⁾.

Interazioni farmacologiche

In vitro l'arancio amaro, per la presenza di furanocumarine, è in grado di inibire l'isoforma CYP3A4 del citocromo P-450 e può pertanto interagire con numerosi farmaci metabolizzati da tale sistema⁽²⁴⁾.

Interazioni farmacologiche sono state osservate in particolare con midazolam e sesquinarvir⁽²⁵⁾. Studi sugli animali hanno dimostrato che il succo d'arancia può inibire il metabolismo della ciclosporina⁽²⁶⁾.

Nell'uomo gli estratti di arancio amaro possono incrementare la biodisponibilità del calcio-antagonista felodipina⁽²⁵⁾.

L'associazione tra sinefrina e inibitori delle MAO può causare l'insorgenza di una grave ipertensione.

Infine, associando la sinefrina a fenilefrina, fenilpropanolamina, efedrina o pseudoefedrina si può verificare un incremento degli effetti simpaticomimetici indotti da tali farmaci.

Effetti in gravidanza

Non ci sono dati in letteratura circa l'uso in gravidanza e/o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono descritte in letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi del *Citrus aurantium* nel sangue⁽²⁷⁾, nell'urina⁽²⁸⁾, negli integratori alimentari⁽²⁹⁾ e nei frutti freschi ed essiccati della pianta⁽⁴⁾. La metodologia impiegata per l'analisi dei principi attivi del *Citrus aurantium* negli integratori alimentari prevede l'utilizzo di un gas cromatografo associato ad uno spettrometro di massa⁽²⁹⁾, mentre i principi attivi nei frutti vengono determinati mediante un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrofotometro ad assorbimento di luce ultravioletta⁽⁴⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della sinefrina nell'urina dopo somministrazione di *Citrus aurantium*

(tratto da: KUSU F, MATZUMOTO K, ARAI K, TAKAMURA K. Determination of synephrine enantiomers in food and conjugated synephrine in urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Anal Biochem. 1996; 235: 191-194)⁽²⁸⁾.

L'analisi viene eseguita su campioni di urina mediante un cromatografo liquido accoppiato ad un rivelatore elettrochimico.

Estrazione del campione

1 ml di urina acidificata a pH 1-2 con acido cloridrico 6 N viene idrolizzata mantenendola a 100°C per 15 minuti. Dopo l'idrolisi, il pH viene portato a 9, 1 ml di urina viene caricata su una colonnina Extrelut e la sinefrina eluita con 5 ml di acetato di etile contenente il 2% di n-butanolo. Questa operazione viene ripetuta due volte. La fase organica viene portata a secco e il residuo ripreso con 225 µl di acqua e 25 µl di *l*-fenilefedrina, usata come standard interno. 5 µl della soluzione vengono iniettati nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Sumichiral OA-6000 (150 x 4,6 mm x 5 µm)

Fase mobile: soluzione acquosa contenente 1 mM rame(II) e 20 mM di ammonio acetato pH 6,4

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 1,5 ml/min

Rivelatore: elettrochimico EDP-1

Potenziale cella elettrochimica: 1,0 V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

***l*-sinefrina:** 9,0 minuti

***d*-sinefrina:** 13,5 minuti

***l*-fenilefedrina (standard interno):** 17,0 minuti

Standard

Lo standard di *d,l*-sinefrina utilizzato nelle analisi si può acquistare presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Lo standard interno si può acquistare presso la ditta Tokyo kasei Koyo (Tokyo, Giappone).

Curva di calibrazione

Non viene riportata la creazione di una curva di calibrazione in urina. Il metodo risulta lineare in un range di 1,0-500 pmoli di sinefrina iniettate nella strumentazione.

Risultati

Gli autori riportano i tempi di escrezione della sinefrina in urina dopo la somministrazione di 240-275 grammi di polpa di *Citrus aurantium*. La massima escrezione di sinefrina si osserva dopo 2-3 ore dalla somministrazione. A 16 ore dalla somministrazione, la sinefrina non è più determinabile in urina.

Bibliografia

1. FOUGH-BERMAN A, MYERS A. Citrus aurantium, an ingredient of dietary supplements marketed for weight loss: current status of clinical and basic research. Exp Biol Med. 2004; 229: 698-704.
2. ALLISON DB, CUTTER G, POEHLMAN ET, MOORE DR, BARNES S. Exactly which synephrine alkaloids does Citrus aurantium (bitter orange) contain? Int J Obes. 2005; 29: 443-446
3. THE MERCK INDEX An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 10th Ed. Merck & Co., Inc. 1983: 971.

4. PELLATI F, BEVENUTI S, MELEAGRI M, FIRENZUOLI F. Determination of adrenergic agonists from extracts and herbal products of *Citrus aurantium* L. var. *amara* by LC. *J Pharmacol Anal.* 2002; 29: 1113-1119.
5. THE MERCK INDEX An Enciclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 10th Ed. Merck & Co., Inc. 1983: 1295.
6. BLUMENTHAL M. Bitter orange peel and synephrine. Part 1 WholeFoods 2004 and Part 2. WholeFoods 2005. ©American Botanical Council.
7. NTP. Bitter orange (*Citrus aurantium* var. *amara*). Extracts and constituents (\pm)-p-synephrine [CAS No.94-07-5] and (\pm)-p-octopamine [CAS No. 104-14-3]. Review of toxicological literature. National Toxicology Program. Jun 2004.
8. ITALIA. Circolare n.3, 18 luglio 2002. Applicazione della procedura di notifica di etichetta di cui all'art.7 del Decreto legislativo n.111/1992, ai prodotti a base di piante e derivati aventi finalità salutistiche. *Gazzetta Ufficiale* n. 188, 12 agosto 2002.
9. L'elenco delle piante e degli estratti vegetali ammessi negli integratori alimentari è reperibile dal sito <http://www.salute.gov.it>
10. HEALTH CANADA Products containing bitter orange or synephrine: suspected cardiovascular adverse reactions. *Canadian Adverse reaction newsletter* 2004; 14: 3-4.
11. HOFFMAN BB, TAYLOR P. Neurotransmission. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2001: 115-153.
12. D'ANDREA G, TERRAZZINO S, FORTIN D, COCCO P, BALBI T, LEON A. Elusive amines and primary headaches: historical background and prospectives. *Neurol Sci.* 2003; 24: S65-S67.
13. PENZAK SR, JANN MW, COLD JA, HON YY, DESAI HD, GURLEY BJ. Seville (sour) orange juice: synephrine content and cardiovascular effects in normotensive adults. *J Clin Pharmacol.* 2001; 41: 1059-1063.
14. CARPENE C, GALITZKY J, FONTANA E, ATGIE C, LAFONTAN M, BERLAN M. Selective activation of beta3-adrenoceptors by octopamine: comparative studies in mammalian fat cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1999; 359: 310-321.
15. ARAFA HM, ALY HA, ABD-ELLAH MF, EL-REFAEY HM. Hesperidin attenuates benzo[alpha] pyrene-induced testicular toxicity in rats via regulation of oxidant/antioxidant balance. *Toxicol Ind Health.* 2009; 25: 417-427.
16. CALAPAI G, FIRENZUOLI F, SAITTA A. Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat: a preliminary report. *Fitoterapia.* 1999; 70: 586-592.
17. ARBO MD, LARENTIS ER, LINCK VM, ABOY AL, PIMENTEL AL, HENRIQUES AT, DALLEGRAVE E, GARCIA SC, LEAL MB, LIMBERGER RP. Concentrations of p-synephrine in fruits and leaves of *Citrus* species (Rutaceae) and the acute toxicity testing of *Citrus aurantium* extract and p-synephrine. *Food Chem Toxicol.* 2008 Aug; 46: 2770-2775.
18. JORDAN S., MURTY M., PILON K. Products containing bitter orange or synephrine: suspected cardiovascular adverse reactions. *CMAJ.* 2004 Oct 12; 171: 993-4.
19. NYKAMP DL, FACKIH MN, COMPTON AL. Possible association of acute lateral-wall myocardial infarction and bitter orange supplement. *Ann Pharmacother.* 2004; 38: 812-816.
20. BOUCHARD NC, HOWLAND MA, GRELLER HA, HOFFMAN RS, NELSON LS. Ischemic stroke associated with use of an ephedra-free dietary supplement containing synephrine. *Mayo Clin Proc.* 2005; 80: 541-545.
21. NASIR JM, DURNING SJ, FERGUSON M, BAROLD HS, HAIGNEY MC. Exercise-induced syncope associated with QT prolongation and ephedra free Xenadrine. *Mayo Clinic Proc.* 2004; 79: 1059-62.
22. HALLER CA, BENEWITZ NL, JACOB P 3rd. Hemodynamic effects of ephedra-free weight-loss supplements in humans. *Am J Med.* 2005; 118: 998-1003.
23. MCGUFFIN M. FDA spins numbers on bitter orange AERs: AHPA analysis finds only 1 actual report associated with bitter orange. *AHPA Report* 2004; 19: 2-4.
24. GUO L, TANIGUCHI M, CHEN Q et al: Inhibitory potential of herbal medicines on human cytochrome P450-mediated oxidation: Properties of Umbelliferous or *Citrus* crude drugs and their relative prescriptions. *Jpn J Pharmacol* 2001; 85: 399-408.
25. MALHOTRA S, BAILEY D, PAINE M et al: Seville orange juice-felodipine interaction: comparison with dilute grapefruit juice and involvement of furocoumarins. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 14-23.
26. HOU YC, HSIU SL, TSAO CW et al: Acute intoxication of cyclosporin caused by coadministration of decoctions of the fruits of *Citrus aurantium* and the Pericarps of *Citrus grandis*. *Planta Med* 2000; 66: 653-655.
27. BEYER J, PETERS FT, KRAEMER T, MAURER HH. Detection and validated quantification of nine herbal phenalkylamines and methcathinone in human blood plasma by LC-MS/MS with electrospray ionization. *J Mass Spectrom.* 2007; 42: 150-160.
28. KUSU F, MATZUMOTO K, ARAI K, TAKAMURA K. Determination of synephrine enantiomers in food and conjugated synephrine in urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Biochem.* 1996; 235: 191-194.
29. MARCHEI E, PICHINI S, PACIFICI R, PELLEGRINI M, ZUCCARO P. A rapid and simple procedure for the determination of synephrine in dietary supplements by gas chromatography-mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2006; 41: 1468-1472.