

BACOPA: possibili adulterazioni

Introduzione

Obiettivo di questo articolo è fornire una sintesi delle informazioni esistenti sui problemi legati all'adulterazione ed al corretto riconoscimento della Bacopa (parti aeree) sia come materia prima che dei suoi derivati. Fornisce, inoltre, una breve panoramica dell'incidenza di tale pratica, delle sostanze adulteranti note, con particolare attenzione alla Centella asiatica tra i più comuni sostituti di Bacopa e dei metodi analitici per individuarle, della situazione del mercato e delle conseguenze per il consumatore e l'industria.



Informazioni generali

Nomi comuni

Secondo la terza edizione di *Herbs of Commerce* dell'American Herbal Products Association (AHPA), negli Stati Uniti Bacopa è il nome comune standardizzato per *Bacopa monnieri*.¹ Questa pianta è conosciuta anche con i seguenti nomi comuni inglesi: coastal water hyssop, herb of grace, thyme-leaved gratiola, water hyssop e white hyssop.²⁻⁴ Bacopa condivide il nome comune sanscrito "brahmi" con un'altra nota pianta medicinale, la gotu kola (*Centella asiatica* [L.] Urb., Apiaceae), e la medicina ayurvedica attribuisce ad entrambe le piante proprietà terapeutiche simili, tanto da essere spesso confuse l'una con l'altra, intenzionalmente o involontariamente.⁵⁻⁷ Gotu kola è il nome comune standardizzato accettato per *C. asiatica* negli Stati Uniti secondo *Herbs of Commerce*, ma anche in molti altri paesi.¹ La Centella è conosciuta anche con altri nomi comuni inglesi come Asiatic pennywort, centella, gotu cola, Indian pennywort, marsh pennywort, pennyweed, sheeprot e spade leaf.^{8,9}

In varie parti dell'India, *B. monnieri* è conosciuta con i nomi jala brahmi, neer brahmi, nirubrahmi e nirabrahmi, che significano "brahmi di acqua" in

riferimento al suo habitat paludoso e acquatico. Mandukaparni è oggi ampiamente considerato il nome sanscrito corretto di *C. asiatica*, poiché le sue foglie ricordano la forma delle zampe di una rana.

Nome comune: Bacopa Nome scientifico: <i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.^{16,19} Famiglia: Plantaginaceae¹⁹ Sinonimi omotipici: <i>Anisocalyx limnanthiflorus</i> (L.) Hance, <i>Bramia monnieri</i> (L.) Drake, <i>Gratiola monnieri</i> (L.) L., <i>Herpestis monnieri</i> (L.) Rothm., <i>Moniera monnieri</i> (L.) Britton, <i>Lysimachia monnieri</i> L.¹⁹ Nomi comuni in altre lingue^{4,10-16}: • <i>Arabo</i>: farfakh • <i>Bengali</i>: birami, brahmisaka • <i>Cinese (Mandarino)</i>: jia ma chi xian (假马齿苋) • <i>Francese</i>: bacopa de monnier, bacopa des herbalists, bacopa médicinale, bramia de saint-paul, petite bacopa • <i>Tedesco</i>: Kleines Fettblatt, Brahmi • <i>Hindi</i>: adha-birni, afed chamni, barami, brahmi, farfakh, gundala, indravalli, jalbuti, jalnim, nirbrahmi, mandukaparni, safedchamani • <i>Nepali</i>: medhagiree • <i>Persiano</i>: jaranab • <i>Sanscrito</i>: aindri, brahmi, gundala, indravalli, jala-saya, kapotavanka, manduki, matsyaksi, nirabrahmi, sarasvati, tiktalonika, toyavalli, vami, jala-brahmi, jalaprimmi, mandukamata, matsyakshi, medhya, sarasvati, sureshtha, survachala, swayambhuvi, vaidhatri, vallari, vara, vira • <i>Svedese</i>: litet tjockblad, brahmi • <i>Tamil</i>: ahazndapoozndu, brahmi vazhukkai, nira-brahmi, nirpirami, piramivazhukkai, piramiyapundu • <i>Telugu</i>: neerisambraanimokka, sambarenu, sambrani, sambraanichettu, sambranichettu, sambrareniaaku, sambrani-aku, sambrani-chettu, sambrani-chettu • <i>Thai</i>: phrom mi, phak mi • <i>Urdu</i>: brahmi, brahmi buti, jalamim, jal brahmi, nira-brahmi	Nome comune: Gotu Kola Nome scientifico: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban¹⁷ Famiglia: Apiaceae¹⁹ Sinonimi omotipici: <i>Hydrocotyle asiatica</i> L.¹⁷ Nomi comuni in altre lingue^{12,13,17,18}: • <i>Arabo</i>: artaniyal-hindi, zarnab • <i>Bengali</i>: brahma-manduki, tholkhuri, thulkuri <i>Cinese (Mandarino)</i>: ji xue cao (积雪草) • <i>Francese</i>: écuelle d'eau, fausse violette, hydrocotyle Asiatique • <i>Tedesco</i>: Asiatisches Sumpfpfennigkraut, Indischer Wassernabel • <i>Hindi</i>: brahmamanduki, khulakudi • <i>Nepali</i>: kholachagya • <i>Persiano</i>: sard Turkistan • <i>Sanscrito</i>: brahmi, cheka parni, mandukaparni, manduukaparni, manduukaparnikaa, maanduuki • <i>Svedese</i>: sallatsspikblad • <i>Tamil</i>: babassa, vallarai, vellarai • <i>Telugu</i>: brahmakuraku, manduka, saraswathi aku • <i>Thai</i>: buabok, bua-bog • <i>Urdu</i>: brahmi, brahmi buti
--	---

Distribuzione

Il genere *Bacopa* comprende dalle 55 alle 70 specie di erbe acquatiche, la maggior parte delle quali cresce come pianta anfibia ed è distribuita nelle regioni tropicali e subtropicali di tutto il mondo.¹⁰ *Bacopa monnieri* è presente in vari paesi in tutto il mondo, tra cui parti del Nord e Sud America, Asia, Penisola Arabica, Africa, Australia e diverse isole delle Antille, delle Piccole Antille e delle isole Gilbert e Laccadive. La si può trovare in Afghanistan, Argentina, India, Brasile, Pakistan, Nepal, Sri Lanka e Stati Uniti. È classificata come invasiva in

Giappone, Singapore, Spagna e Portogallo.^{10,12,16,19}

La *Centella asiatica*, invece, è una specie perenne originaria del Caucaso, dell'Africa tropicale e subtropicale, dell'Asia, dell'Australia orientale, del Sud America e di varie isole del Pacifico (Hawaii, Figi, Samoa, Vanuatu, ecc.).^{8,17} Pertanto, Bacopa e Centella hanno in comune la stessa origine geografica, poiché crescono entrambe in regioni tropicali e subtropicali. Entrambe le piante prediligono ambienti paludosi e acquatici e crescono bene in condizioni simili.



Parti di pianta utilizzate e forme di consumo

Le parti aeree della Bacopa, compresi steli e foglie, vengono essiccate e utilizzate intere o sotto forma polverizzata.²⁰⁻²³ Nella farmacopea ayurvedica indiana la Bacopa è descritta come pianta intera essiccata.¹⁴ Può essere consumata come succo fresco, sotto forma di infuso, decotto, tintura, sciroppo e le foglie si possono mangiare anche crude.¹⁵ La Bacopa polverizzata e i suoi estratti sono commercializzati, invece, in capsule, compresse, sciroppi o gocce.²⁴ Viene utilizzata come ingrediente alimentare funzionale in bevande alla frutta, bevande energetiche, granuli aromatizzati, cereali per la prima colazione, biscotti, tonici per migliorare la memoria, etc.²⁵ Inoltre, gli estratti e gli oli infusi di Bacopa vengono utilizzati in creme, oli per massaggi, cosmetici e prodotti per la cura di capelli e pelle. Le parti aeree di Bacopa vengono assunte da sole sotto forma di infuso o in combinazione con altre piante, come per esempio le foglie di ginkgo (*Ginkgo biloba* L., Ginkgoaceae) o la radice di ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal, Solanaceae). In India, vengono aggiunte a vari alimenti (gelati, zuppe, ghee, cereali, etc.) per migliorarne il valore nutrizionale.²⁴ Anche le parti aeree intere di *Centella asiatica* vengono utilizzate nelle stesse forme e preparazioni della Bacopa.

Sebbene la Food and Drug Administration (FDA) statunitense non classifichi la Bacopa come GRAS ("generalmente riconosciuta come sicura") per l'uso negli alimenti, il suo impiego è consentito negli integratori alimentari ai sensi del Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA). In Australia, è regolamentata come principio attivo di medicine complementari con specifiche indicazioni d'uso ayurvediche approvate. In paesi come Bangladesh, India, Malesia, Pakistan e Sri Lanka, dove i sistemi terapeutici tradizionali ayurvedici, Siddha e



Unani, sono integrati nel sistema sanitario nazionale, la Bacopa è regolamentata come componente attivo di farmaci.²⁶

Costituenti chiave e marcatori chimici di Bacopa e Centella

La Bacopa contiene alcaloidi (bramina, erpestina e nicotina), cucurbitacine (baco-bitacina A-D e cucurbitacina E), saponine triterpenoidi tipo dammarano (bacopa-saponine, bacopasidi e bacosidi) con jujubogenina e pseudojujubogenina come agliconi, triterpeni pentaciclici (acido betulinico e bacosina), steroli (β -sitosterolo, stigmastanolo e stigmasterolo), flavonoidi (apigenina, luteolina, naringenina, orossina, quercetina e wogonina), glicosidi feniletanoidi (monnieraside I-III e plantainoside B), fenilpropanoidi ed altri composti.^{15,24,26,27} Il bacoside A è una miscela di quattro saponine triglicosidiche, denominate bacoside A3, bacoside II, bacopasaponina C e l'isomero jujubogeninico della bacopasaponina C (sin: bacopaside X, bacopaside VII), mentre il bacoside B, sebbene al riguardo vi siano ancora dubbi, è stato riportato come costituito da bacopaside N1, bacopaside N2, bacopaside IV e bacopaside V.²⁸ Campioni di foglie di Bacopa polverizzate contengono in genere circa l'1-3% di bacoside A, ma il contenuto può variare a seconda dell'origine geografica e della stagione di raccolta (4,35-10,50%).²⁹

Secondo la monografia della Farmacopea degli Stati Uniti (USP), la Bacopa (parti aeree essiccate o polverizzate) deve contenere almeno il 2,5% di glicosidi triterpenici, calcolati sulla droga essiccata, come somma di bacopaside I, bacoside A3, bacopaside II, l'isomero jujubogenina della bacopasaponina C e bacopasaponina C.^{20,21} La Farmacopea Britannica (BP) riporta che le parti aeree essiccate della Bacopa contengono almeno l'1% di saponine, espresse come bacopaside II.²³

Passando alla Centella, i suoi principali composti chimici sono rappresentati dai triterpeni del tipo ursano, tra cui l'acido asiatico e l'acido madecassico, nonché dai loro esteri glicosidici, asiaticoside e madecassoside. Altri triterpeni ursani degni di nota presenti in questa pianta sono gli acidi corosolico, euscafico, pomolico e ursolico. Contiene, inoltre, triterpeni del tipo oleanano come baiogenina, centellasapogenolo A, acido 3-epimaslinico e acido terminolico, insieme ai loro glicosidi, asiaticoside B, centellasaponine, centelloside D e centelloside F. Sono

presenti anche glicosidi triterpenici del tipo dammarano (centelloside A e B, ginsenosidi, gypenosidi, notoginsenosidi).³⁰

Oltre ai triterpeni, la Centella contiene flavonoidi (apigenina, astragalina, castillacetina, castilliferolo, catechina, epicatechina, isoquercetina, canferolo, luteolina, miricetina, naringina, naringenina, petuletina e quercetina) ed una varietà di acidi fenolici (derivati dell'acido caffeilchinico e dell'acido clorogenico, acido rosmarinico e acido triflerulico), poliacetileni, steroli (β -sitosterolo, campesterolo, castasterone e stigmasterolo) e i loro glicosidi, tannini ed altri

composti. Sebbene in alcuni studi sia stata rilevata la presenza in questa pianta di alcaloidi come l'idrocotilina e la vallerina, la mancanza di informazioni sulla loro struttura chimica completa ha sollevato dubbi sul loro reale contenuto.³⁰

Usi generali

La Bacopa e i suoi estratti sono utilizzati per i loro effetti tonici per migliorare le funzioni cognitive, la concentrazione, le prestazioni mentali e la memoria. È consigliata anche alle persone che soffrono di insonnia, disturbi nervosi e ansia.^{13,31} La dose giornaliera raccomandata è di 5-13 ml di estratto liquido DER 1:2 al giorno.³¹ Per la pianta polverizzata, la dose suggerita è di 5-10 g, mentre per l'infuso 8-16 ml.³² Per gli estratti di bacopa standardizzati al 20% in bacosidi, la dose giornaliera raccomandata è di 200-400 mg per gli adulti e di 100-200 mg per i bambini da assumere, in entrambi i casi, in dosi frazionate.²⁵ La Farmacopea Ayurvedica indiana raccomanda di assumere una dose di 1-3 g di pianta intera polverizzata al giorno.¹⁴

Tradizione d'uso

La Bacopa è una pianta venerata nella medicina Ayurvedica, nella quale è nota per la sua capacità di migliorare la concentrazione, la memoria e i sensi.¹² L'Ayurveda ritiene che sia una pianta rasāyana, ossia in grado di promuovere la longevità, di rafforzare il cervello e di supportare la vitalità generale. Inoltre, aiuta la digestione, allevia la raucedine e il mal di gola ed è raccomandata per varie condizioni come malattie della pelle, anemia, diabete, tosse, febbre, artrite, edema, anoressia, problemi urinari e disturbi psicologici.^{12-14,32,33}





Nella medicina Unani, il majun brahmi (una formulazione a base di più piante, contenente anche Bacopa) è considerato un tonico per il cervello, mentre nella medicina Siddha è utilizzato per stitichezza, disuria e scarsa memoria.^{26,34} Le foglie di questa pianta sono particolarmente apprezzate per condizioni come astenia, esaurimento nervoso e ossiuriasi. Un impacco a base di questa pianta viene utilizzato per curare bronchite e dolori articolari, mentre il succo fresco viene applicato sulle ustioni.^{12,26,32} In Nepal, la bacopa viene utilizzata per trattare le ustioni, mentre in Rajasthan le foglie

bollite vengono applicate localmente per alleviare il dolore dopo il parto, e in Maharashtra si ritiene che mangiare le foglie aiuti a combattere la balbuzie.^{15,26}

Mercato

Importanza commerciale

I volumi di Bacopa movimentati nel mondo non sono documentati in maniera puntuale e non è possibile accedere a dati commerciali dettagliati e specifici per paese. L'India è uno dei maggiori produttori di questa pianta. Nel 2014-2015, la Bacopa si è classificata al 43° posto tra le specie di piante più vendute in questo paese, con un consumo interno annuo pari a circa 1.135 t. In termini di commercio e consumo in India, la domanda annua di questa pianta è stata stimata tra le 2 mila e 4 mila t.³⁵ Negli Stati Uniti, il commercio di integratori alimentari a base di Bacopa è in costante aumento sia nei canali di vendita tradizionali, dove nel 2023 si sono posizionati al 35° posto nella classifica dei prodotti a base di piante più venduti, con un incremento del 71,7% delle vendite totali rispetto all'anno precedente, che in quelli naturali (34° posto in classifica).³⁶⁻³⁷

Fonti di approvvigionamento

La maggior parte della fornitura commerciale di Bacopa proviene dalle popolazioni selvatiche nel suo areale nativo (vedi par. distribuzione); coltivazioni di questa pianta esistono in India, Nepal e Sri Lanka. L'area Asia-Pacifico è il principale bacino commerciale della Bacopa, con India e Cina come principali esportatori.⁷ In India, la Bacopa cresce come pianta infestante nelle risaie delle regioni orientali e nord-orientali.³⁸ La categoria di minaccia sotto cui la Bacopa è posta secondo l'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN) è "Minima Preoccupazione" (LC). Tuttavia, il National Medicinal Plants

Board (NMPB) in India considera tale pianta prioritaria per la conservazione, insieme ad altre 31 piante medicinali.³⁹ L'Istituto Centrale per le Piante Medicinali e Aromatiche dell'India ha sviluppato tre varietà di Bacopa che possono essere coltivate come piante perenni, consentendo almeno due raccolti all'anno. Inoltre, sempre in India, l'Istituto Indiano di Medicina Integrativa (IIIM) ha selezionato una cultivar di Bacopa con un contenuto di bacoside A compreso tra l'1,8% e il 2,2%.³⁸



Dinamiche di mercato

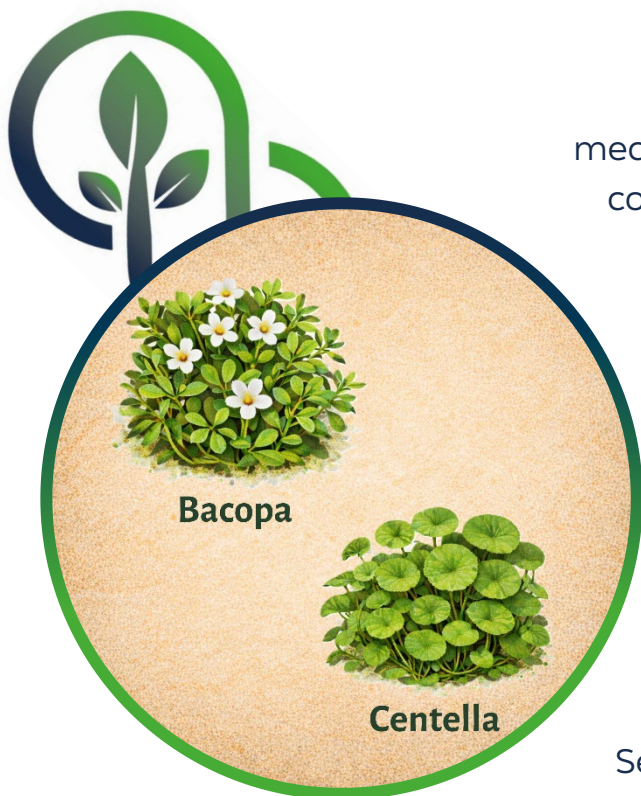
L'NMPB, nel suo database “Prezzo di mercato delle piante medicinali”, fornisce i prezzi di mercato di Bacopa e Centella provenienti da vari mercati regionali dell'India. A gennaio 2023, sulla base di dati provenienti da 13 città indiane, il prezzo medio della Bacopa (pianta intera) nei mercati locali era di 2,80 \$ USA/kg.⁴⁰

Per la principale specie con cui Bacopa è spesso confusa, ossia *Centella asiatica* (pianta intera), l'NMPB a gennaio 2023 riportava un prezzo medio nei mercati locali di 1,33 \$/kg (dati provenienti da 9 località).⁴⁰ Tuttavia, i prezzi di Bacopa e Centella dipendono molto dalla qualità, inclusa la presenza di più foglie e il contenuto di principi attivi per la Bacopa, e dall'origine della materia prima. La scarsa differenza di prezzo tra le due specie di piante sul mercato non giustifica in alcun modo la pratica di sostituire Bacopa con Centella per fini economici.

Adulterazione

Adulteranti noti

La letteratura ayurvedica, che utilizza indistintamente il nome sanscrito “brahmi” sia per Bacopa che per Centella, riconosce entrambe queste specie come legittimi sostituti l'una dell'altra. Si osserva, infatti, all'interno della filiera, per riuscire a soddisfare la domanda, un'elevata incidenza di sostituzioni tra le due piante, sia motivate economicamente che del tutto involontarie. Sebbene *B. monnieri* e *C. asiatica* abbiano effetti sulla salute sovrapponibili e siano comunemente sostituite l'una con l'altra, i loro costituenti fitochimici, il



meccanismo d'azione, alcuni dei loro effetti farmacologici e i gruppi funzionali differiscono. Anche le differenze regionali hanno contribuito a questa confusione. Nel Saurashtra (India occidentale) e in alcune parti dell'India meridionale, anche la specie *Merremia emarginata* Reinw. Blume & Nees (Convolvulaceae) è commercializzata con il nome di brahmi e mandukaparni a causa di alcune somiglianze morfologiche con *Centella asiatica*, creando perciò ulteriore confusione.⁴¹⁻⁴³

Fonti a supporto dell'adulterazione

Secondo Mahapatra *et al.* (2012), esiste una confusione storica tra brahmi (Bacopa) e mandukaparni (Centella), ed entrambe le piante sono state utilizzate fin dall'antichità, con riferimenti che risalgono al 1000 a.C. nell'Atharvaveda. Testi antichi come il "Charaka Samhita" (stimato tra il 100 a.C. e il 200 d.C.) e il "Sushruta Samhita" (probabilmente scritto tra il 400 e il 300 a.C.) citano entrambe le piante, ma i loro ruoli specifici in medicina variano, creando ulteriore ambiguità.

Sebbene l'uso intercambiabile di Bacopa e Centella in formulazioni a supporto delle funzioni cognitive sia ben noto e documentato, in letteratura sono disponibili solo pochi studi sull'autenticazione di prodotti commerciali contenenti tali piante. In tutti questi studi^{7,44-46} per indagare l'adulterazione sono stati impiegati metodi genetici, in un caso⁷ in combinazione con cromatografia liquida ad alte prestazioni con rivelatore UV (HPLC-UV).

Santosh Kumar *et al.* (2018) hanno voluto valutare la frequenza di adulterazione di erbe grezze; tra queste, campioni di Bacopa provenienti dall'India meridionale. Sequenze di DNA a barre isolate dalle regioni spaziatrici trascritte internamente nel DNA ribosomiale nucleare (nr-ITS) e dalle regioni *psbA-trnH* delle piante nei campioni analizzati, sono state confrontate con quelle ottenute da materiali di riferimento botanici autenticati. Cinque degli 8 campioni di "brahmi" analizzati contenevano Bacopa, mentre gli altri 3 *C. asiatica*.⁴⁵

La presenza di adulteranti e contaminanti in due prodotti di medicina complementare, etichettati come contenenti Bacopa, sono stati studiati analizzando la regione genomica *rbcL* con uno strumento di sequenziamento del DNA di nuova generazione. La possibile presenza, come adulteranti, di principi attivi

farmaceutici è stata cercata utilizzando la cromatografia liquida e gassosa, mentre i metalli pesanti sono stati determinati tramite spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS). In un prodotto è stata riscontrata la presenza di DNA vegetale e di caffeina. In un altro prodotto la quantità di piombo superava il limite giornaliero di 2,2 µg per una persona di 60 kg, stabilito dalle linee guida della Therapeutic Goods Administration (TGA) in Australia.⁴⁷



Un altro studio⁷ ha indagato l'autenticità di 18 campioni in commercio etichettati come brahmi, utilizzando metodi basati sul DNA, tra cui la PCR basata su marcatori SCAR (sequence characteristic amplified region) e il metabarcoding insieme ad HPLC-UV. I risultati di queste analisi hanno rivelato che 6 prodotti contenevano solo *Bacopa*, 3 prodotti solo *Centella asiatica*, un prodotto era una miscela di *Bacopa* e *Centella*, mentre 8 prodotti non contenevano alcuna delle due piante. Attraverso la tecnica del metabarcoding sono state trovate in questi prodotti elevate concentrazioni (oltre il 35%) di DNA di 12 diverse specie di piante. Il numero di specie non dichiarate, rilevate per ciascun campione, variava da 2 a 28. Tra le specie più comunemente identificate: patata dolce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Convolvulaceae), falsa margherita (*Eclipta alba* Hassk*, Asteraceae), falcetto (*Senna obtusifolia* (L.) H.S.Irwin & Barneby, Fabaceae), melone amaro (*Momordica charantia* L., Cucurbitaceae), basilico sacro (*Ocimum tenuiflorum* L., Lamiaceae), albero di neem (*Azadirachta indica* A.Juss*, Meliaceae), albero del curry (*Murraya koenigii* (L.) Spreng., Rutaceae), lattuga siberiana (*Xanthium sibiricum* Patr. ex Widder*, Asteraceae), tephrosia bianca (*Tephrosia candida* DC.*, Fabaceae), spina di Cristo giuggiola (*Ziziphus spina-christi* Georgi*, Rhamnaceae), ajwain (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague, Apiaceae) e ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal, Solanaceae).

In particolare, nessuno dei prodotti riportava in etichetta come ingrediente la *Centella*. È importante notare che molti dei prodotti in commercio erano in compresse; pertanto, non è chiaro se l'assenza di DNA della *Bacopa* sia dovuta ad adulterazione o al processo di lavorazione che potrebbe aver rimosso il DNA della pianta. Il metabarcoding del DNA è noto per essere una tecnica sensibile,



in grado di rilevare nei prodotti a base di piante tracce di altre specie, inclusi contaminanti provenienti da specie trasportate dal vento, contaminazioni durante il trasporto, la conservazione o per l'uso di attrezzature non pulite. Le farmacopee forniscono limiti di corpi estranei per ciascun materiale vegetale, riferendosi a sostanze estranee alle piante indicate in etichetta, come piccole quantità di altre piante, terra, insetti, pietre o altre parti della pianta in questione. Il limite di corpi estranei per le parti aeree di *Bacopa* nella monografia BP è stata fissata in < 1%, mentre secondo la monografia USP deve es-

sere < 2% (esclusi terra e pietre). Poiché il metodo del DNA applicato non è in grado di misurare in modo affidabile la concentrazione di contaminanti in un campione, i contaminanti trovati in questo studio potrebbero essere a basse concentrazioni e rientrare nei limiti accettabili.⁷

In uno studio portoghese del 2024 è stata utilizzata la real-time PCR per determinare la quantità di DNA di *Bacopa* in 6 prodotti etichettati come contenenti foglie di brahmi o pianta intera polverizzata, acquistati in negozi locali o online. I risultati di questo studio hanno rivelato che 3 di questi prodotti non contenevano affatto DNA di *Bacopa*, mentre in un altro campione la *Bacopa* era presente in quantità pari al 4,19% (p/p). Al contrario, gli 11 prodotti etichettati come contenenti foglie o parti aeree di *Centella asiatica* sono risultati tutti autentici.⁴⁶

Adulterazione accidentale o intenzionale

Come precedentemente illustrato, la *Bacopa* viene spesso sostituita – accidentalmente o intenzionalmente – con la *Centella*, o viceversa, con il nome di brahmi. Tale sostituzione può portare anche a rari casi di adulterazione involontaria con altre specie di *Centella* o piante morfologicamente simili, erroneamente raccolte come *Centella asiatica*.

Frequenza di adulterazione

In letteratura non è disponibile alcuno studio completo sulla frequenza di adulterazioni della *Bacopa* e le informazioni presenti si basano su un numero limitato di pubblicazioni con campioni di piccole dimensioni. Nella più ampia indagine finora condotta, Shah *et al.* (2023) hanno riportato che quattro dei 18 prodotti in commercio analizzati (22,2%) erano adulterati con *Centella asiatica* e il DNA della *Bacopa* era assente in 8 prodotti (44,4%).⁷ Sebbene in due studi

siano stati riscontrati livelli di adulterazione del 37,5% (3/8)⁴⁵ e del 50% (1/2)⁴⁷, in altri due studi in cui sono stati analizzati, rispettivamente, 6⁴⁸ e 8⁴⁴ prodotti a base di Bacopa, non è stata rilevata la presenza di alcun adulterante.

Possibili problemi di sicurezza

La Centella, il principale sostituto e/o specie adulterante della Bacopa, è anche una pianta medicinale ben nota ed ampiamente utilizzata. Sulla base dei dati disponibili, l'adulterazione di Bacopa con Centella non comporta problemi di sicurezza per la salute umana. È noto che la Bacopa bioaccumula vari inquinanti, tra cui metalli pesanti, pesticidi e tossine dall'ambiente circostante.⁴⁹⁻⁵¹ In India, gran parte della Bacopa viene coltivata nelle risaie delle regioni orientali e nord-orientali del Paese, dopo la raccolta del riso. Durante questo periodo, nel terreno possono residuare tracce di erbicidi e pesticidi comunemente usati nella risicoltura, con il rischio di contaminare la Bacopa. Pertanto, il principale problema di sicurezza dei prodotti a base di questa pianta potrebbe essere non tanto l'adulterazione, quanto invece la contaminazione.⁵¹

Metodi analitici per rilevare adulterazioni e sostituzioni

L'identificazione e l'autenticazione delle parti aeree di Bacopa e del materiale polverizzato possono essere effettuate attraverso una combinazione di analisi macroscopiche (intera o semi-intera), organolettiche, microscopiche, chimiche e genetiche.

Le caratteristiche morfologiche e microscopiche delle diverse parti di Bacopa^{3,15,24,52,53} e di Centella^{43,54-57} sono ben descritte in diversi testi tra cui le monografie ad esse dedicate nelle Farmacopee di vari Paesi.^{14,20,21,23,34,56} Inoltre, le principali differenze morfologiche e microscopiche tra le foglie delle due specie sono riassunte in *Microscopic Characterization of Botanical Medicines* dell'American Herbal Pharmacopoeia.⁵ Mentre i tricomi sono assenti nella Bacopa, le foglie di Centella presentano tricomi semplici o multicellulari. La Bacopa ha stomi anisocitici, mentre la Centella può avere stomi paracitici, anisocitici o anomocitici. Entrambi i lati delle foglie di Bacopa presentano ghiandole capitate (tricomi ghiandolari) composte da sette o otto cellule. Il parenchima a palizzata non è presente nelle foglie di Bacopa. Le foglie di Centella presentano





invece un parenchima a palizzata a una o due file. Inoltre, la Bacopa è caratterizzata da grandi idioblasti.

Il DNA barcoding e altri metodi genetici sono stati frequentemente utilizzati in studi, pubblicati, per identificare campioni e prodotti in commercio a base di Bacopa e/o Centella.^{7,44-48,58,59} Un approccio multilocus di due regioni del codice a barre, ovvero nr-ITS e *psbA-trnH*, è stato utilizzato per identificare il codice a barre del DNA di 30 piante medicinali molto usate nel Sud dell'India. Tre degli 8 prodotti etichettati come brahmi conte-

nevano solo Centella.⁴⁵ Analogamente, la sostitu-

zione di Bacopa con *Centella asiatica* è stata rilevata con successo utilizzando primer universali per codici a barre del DNA (*atpF-atpH*, *trnL* e *psbA-trnH*), basati sulle differenze nella lunghezza dell'amplicone di queste due piante.⁵⁹

In un altro studio, il metabarcoding del DNA, i marcatori SCAR basati su DNA polimorfico amplificato in modo casuale (RAPD) e la cromatografia liquida ad alte prestazioni con rivelatore UV/visibile (HPLC-UV/Vis) sono stati combinati per analizzare 18 campioni di Bacopa in commercio. Gli autori di questo studio hanno osservato che il metabarcoding del DNA è efficace per rilevare un'ampia gamma di adulteranti, mentre l'HPLC-UV/Vis eccelle nell'identificazione e nel monitoraggio di specifici composti bioattivi presenti nei prodotti. La valutazione del marcatore SCAR basata su RAPD è stata considerata come il metodo più semplice ed economico, ma presenta una capacità limitata di rilevare piante non bersaglio. Yadav *et al.* (2012) hanno sviluppato marcatori SCAR basati su RAPD per identificare Bacopa e *Centella asiatica*, nonché i possibili adulteranti come la falsa margherita e la malva pusilla (*Malva pusilla* Sm., Malvaceae). Nessuno dei campioni analizzati è risultato adulterato.⁴⁴

Nel 2023 è stato condotto uno studio con lo scopo di differenziare la Centella dai suoi potenziali adulteranti *Hydrocotyle umbellata* L. (Araliaceae), *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. e *B. caroliniana* (Walter) B.L.Rob. Il DNA barcoding, abbinato all'analisi di fusione ad alta risoluzione (Bar-HRM) utilizzando i loci ITS, *matK* e *rbcL*, è stato utilizzato per identificare le suddette quattro specie vegetali. È stata, inoltre, condotta un'analisi HPLC per ottenere le impronte chimiche di ciascuna pianta. Oltre a distinguere le specie, il metodo Bar-HRM è stato in grado di rilevare la presenza di *B. monnieri* e *H. umbellata* quando miscelate

con *C. asiatica*, sebbene solo a concentrazioni $\geq 75\%$, il che rende questo approccio non applicabile ai fini del controllo qualità.⁵⁸ L'analisi Bar-HRM è stata, inoltre, in grado di differenziare con successo tre specie di Bacopa (*B. monnieri*, *B. caroliniana* e *B. floribunda*) e la sua applicabilità è stata testata in un'indagine sull'autenticità di prodotti in commercio a base di questa pianta. Tutti i 6 prodotti in capsule o compresse a base unicamente di foglie polverizzate di Bacopa, provenienti da Bangkok (Thailandia), sono risultati autentici.⁴⁸

Le monografie delle principali Farmacopee²⁰⁻

^{23,34,56,60} descrivono il metodo della cromatografia su strato sottile (TLC) per autenticare Bacopa e *Centella asiatica* e rilevarne gli adulteranti. La Farmacopea britannica, nel suo metodo TLC, descrive il bacopaside I e II come composti marker per il riconoscimento della Bacopa.²³ Seasong *et al.* hanno utilizzato bacoside A3, bacopasaponina C e i bacopasidi I, II e X come standard di riferimento per analizzare le impronte digitali di 13 campioni di Bacopa mediante TLC.²³ L'Associazione HPTLC fornisce sul proprio sito web un utile metodo HPTLC che include le impronte cromatografiche di Bacopa, *Centella asiatica*, campioni di Bacopa adulterata e composti di riferimento come asiaticoside, bacopasaponina C, bacopaside I, II, X, bacoside A3, bacosina, acido madecassico e madecassoside.^{53,61} Il sito web di tale Associazione contiene anche metodi HPTLC per il riconoscimento della Bacopa dalle Farmacopee europea, indiana, Pharmeuropa, Farmacopea Siddha e USP.⁶¹ Inoltre, diversi metodi HPTLC per l'analisi quantitativa di bacoside A,^{29,62} bacoside B,⁶² luteolina,⁶³ o la standardizzazione basata su marcatori di formulazioni in commercio contenenti Bacopa⁶⁴ possono essere utili per rilevare sostituzioni o adulterazioni.

La cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) viene utilizzata principalmente per l'analisi quantitativa di saponine totali, bacosidi, bacopasidi e bacopasaponina C⁶⁵⁻⁶⁸, nonché di composti come l'apigenina⁶⁵ o l'acido betulinico.²⁷ Tuttavia, l'HPLC può anche svolgere un ruolo prezioso nel rilevare sostituzioni o adulterazioni. In genere, questo metodo cromatografico è abbinato a vari rivelatori come UV, ELSD (evaporative light scattering), array di fotodiodi e spettrometria di massa (MS), come per esempio la spettrometria di massa a tempo di





volo (TOF) a trappola ionica. Inoltre, gli standard USP²⁰⁻²² e BP²³ forniscono metodi HPLC per la valutazione del contenuto, rispettivamente, dei glicosidi triterpenici e delle saponine totali di Bacopa. Uno studio del 2015 ha utilizzato il metodo HPLC della Farmacopea britannica per analizzare il contenuto di bacopaside in un prodotto in commercio, separando i bacosidi mediante una fase mobile isocratica e il rivelatore UV-Vis a 205 nm. Il bacopaside II è stato utilizzato come standard di riferimento. Gli autori di questo studio

hanno concluso che, sebbene il metodo sia valido per l'analisi del bacopaside II, manca della specificità, della robustezza e della riproducibilità necessarie per un'accurata quantificazione dei bacosidi totali.⁶⁸



Riferimenti bibliografici

1. Zimmermann M., Johnson H.E., McGuffin M., Applequist W. The American Herbal Products Association's Herbs of Commerce. 3rd ed. Silver Spring, MD: American Herbal Products Association; 2023.
2. Mehta J., Utkarsh K., Fuloria S., et al. Antibacterial potential of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and its bioactive molecules against uropathogens - An in silico study to identify potential lead molecule(s) for the development of new drugs to treat urinary tract infections. *Molecules*. 2022; 27(15): 4971.
3. Anju V., Naresh C., Avinash P. Anatomical markers and phytochemical study of different plant parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *Int J Life Sciences*. 2017; 5(3): 379-386.
4. Taxon: *Bacopa monnieri* (L.) Pennell. Germplasm Resources Information Network. United States Department of Agriculture Agricultural Research Service website. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomydetail?id=102292>.
5. Upton R., Graff A., Jolliffe G., Länger R., Williamson E., eds. *American Herbal Pharmacopoeia: Botanical Pharmacognosy: Microscopic Characterization of Botanical Medicines*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2016: 373-374.
6. Khobragade P., Khobragade M. Cost effective cultivation of *Centella asiatica* Linn. (mandukaparni) - A pilot study. *J Res Tradit Med*. 2016; 2(5): 135-137.
7. Shah A.P., Travadi T., Sharma S., Pandit R., Joshi C., Joshi M. Comprehensive analysis using DNA metabarcoding, SCAR marker based PCR assay, and HPLC unveils the adulteration in brahmi herbal products. *Mol Biol Rep*. 2023; 50(9): 7605-7618.
8. Parker C. *Centella asiatica* (Asiatic pennywort). CABI Compendium website. www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.12048.
9. Taxon: *Centella asiatica* (L.) Urb. Germplasm Resources Information Network. United States Department of Agriculture Agricultural Research Service website. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomydetail?id=9831>.
10. Rojas-Sandoval J. *Bacopa monnieri* (water hyssop). CABI Compendium website. www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.112638.
11. Chauhan M. Brahmi (*Bacopa monnieri*) - Properties, Benefits, Uses, Dosage. Planet Ayurveda website. www.planetayurveda.com/library/brahmi-bacopamonnieri/
12. Joy P., Thomas H., Mathew S., Skaria B. *Medicinal Plants*. Kerala, India: Kerala Agricultural University Aromatic and Medicinal Plants Research Station; 1998.
13. Khare C.P. *Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary*. New Delhi, India: Springer Science & Business Media; 2008.
14. Department of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha and Homoeopathy. 11. Brahmi (W.P.). *The Ayurvedic Pharmacopoeia of India, Part I, Volume II*. 1st ed. New Delhi, India: The Controller Publications; 2001.
15. Mondal S., Bhar K., Mondal P., et al. In quest of the mysterious holistic Vedic herb *Bacopa monnieri* (L.) Pennell. *Pharmacogn Res*. 2023; 15(3): 410-454.
16. *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. World Flora Online website. www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000558282.
17. *Centella asiatica* (L.) Urb. Plants of the World Online database. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1197718-2#synonyms>.
18. Gray N.E., Alcazar Magana A., Lak P., et al. *Centella asiatica*: Phytochemistry and mechanisms of neuroprotection and cognitive enhancement. *Phytochem Rev*. 2018; 17: 161-194.
19. *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Plants of the World Online database. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1072674-2>.



20. United States Pharmacopeia. Dietary Supplement Monographs, Bacopa. Rockville, MD: United States Pharmacopeia; 2024.
21. United States Pharmacopeia. Dietary Supplement Monographs, Powdered Bacopa. Rockville, MD: United States Pharmacopeia; 2024.
22. United States Pharmacopeia. Dietary Supplement Monographs, Powdered Bacopa Extract. Rockville, MD: United States Pharmacopeia; 2024.
23. British Pharmacopoeia Commission. Bacopa monnieri. British Pharmacopoeia 2022. London, England: Stationery Office; 2021: 105-106.
24. Rai S., Meena S., Rai D.C., Panda P., Kumar S. A comprehensive review on Bacopa monnieri (L). Pennell (Brahmi): Utilization as a functional food ingredient and health-promoting attributes. Ann Phytomed. 2022; 11(1): 142-150.
25. Pawar D., Shankar P.S., Preeti B., Santanu B., Gajanan D., Rupesh D. Brahmi (Bacopa monnieri) as functional food ingredient in food processing industry. J Pharmacogn Phytochem. 2018; 7(3): 189-194.
26. Engels G., Brinckmann J. Bacopa. HerbalGram. American Botanical Council; 2011; 91: 1-4. www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/91/table-of-contents/herbalgram-91-herb-profile-bacopa/.
27. Ritter S., Urmann C., Herzog R., et al. Where is bacosine in commercially available Bacopa monnieri? Planta Med. 2020; 86(08): 565-570.
28. Murthy H.N. Biotechnological production of bacosides from cell and organ cultures of Bacopa monnieri. Appl Microbiol Biotechnol. 2022; 106(5): 1799-1811.
29. Ahmed A., Ahmad S., Ur-Rahman M., et al. Quantitative analysis of bacoside A from Bacopa monnieri, collected from different geographic regions of India, by high-performance thin-layer chromatography-densitometry. J Planar Chromatogr. 2015; 28(4): 287-293.
30. Kunjumon R., Johnson A.J., Baby S. Centella asiatica: Secondary metabolites, biological activities and biomass sources. Phytomed Plus. 2022; 2(1): 100176.
31. Bone K. A Clinical Guide to Blending Liquid Herbs: Herbal Formulations for the Individual Patient. St. Louis, MO: Elsevier Health Sciences; 2003.
32. Kapoor L. CRC Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants. Boca Raton, FL: CRC Press; 1990.
33. Singh H.K. Brain enhancing ingredients from Ayurvedic medicine: Quintessential example of Bacopa monniera, a narrative review. Nutrients. 2013; 5(2): 478-497.
34. Siddha Pharmacopoeia Committee. Pirammi Valukkai (Whole plant). The Siddha Pharmacopoeia of India, Part I, Volume I. 1st ed. New Delhi, India: Department of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha and Homoeopathy; 2008.
35. Goraya G., Ved D. Medicinal Plants in India: An Assessment of their Demand and Supply. New Delhi, India: National Medicinal Plants Board; 2017.
36. Lindstrom A., Ooyen C., Lynch M., Blumenthal M., Kawa K. Sales of herbal dietary supplements increase by 7.9% in 2013, marking a decade of rising sales: Turmeric supplements climb to top ranking in natural channel. HerbalGram. 2014; 103: 52-56.
37. Smith T., Bauman H., Resetar H. US sales of herbal supplements decline slightly in 2022. HerbalGram. 2023; 139: 52-69.
38. National Medicinal Plants Board. Agro-techniques of Selected Medicinal Plants. New Delhi, India: National Medicinal Plants Board; 2008.
39. Gowthami R., Sharma N., Pandey R., Agrawal A. Status and consolidated list of threatened medicinal plants of India. Genet Resour Crop Evol. 2021; 68(6): 2235-2263.
40. Market Price of Medicinal Plants. National Medicinal Plants Board website. September 3, 2024. <https://www.nmpb.nic.in/content/market-price-medicinal-plants>.
41. Mahapatra K., Kumar B. Ancient and pharmacological review on Centella asiatica (mandukaparni): A potential herbal panacea. Int J Res Rev Pharm Appl Sci. 2012; 2(6): 1062-1072.
42. Agarwal P., Goyal A. A comprehensive review on adulteration and substitution of crude drugs. Asian J Pharm Clin Res. 2021; 14(4): 33-38.
43. India Homoeopathic Pharmacopoeia Committee. Homoeopathic Pharmacopoeia of India. Vol 1. New Delhi, India: Ministry of Health and Family Welfare; 2020.
44. Yadav A., Ahmad J., Chaudhary A., Ahmad A. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) marker for the authentication of Bacopa monnieri (L.) Wettst. European J Med Plants. 2012; 2: 186-198.
45. Santhosh Kumar J., Krishna V., Seethapathy G., Ganesan R., Ravikanth G., Shaanker R.U. Assessment of adulteration in raw herbal trade of important medicinal plants of India using DNA barcoding. 3 Biotech. 2018; 8: 1-8.

46. Biltres R., Villa C., Costa J., Mafra I. Botanical authentication of *Bacopa monnieri* herbal products based on a novel Evagreen real-time PCR approach [unpublished]. Accessed October 22, 2024.
47. Hoban C.L., Musgrave I.F., Coghlan M.L., et al. Adulterants and contaminants in psychotropic herbal medicines detected with mass spectrometry and next-generation DNA sequencing. *Pharm Med.* 2018; 32: 429-444.
48. Tungphatthong C., Somnuek J., Phadungcharoen T., Ingkaninan K., Denduangboripant J., Sukrong S. DNA barcoding of species of *Bacopa* coupled with high-resolution melting analysis. *Genome.* 2018; 61(12): 867-877.
49. Hussain K., Ak A., Nabeesa S. Heavy metal accumulation potential and medicinal property of *Bacopa monnieri* – a paradox. *J Stress Physiol Biochem.* 2011; 7(4): 39-50.
50. Dineshkumar M., Sivalingam A., Thirumarimurgan M. Phytoremediation potential of *Bacopa monnieri* in the removal of heavy metals. *J Environ Biol.* 2019; 40(4): 753-757.
51. Lavu R.V.S., Prasad M.N.V., Pratti V.L., et al. Trace metals accumulation in *Bacopa monnieri* and their bioaccessibility. *Planta Med.* 2013; 79(12): 1081-1083.
52. Saesong T., Temkitthawon P., Nangngam P., Ingkaninan K. Pharmacognostic and physico-chemical investigations of the aerial part of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *SJST.* 2019; 41: 397-404.
53. *Bacopa monnieri* (whole plant). AHPA Botanical Identity References Compendium website. [www.botanicalauthentication.org/index.php/Bacopa_monnieri_\(whole_plant\)](http://www.botanicalauthentication.org/index.php/Bacopa_monnieri_(whole_plant)).
54. Czygan F.-C., Frohne D., Hiller K., et al. *Centella asiatica* herba, *Centella*. In: Wichtl M., Czygan F.-C., eds. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis*. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2004: 659.
55. İşcan G., Köse Y.B., Demirci F. *Centellae asiaticae herba - Yaraotu*. Bitkisel Drogların Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri. 1st ed. Antalya, Türkiye: Antalya Eczacı Odası Akademisi Yayınları; 2019: 86-87.
56. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. *Centella, Centella asiatica* herba, 01/2016:1498. European Pharmacopoeia (Ph Eur) 100. Strasbourg, France: Council of Europe; 2019.
57. *Centella asiatica* (aerial parts). AHPA Botanical Identity References Compendium website. [www.botanicalauthentication.org/index.php/Centella_asiatice_\(aerial_parts\)](http://www.botanicalauthentication.org/index.php/Centella_asiatice_(aerial_parts)).
58. Nukool W., Kamol P., Inthima P., Nangngam P., Chomdej S., Buddhachat K. Multiplex Bar-HRM for differentiating *Centella asiatica* (L.) Urb. from possible substituent species. *Ind Crop Prod.* 2023; 205: 117567.
59. Thakur V.V., Tiwari S., Tripathi N., Tiwari G. Molecular identification of medicinal plants with amplicon length polymorphism using universal DNA barcodes of the *atpF-atpH*, *trnL* and *trnH-psbA* regions. *3 Biotech.* 2019; 9(5): 188.
60. British Pharmacopoeia Commission. *Centella*. British Pharmacopoeia 2022. London, England: Stationery Office; 2021: 168-169.
61. *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. HPTLC Association website. www.hptlc-association.org/atlas/hptlc-atlas.cfm?atlasCommand=plant&uuid=593Zi8L8.
62. Chhimwal J., Uniyal M. Identification and estimation of bioactive marker in *Bacopa monnieri* using HPTLC technique. *UJPAH.* 2012; 1(12): 29-32.
63. Varshney A., Shailajan S., Chandra N. Estimation of flavonoid luteolin in different plant parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. by using HPTLC method. *ACAIJ.* 2012; 11(1): 35-39.
64. Jirge S., Gabhe S., Tatke P. Marker based standardisation of plant based formulations containing brahmi using bacoside a by HPTLC. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014; 6(1): 202-207.
65. Bhandari P., Kumar N., Singh B., Singh V., Kaur I. Silica-based monolithic column with evaporative light scattering detector for HPLC analysis of bacosides and apigenin in *Bacopa monnieri*. *J Sep Sci.* 2009; 32(15-16): 2812-2818.
66. Phrompittayarat W., Wittaya-Areekul S., Jetyanon K., Putalun W., Tanaka H., Ingkaninan K. Stability studies of saponins in *Bacopa monnieri* dried ethanolic extracts. *Planta Med.* 2008; 74(14): 1756-1763.
67. Srivastava P., Raut H.N., Puntambekar H.M., Desai A.C. Stability studies of crude plant material of *Bacopa monnieri* and quantitative determination of bacoside I and bacoside A by HPLC. *Phytochem Anal.* 2012; 23(5): 502-507.
68. Dowell A., Davidson G., Ghosh D. Validation of quantitative HPLC method for bacosides in Keen-Mind. *eCAM.* 2015; 2015(1): 696172.
69. Saini N., Mathur R., Agrawal S. Qualitative and quantitative assessment of four marketed formulations of brahmi. *Indian J Pharm Sci.* 2012; 74(1): 24.