

MEDICAMENTO AVANZATO A BASE DI NEEM E IPERICO: DALL'IDEA AL MERCATO, DAGLI EFFETTI AI MECCANISMI D'AZIONE

Fiorella Carnevali, Stephen Andrew van der Esch

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali, Centro Ricerche Casaccia ENEA, Roma

Introduzione

L'uso medicinale di prodotti naturali – composti derivati da fonti naturali come piante, animali o microrganismi – precede la storia umana conosciuta probabilmente di migliaia di anni.

Durante la nostra evoluzione, l'importanza dei prodotti naturali per la medicina e la salute è stata enorme. Da quando i nostri primi antenati masticavano certe erbe per alleviare il dolore o avvolgevano le foglie attorno alle ferite per migliorarne la guarigione, i prodotti naturali sono stati spesso l'unico mezzo curativo a disposizione per malattie e lesioni. È solo dall'inizio del secolo scorso, ricordiamo l'acido acetilsalicilico (1899) e, più in particolare negli ultimi decenni (dagli anni '80 in poi del secolo scorso), che i prodotti naturali hanno assunto un ruolo secondario nella scoperta e nello sviluppo di farmaci, dopo che l'avvento della biologia molecolare e della chimica combinatoria ha reso possibile la progettazione razionale di composti chimici per mirare a molecole specifiche. Gli ultimi anni, tuttavia, hanno visto un rinnovato interesse per l'uso di composti naturali e, cosa più importante, il loro ruolo come base per lo sviluppo di farmaci. I moderni strumenti della chimica e della biologia, in particolare le varie tecnologie “-omiche”, ora consentono agli scienziati di dettagliare l'esatta natura degli effetti biologici dei composti naturali sul corpo umano, nonché di scoprire possibili sinergie.

Comunque, dagli anni Ottanta fino al 2019 ancora il 4,6% dei medicinali di nuova registrazione sono d'origine naturale (di cui 0,8% di origine botanica) e il 18,9% sono derivati da un prodotto naturale essendo di solito una modifica semisintetica (1). Newman e Cragg, infatti, nel 2013, affermavano che, nell'area del trattamento del cancro, è stato dimostrato che circa il 75% delle medicine disponibili è derivato o ispirato da piante (2). Un'altra categoria importante (18,9%) di nuovi medicinali registrati sono i “biologici” (*biological*) di solito costituiti da un grande (> 50 residui) peptide o proteina isolata da un organismo/linea cellulare o prodotto con mezzi biotecnologici in un ospite surrogato, ad esempio gli anticorpi monoclonali.

Qui presentiamo l'esperienza più che decennale dello sviluppo di un dispositivo medico di Classe IIb interamente costituito da una miscela di sostanze naturali ottenuti da due piante: il Neem e l'Iperico.

Breve storia del brevetto ENEA

Agli inizi degli anni 2000 all'ENEA (Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile) è stato sviluppato un “dispositivo medico” a base di estratti vegetali di Neem, *Azadirachta indica* (A. Juss.) e Iperico, *Hypericum perforatum* (L.) efficace per la terapia delle lesioni esterne, di qualunque estensione e natura, acute e croniche, utilizzabile in medicina umana e veterinaria. L'utilizzo dell'invenzione ha mostrato un evidente vantaggio

terapeutico, in confronto alle terapie convenzionali, che si associa a un abbattimento dei tempi di risoluzione del danno e delle sue eventuali recidive, a una sensibile e auspicata riduzione dell'uso di antibiotici sistemici e locali e a una rapida e persistente scomparsa del dolore spontaneo dalla lesione o indotto dalla sua medicazione.

Il 27 novembre 2007 il brevetto "Composizione fitoterapica con proprietà cicatrizzanti, repellenti e biocida per la risoluzione delle lesioni esterne", ha ottenuto la concessione europea e il 26 marzo 2008 con il n. 48211 BE 2008 ha concluso la fase nazionale.

Sostanze presenti nel medicamento preparato di Neem e Iperico

Le due piante scelte, Neem (3, 4) e Iperico (5, 6), sono entrambe già molto conosciute nella medicina tradizionale delle due aree geografiche in cui hanno origine, cioè India e Birmania per il Neem e l'Europa per l'Iperico. Entrambi sono stati oggetto di studi approfonditi negli ultimi 50 anni dello scorso secolo. È da notare che le proprietà cicatrizzanti di entrambe le piante non vengono quasi mai menzionate nella letteratura scientifica del secolo scorso. Solo dopo la prima decade di questo secolo comincia ad apparire qualche sparuta referenza verso questa funzionalità, mentre il brevetto ENEA, che è antecedente, ne ha dimostrata per primo la validità nel 2004.

La miscela di olio di Neem e oleolito di Iperico (chiamata MIX557 prima della commercializzazione) contiene moltissime sostanze naturali derivanti da entrambi le piante.

Olio di Neem

La composizione chimica dell'olio di Neem è molto complessa e ricca di terpenoidi, limonoidi e composti solforati volatili (7). Finora sono stati isolati più di 300 composti da varie parti di *Azadirachta indica* (8). Tuttavia, è stato determinato che nell'olio di Neem da solo, più di 100 composti biologicamente attivi sono presenti (9 e referenze contenute, 10). I costituenti chimici più importanti per le loro attività biologiche sono:

- a) acidi grassi composti principalmente da acido oleico (50-60%), acido palmitico (13-15%), acido stearico (14-19%), acido linoleico (8-16%) e acido arachico (1-3%). L'acido oleico, l'acido linoleico e l'acido α -linoleico sono i principali acidi grassi ω -9, ω -6 e ω -3 presenti in olio di neem;
- b) limonoidi: azadiractina (azadiractina A), salannina, salannol, nimbina, nimbinina, nimbidina, nimbiolo, nimolicinolo, gedunina, 3-tigloilazadirachtol (azadiractina B), epossiazadiradione, 17 β -idrossiazadiradione, 1-tigloil-3-acetil-11-idrossimeliacarpina (azadiractina D), 1 α , 2 α -epossi-17 β -idrossiazadiradione, 1 α , 2 α -epossinimolicinolo e 7-deacetilnimolicinolo;
- c) polifenoli più abbondanti sono l'acido benzoico e l'acido t-cinnamico, un altro fenolo rilevato è 3-OH-4-MeO-benzaldeide. È interessante notare che è stato anche trovato una quantità discreta di naringenina (11).

Tutti questi metaboliti vegetali sono ben noti per le loro efficaci proprietà biologiche contro insetti e parassiti; tra questi, le azadiractine (0,3-0,6%) sono i componenti più attivi dell'olio di Neem. Oltre alle attività anti-insetticida l'olio di Neem e i suoi componenti attivi hanno mostrato diverse attività farmacologiche, comprese attività antinfiammatorie, antiartriche, antipiretiche, ipoglicemiche, diuretiche, spermicide, antimicotiche, antibatteriche, antigastritiche, antivirali e antipsoriasi (12).

I maggiori studi effettuati sulle sostanze presenti nel Neem per uso medico hanno riguardato soprattutto le neoplasie e gli effetti immunostimolanti (13).

Oleolito di Iperico

È noto che l'oleolito d'Iperico tradizionale non contiene ipericina, ma il caratteristico colore rosso e la fluorescenza possono essere attribuiti a costituenti lipofili derivati dalla degradazione dell'ipericina dovuta a esposizione alla luce solare (14).

La caratteristica presenza dei derivati acilfloroglucini policiclici poliprenilati, ovvero iperforina (HPF) e gli analoghi (adiperforina) (15, 16) sono invece legati all'azione terapeutica dell'olio, mentre altri due floriglucini, vale a dire furoiperforina e ossiperforina, sono considerati metaboliti inattivi del iperforina. Anche I3, II8-bBiapigenina [flavonoidi (polifenoli)] è presente nell'oleolito di Iperico.

Possibili meccanismi d'azione

Il razionale clinico per il trattamento delle ferite con prodotti topici derivati dall'Iperico risulta dalle sue attività antimicrobiche e antinfiammatorie e da stimolazione della motilità dei fibroblasti, produzione di collagene e differenziazione dei cheratinociti. Oli e altre formulazioni contenenti iperforina e ipericina o loro derivati sono appropriati per applicazione su graffi, abrasioni, ustioni e ulcere (17).

Nell'articolo di Novelli *et al.* (18) un *excursus* ampio viene fatto sia a livello *in vitro* che *in vivo* sugli effetti delle diverse sostanze presenti in Iperico. Uno dei principali meccanismi dell'azione antinfiammatoria dell'iperforina si basa sul potente e simultaneo blocco delle vie di segnalazione intracellulari provocate dal legame di varie citochine ai loro recettori con un conseguente inibizione sull'attività trascrizionale del *signal transducer and activator of transcription* (STAT) e il *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF-κB) sui geni bersaglio.

Anche per l'olio di Neem esistono prove sempre più numerose degli effetti antitumorali dei limonoidi che sono mediati attraverso l'inibizione delle distintive capacità del cancro come la (i) proliferazione cellulare, (ii) l'evasione dell'apoptosi, (iii) l'infiammazione, (iv) l'invasione e (v) l'angiogenesi. È stato dimostrato che i limonoidi del Neem colpiscono le chinasi di segnalazione oncogeniche e i fattori di trascrizione principalmente, NF-κB, Wnt/β-catenina, PI3K/Akt, MAPK e JAK/STAT (13). È da ricordare che spesso i tumori vengono descritti come "ferite che non guariscono" (*wounds that don't heal*) (19).

Esperienze cliniche

Utilizzo del medicamento in medicina veterinaria

Il dispositivo medico sviluppato dai ricercatori ENEA (MIX557) per favorire la cicatrizzazione fu inizialmente utilizzato in campo veterinario su ferite acute che potevano solo guarire per "seconda intenzione" e che, nel periodo estivo, erano anche infestate da larve di ditteri.

Negli anni iniziali dell'esperienza clinica veterinaria la diversità di animali trattati (cani, gatti, pecore, capre, asini, cavalli, alpaca, mucche, maiali) è stata variegata ed estesa. Anche la natura delle ferite era molto varia (traumatiche, da morso, abrasioni, cheloidi, piodermiti ecc.) sia nelle

dimensioni che nel livello di complicazioni (infette, ascessi, flemmoni, infestate da miasi, lacere e/o da morso, necrotiche, ecc.).

Diverse pubblicazioni/tesi di laurea sono state prodotte grazie all'esperienza clinica accumulata negli anni iniziali e che, successivamente, hanno poi giustificato il repentino utilizzo dello stesso medicamento in medicina umana. Le pubblicazioni che trattano i diversi aspetti clinici in veterinaria sono elencate nella Tabella 1.

Tabella 1. Riferimenti bibliografici riguardanti l'esperienza di MIX557 in medicina veterinaria (periodo 2013-2018)

Riferimento bibliografico	Animali	Tipologia di ferite	Tipo di pubblicazione
20	Pecore; mucche; capre	Miasi	Articolo
21	Cavalli	Cheloidi	Articolo
22	Gatti	Ferite	Atti di Congresso
23	Tartarughe	Ferite di testa	Articolo
24	Pecore	Modello sperimentale di ferite acute	Libro
24	Cane	Piodermiti	Libro
24	Cane	Ferite Traumatiche	Libro

L'esperienza in veterinaria in regime di compassione, su ferite accidentali, e le pubblicazioni fatti dagli autori e da altri (Tabella 1) hanno dimostrato, dal punto di vista clinico, che si era veramente in presenza di un cicatrizzante che favoriva il decorso della guarigione delle ferite in tutte le sue fasi canoniche: (i) infiammatoria, (ii) proliferativa e (iii) di epitelizzazione e maturazione, potenziato inoltre da proprietà antimicrobiche/antibatteriche e biocida/repellenti verso ditteri miasigeni.

Effetto cicatrizzante

Il medicamento agisce su tutte le fasi del processo di guarigione delle ferite. Uno studio su modello animale (ovino), che ha messo a confronto le capacità cicatrizzanti del MIX557 (50-50% Olio di Neem/Oleolito di Iperico) rispetto alle componenti separate (100%) e rispetto al controllo (NaOCl 0,05%, Amuchina), ha dimostrato di essere in grado di regolare finemente, dall'inizio alla fine, tutti i processi fisiologici della riparazione tissutale. La regolazione non è altrettanto fine e ben regolata quando si utilizzano le componenti del brevetto separatamente (risultato già noto nelle diverse medicine tradizionali occidentale e orientale) o nel gruppo di controllo trattato con antimicrobico. Il medicamento ha dimostrato nella maggior parte dei parametri indagati (sia cellulari che fattori di crescita) una sinergia tra le componenti con effetti sempre migliori delle componenti separate e nettamente migliori del controllo (24).

Effetto antibatterico

Il medicamento ha dimostrato, prima in campo veterinario, ma poi di seguito anche in campo umano, che nel trattamento di qualunque lesione esterna, gli antibiotici non sono necessari specie se si inizia la terapia subito dopo il trauma. Se si interviene su ferite già infette, la risoluzione dell'infezione è immediata e solo nei casi più gravi si rende necessario somministrare antibiotici per la prima settimana di trattamento.

Il potente effetto antimicrobico osservato nel trattamento delle ferite, si è replicato nel trattamento delle piodermiti del cane. Le piodermiti sono la prima causa di malattia in questa specie e seconda solo alle allergie da pulci nei Paesi a clima temperato. E sono anche la patologia

a più alta insorgenza di resistenza batterica essendo il protocollo terapeutico convenzionalmente utilizzato, rappresentato da somministrazioni sistemiche e locali di trattamenti antibiotici prolungati per settimane, anche più di sei, oltre la scomparsa dei sintomi locali (che in genere superano i 60 giorni). Il trattamento con il medicamento ha dimostrato invece di poter risolvere questa patologia in tempi molto più contenuti (entro i 40 giorni nei casi molto avanzati e solo un paio di settimane in quelli iniziali mai trattati con antibiotici) senza necessità di utilizzare gli antibiotici, consentendo una reale ed efficace riduzione dell'antimicrobico-resistenza e l'applicazione del principio di uso prudente degli antibiotici raccomandato dalle linee guida comunitarie e ministeriali (20, 24).

Effetto biocida/repellente

Il medicamento presenta al contempo, proprietà repellenti che impediscono ai ditteri miasigeni di depositare le larve carnivore sulle ferite, della durata di 24 ore (20) e di impedire la crescita di quelle residenti, consentendo una gestione delle lesioni nei periodi estivi senza uso di prodotti chimici tossici, tradizionalmente ed erroneamente utilizzati, come la creolina o i *chemicals* non consentiti nell'allevamento biologico come l'ivermectina, risolvendo, senza effetti collaterali, una problematica molto diffusa (le miasi delle lesioni nei periodi estivi delle specie domestiche)

Effetto particolare sui cheloidi

Il medicamento ha dimostrato di avere proprietà specificamente terapeutiche nei confronti della reazione cheloidea nel cavallo, patologia di iperproliferazione della fase di granulazione che comporta grave ritardo, fino all'arresto del processo cicatriziale, con esito finale caratterizzato da cicatrici deturpanti e invalidanti. Una ferita nelle parti distali dei cavalli può comportare l'esclusione dell'animale dalle normali attività per le gravi complicazioni che il cheloide generalmente comporta. Il medicamento si è dimostrato capace di controllare e risolvere tale patologia senza uso di immunosoppressori (cortisonici), causticanti (acido salicilico) comunemente utilizzati, ma che sono sempre accompagnati da gravi e noti effetti collaterali, e senza ricorrere alla resezione chirurgica (protocollo consigliato) che, però, per l'enorme emorragia che comporta, è di difficile applicazione in campo anche da parte di veterinari esperti. Il meccanismo di azione di regressione del cheloide del medicamento è legato alla fine capacità immunomodulatoria della combinazione di Neem e Iperico che consente l'induzione di apoptosi a livello dei fibroblasti del tessuto di granulazione che, nel cavallo, non rispondono al segnale di arresto della proliferazione. Attualmente, è l'unico rimedio esistente sul mercato capace di controllare il cheloide equino senza nessun effetto collaterale, se non la necessità di medicare le ferite quotidianamente, avendo cura di tenerle sotto bendaggio protettivo (21).

Il medicamento si è rivelato, infine, assolutamente innocuo anche nella specie felina (gatti) sulla quale esistevano dubbi di applicabilità a seguito della presenza di derivati del neem che sembrava fossero tossici in questa specie. Il nostro lavoro ha inequivocabilmente dimostrato che il medicamento pur essendo composto dal 50% di olio di neem, non comporta nessuna delle reazioni avverse che erano state segnalate nella utilizzazione del neem come antiparassitario nel gatto (crisi convulsive, tremori e anche morte) (22). Inoltre, anche sulle tartarughe (*Caretta caretta*) si ottengono ottimi risultati senza la necessità di dover utilizzare antibiotici (23).

È stato dunque dimostrato con l'esperienza clinica qui sopra descritta che il MIX557 utilizzato quotidianamente sulle ferite di qualunque estensione e natura ha proprietà cicatrizzanti che permettono di gestire le lesioni esterne senza complicazioni batteriche, in qualunque stadio del processo s'interviene rendendo quasi inutile l'uso di terapie antibiotiche sistemiche e/o locali. Questa peculiarità è d'importanza strategica data l'enorme crescita della resistenza batterica agli antibiotici (sia in umano che in animale) il cui uso errato e abuso in situazioni in cui non sono

necessari, sono le cause principali. Anche l'effetto repellente verso i ditteri miasigeni non è un effetto trascurabile quando si lavora in campo veterinario.

Utilizzo del medicamento in medicina umana

Il lavoro iniziale dei ricercatori ENEA in campo veterinario, insieme a diversi gruppi Universitari, ha indotto le compagnie che stavano sviluppando i prodotti da commercializzare a ricercare collaborazioni con medici per testare l'utilizzo del MIX557 in umano. Questi studi sono stati pubblicati (Tabella 2) e riguardano sia ferite acute che croniche.

Tabella 2. Riferimenti bibliografici riguardanti l'esperienza di MIX557 in medicina umana (periodo 2013-2018)

Riferimento bibliografico	Ferita	Tipologia di ferite	Tipo di pubblicazione
24	Acuta/Cronica	Decubito ecc.	Libro
25	Acuta/Cronica	Decubito ecc.	Articolo
26	Acuta/Cronica	Ferite di testa/Decubito	Articolo
27, 28	Acuta	Post-chirurgico	Articolo
29	Acuta	Ustione	Articolo
30, 31	Acuta	Piede diabetico	Articolo
32, 33	Acuta	Radio-dermite	Articolo
34	Acuta	<i>Sinus</i> pilonidale	Articolo
35	Acuta/Cronica	Condilomi anali	Articolo
36	Acuta/Cronica	Dermatite granulomatosa periorale	Articolo
37	Cronica	Ulcere cutanee correlazione alla calcinosi nella clerosi sistemica	Articolo

Tutti i dati di questo studio osservazionale (tra il 2013 e il 2018) inerenti agli effetti *in vivo* e *in vitro* e su modelli animali, oltre a tutta l'esperienza clinica svolta in collaborazione con un Centro Traumatologico Ortopedico (CTO) sono riportati nel libro "Approccio al Wound Care" (24). Questi studi clinici, rappresentano una casistica omogenea di centinaia di casi problematici, che hanno spaziato dalle lesioni acute traumatiche/chirurgiche/deiscenze alle lesioni croniche vascolari/piede diabetico, tutte, sempre a esito positivo. L'utilizzo del medicamento ha confermato un indiscutibile vantaggio terapeutico rispetto alle terapie convenzionali, anche le più avanzate, insieme con una rapida e persistente scomparsa del dolore di fondo e di quello legato alla medicazione, a un abbattimento dei tempi di risoluzione (vi sono casi di ulcere persistenti da oltre 21-40 mesi guarite in tre mesi circa) e delle recidive (nessuna recidiva al follow-up al terzo mese dalla guarigione), con una notevole riduzione dell'utilizzazione degli antibiotici e quindi altrettanta riduzione dell'antimicrobico resistenza, analogamente a quanto già verificato in veterinaria. Il medicamento agisce su meccanismi di controllo biologici fondamentali, molto conservati nella scala evolutiva. Esattamente a quanto già dimostrato in veterinaria, anche in medicina umana si è visto che, se si applica il medicamento senza l'uso di altri ausili terapeutici o disinfettanti immediatamente dopo l'infortunio, si osserva che il processo di guarigione inizia senza complicanze batteriche e la fase infiammatoria dura i fisiologici 3 giorni, dopo i quali il tessuto di granulazione diventa evidente su tutto il letto della ferita; quando il trattamento si applica su ferite che presentano già infezione microbica, si osserva regolarmente la sterilizzazione di queste già entro 3-5 giorni, con conseguente trasformazione della fase infiammatoria nella fase di granulazione (effetti antibatterico, antinfiammatorio del medicamento) (24).

Altri medici che hanno utilizzato il prodotto in oggetto per varie “case study series” con diversi tipi di ferite acute e croniche suggeriscono che può essere utilizzato come un’efficace medicazione primaria per ferite che promuove la guarigione e protegge la cute perilesionale. Il prodotto promuove un’impressionante induzione del tessuto di granulazione, anche in ferite molto profonde. Si è rivelato semplice da usare e aumenta notevolmente la *compliance* del paziente (25-28).

Anche le ferite da ustione di secondo e terzo grado si prestano a una buona risoluzione se sono trattati unicamente con il *mix* di Neem e Iperico. In effetti, i risultati di un’analisi retrospettiva non controllata suggeriscono che lo spray per ferite di origine vegetale di Neem e Iperico è clinicamente efficace nel trattamento dei tessuti molli ustionati (29).

Anche il piede diabetico è stato ameno a essere trattato con MIX557. Due “case reports” riportano guarigioni complete di piedi diabetici molto problematici, uno con osso esposto (30) e uno con infezione severa in corso (31) con il solo utilizzo del medicamento.

Un altro tipo di ferita trattabile con il medicamento è la radiodermite. L’oleolito d’Iperico e l’olio di Neem si sono dimostrati un’opzione sicura ed efficace nella gestione della tossicità cutanea acuta nei pazienti con cancro della testa e del collo sottoposti settimanalmente a chemio-radioterapia con cisplatino (32, 33).

Altre svariate tipologie di ferite/lesioni sono state trattate con successo con l’applicazione topica del MIX 557 come nel caso di sinus pinoidale (34), condilomi anali (35) granulomatosi peristomale (36) e ulcere cutanee correlate alla calcinosi nella sclerosi sistemica (37).

Considerazioni finali

La ricerca svolta presso l’ENEA (e in seguito da molteplici gruppi Universitari e Ospedalieri) sul trattamento delle lesioni esterne di qualunque estensione e natura in medicina veterinaria e umana ha ribaltato la questione della gestione di queste rispondendo positivamente alla domanda: Esiste una medicazione “All-In-One” che può essere applicata dall’inizio del trauma fino alla completa epitelizzazione delle lesioni sia acute sia croniche nelle varie specie animali, compreso l’Uomo?

Il medicamento messo a punto MIX557 (brevetto dell’ENEA) rappresenta, appunto, una innovazione per la risoluzione delle lesioni esterne di qualunque estensione e natura proprio per le caratteristiche di “All In One” nel senso che contiene tutto quello che serve per poter ottenere una cicatrizzazione fisiologica che non vada incontro a complicazioni batteriche (infezioni) o parassitarie (miasi), che non presenti cicatrici finali fibrotiche o deturpanti e che, specificamente per l’uso in medicina umana, sia in grado di “svegliare” dallo stato di stallo o cronicità le lesioni croniche come le ulcere vascolari o diabetiche.

Il processo cicatriziale consiste di una pletera di interazioni fra varie cellule mediate attraverso un gran numero di citochine (comunicazioni inter-e intra-cellulari) che forma una rete complessa con tanti nodi diversi interdipendenti. Noi ipotizziamo che il gran numero di metaboliti secondari, biologicamente attivi, presenti nel medicamento (MIX557) interagiscono contemporaneamente con un numero consistenti di questi diversi nodi della rete complessa in tal modo da creare numerosi livelli di sinergismo. L’esito finale è di favorire un processo di cicatrizzazione ottimale.

In effetti, dall’inizio di questo secolo si sta facendo strada una nuova paradigma per il “drug discovery” per affrontare malattie multifattoriali (tipo cancro o altre malattie degenerativi) che si chiama “Network pharmacology” (38) dove si sta ragionando come superare la filosofia di “one gene, one drug, one disease” (39).

Forse abbiamo già nel 2004, inconsapevolmente, intrapreso i primi passi lungo questo cammino molto complicato del nuovo paradigma, in cui certamente le sostanze naturali (e le loro miscele/estratti complessi) avranno sicuramente un ruolo molto importante.

Bibliografia

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod* 2020;83:770-803.
2. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830(6):3670-95.
3. European Medicines Agency (EMA). *European Union herbal monograph on Hypericum perforatum L., herba (traditional use)*. EMA: London; 2018. Disponibile all'indirizzo: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/draft-european-union-herbal-monograph-hypericum-perforatum-l-herba-traditional-use-revision-1_en.pdf; ultima consultazione 08/11/2021.
4. Quave CL. Wound healing with botanicals: a review and future perspectives. *Curr Derm Rep* 2018;7:287-95.
5. Rahmani AH, Almatroudi A, Alrumaihi F, Khan AA. Pharmacological and therapeutic potential of neem (*Azadirachta indica*). *Pharmacogn Rev* 2018;12: 250-5.
6. Saleem S, Muhammad G, Hussain MA, Bukhari SNA. A comprehensive review of phytochemical profile, bioactives for pharmaceuticals, and pharmacological attributes of *Azadirachta indica*. *Phytother Res* 2018;32(7):1241-72.
7. Ricci F, Berardi V, Risuleo, G. Differential cytotoxicity of MEX: A component of neem oil whose action is exerted at the cell membrane level. *Molecules* 2009;14(1):122-32.
8. Gossé B, Amissa AA, Adjé, FA Niamké FB, Ollivier D, Ito Y. Analysis of components of neem (*Azadirachta indica*) oil by diverse chromatographic techniques. *J Liq Chromatogr Relat Technolog* 2005;28(14):2225-33.
9. Khanam Z, Al-Yousef HM, Singh O, Bhat IUH. - Neem oil. In: Hamir Singh Rathore, Leo M.L Nollet (Ed.) *Green Pesticides Handbook: Essential Oils for Pest Control*. Boca Raton: CRC Press; 2017 (Chapter 20).
10. Benelli G, Bedini S, Cosci F, Toniolo C, Conti B, Nicoletti M. Larvicidal and ovideterrent properties of neem oil and fractions against the filariasis vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): a bioactivity survey across production sites. *Parasitol Res* 2015;114(1):227-36.
11. Cesa, F. Sisto, G. Zengin, Scaccabarozzi D, Kokolakis AK, Scaltrito MM, Grande R, Locatelli M, Cacciagrano F, Angiolella L, Campestre C, Granese A, Chimenti P, Basilico N. Phytochemical analyses and pharmacological screening of Neem oil, *S Afric J Bot*; 2018. Disponibile all'indirizzo: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918311724#!>; ultima consultazione 08/11/2021.
12. Brahmachari G. Neem-An omnipotent plant: A retrospection. *Chem Bio Chem* 2004;5:408-21.
13. Nagini S. Neem limonoids as anticancer agents: modulation of cancer hallmarks and oncogenic signaling. Chapter 7. In: S. Zahra Bathaie and Fuyuhiko Tamanoi (Ed.) *The Enzymes (Volume Thirty six), Natural Products and Cancer Signaling: Isoprenoids, Polyphenols and Flavonoids*. Cambridge, MA: Elsevier Academic Press; 2014. p. 132-47.
14. Maisenbacher P, Kovar KA. Analysis and stability of *Hyperici Oleum*. *Planta Med* 1992;58(4):351-4.
15. Bilia AR, Bergonzi MC, Morgenni F, Mazzi G, Vincieri FF. Evaluation of chemical stability of St. John's wort commercial extract and some preparations. *Int J Pharm* 2001;213(1-2):199-208.

16. Isacchi B, Bergonzi MC, Carnevali F, van der Esch SA, Vincieri FF, Bilia AR. Analysis and stability of the constituents of St. John's wort oils prepared with different methods. *J Pharm Biomed Anal* 2007;45(5):756-61.
17. Wölflle U, Seelinger G, Schempp CM. Topical application of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Med* 2014;80(2-3):109-20.
18. Novelli M, Masiello P, Befly P, Menegazzi M. Protective role of St. John's Wort and its components hyperforin and hypericin against diabetes through inhibition of inflammatory signaling: evidence from *in vitro* and *in vivo* studies. *Int. J Mol Sci* 2020;21:8108.
19. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal-a historical perspective with a focus on the fundamental roles of increased vascular permeability and clotting. *Semin Thromb Hemost* 2019;45(06):576-92.
20. Carnevali F, Franchini D, Otranto D, Giangaspero A, Di Bello A, Ciccarelli S, Szpila K, Valastro C, van der Esch AS. A formulation of neem and hypericum oily extract for the treatment of the wound myiasis by *Wohlfahrtia magnifica* in domestic animals. *Parasitol Res* 2019;118(8):2361-7.
21. Carnevali F, Argentieri M, Ippedico G, Minniti C, Amodio L, Mellano L, van der Esch SA. Managing horse wounds either presenting or not with exuberant granulation tissue using an innovative wound dressing: a retrospective non-controlled study. *J Animal Vet Sci* 2014;1(2):6-16.
22. Carnevali F, van der Esch SA. No apparent adverse reactions in cat using a neem oil based wound healing remedy (1PWD®). *Atti Congresso VWHA /EWMA*. Frederiksberg: VWHA /EWMA; 2018.
23. Franchini D, Cavaliere L, Valastro C, Carnevali F, van der Esch SA, Lai O, Di Bello A. Management of severe head injury with brain exposure in three loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. *Dis Aquatic Org* 2016;119:145-52.
24. Carnevali F. Importanza della ricerca nel Wound Care: dalla Medicina Veterinaria una medicazione derivata dalle piante "All-in-One". Dal Wound Bed Preparation alla rigenerazione tissutale. Esperienza clinica di 5 anni in un centro ospedaliero. In: Palombi M (Ed). *Approccio al Wound Care*. Roma: CIC Edizioni Internazionali; 2019. p. 483-552.
25. Hunziker T, Hafner M, Streit S, Läubli S. Pflanzlicher Wundspray fuer akute und chronische Hautwunden. *Wund Management* 2012;06:270-4;
26. Läubli S. 1 Primary Wound Dressing®: clinical experience. *HHE* 2012;1-3. Disponibile alla pagina: <https://www.endospitalia.it/wp-content/uploads/2021/07/La%CC%88uchli-2012-105-cases.pdf>; ultima consultazione 08/11/2021.
27. Läubli S, Hafner J, Wehrman C, French LE, Hunziker T. Post-surgical scalp wounds with exposed bone treated with a plant derived wound therapeutic. *J Wound Care* 2012;21:228-33.
28. Läubli S, Vannotti S, Hafuer J, Hunziker T., French L. A plant derived wound therapeutic for cost effective treatment of post-surgical scalp wounds with exposed bone. *Forsch Komplementmed* 2014;21(2):88-93.
29. Mainetti S, Carnevali F. An experience with paediatric burn wounds treated with a plant derived wound therapeutic. *J Wound Care* 2013;22(12):681-9.
30. Iabichella ML. The use of an extract of *Hypericum perforatum* and *Azadirachta indica* in advanced diabetic foot: An unexpected outcome. *BMJ Case Rep*. 2013;bcr2012007299.
31. Iabichella ML, Caruso C, Lugli M. The use of an extract of *Hypericum perforatum* and *Azadirachta indica* in a neuropathic patient with advanced diabetic foot. *BMJ Case Rep*. 2014.
32. Franco P, Potenza I, Moretto F, Segantin M, Grosso M, Lombardo A, Taricco D, Vallario P, Filippi AR, Rampino M, Ricardi U. *Hypericum perforatum* and neem oil for the management of acute skin toxicity in head and neck cancer patients undergoing radiation or chemo-radiation: A single-arm prospective observational study. *Radiat Oncol* 2014;9:297.
33. Franco P, Rampino M, Ostellino O, Schena M, Pecorari G, Garzino Demo P, Fasolis M, Arcadipane F, Martini S, Cavallin C, Airoidi M, Ricardi U. Management of acute skin toxicity with *Hypericum*

- perforatum* and neem oil during platinum-based concurrent chemo-radiation in head and neck cancer patients. *Med Oncol* 2017;34:30.
34. Lenz A, Herrmann B, Illien U, Diener U, Herzig W. Pilonidal sinus wounds: secondary intention Healing with a plant-based wound therapeutic. *Wund Management* 2015;9(2):48-53.
 35. Menconi M, Del Bono L, Sturiale A, Fabiani B, Raad D, Morganti R, Naldini G. Size reduction and improvement of ano-genital warts plate through the application of MIX557-Oleum Hyperici and Neem oil before surgical removal. Preliminary results. *Senses Sci* 2019;6(1):693-700.
 36. Del Missier A, La Torre F, Toma E. Treatment of peristomal granulomatosis with a neem and red hypericum oil application: Case studies. *Clin Ter* 2019;170(2):e86-e92.
 37. Giuggioli D, Lumetti F, Spinella A, Cocchiara E, Sighinolfi G, Citriniti G, Colaci M, Salvarani C, Ferri C. Use of Neem oil and Hypericum perforatum for treatment of calcinosis-related skin ulcers in systemic sclerosis. *J Int Med Res* 2020;48(4).
 38. Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nat Chem Biol* 2008;4(11):682-90.
 39. Gomez-Cadena A, Barreto A, Fioretino S, Jandus C. Immune system activation by natural products and complex fractions: a network pharmacology approach in cancer treatment. *Cell Stress* 2020 18;4(7):154-66.