

PRODOTTI NATURALI AD ATTIVITÀ ANALGESICHE E ANTINFIAMMATORIE

Mariantonella Colucci, Amalia Di Giannuario, Marica Mastriota, Stefano Pieretti
Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

La fitomedicina è la più antica forma di trattamento terapeutico basato sull'utilizzo di piante, ancora oggi ampiamente diffusa. Come in passato, anche oggi c'è un grande interesse intorno alla possibilità di identificare prodotti naturali farmacologicamente attivi, siano essi derivanti da piante, da microorganismi o da animali, terrestri o marini, potenzialmente utilizzabili come farmaci innovativi. Questo si riflette anche nel crescente numero di prodotti naturali e di farmaci ispirati a prodotti naturali che vengono approvati e immessi nel mercato farmaceutico (1).

Riportiamo di seguito alcuni dei più importanti prodotti naturali utilizzati come farmaci efficaci nel trattamento di sindromi algiche acute e croniche. Inoltre vengono riportati i risultati di un nostro studio sull'attività farmacologica del diglucoside ipoxoside, purificato dalla radice della pianta *Hypoxis hemerocallidea*. Infine, vengono riportati i risultati da noi condotti su un diterpene isolato dalle parti aeree di *Salvia cinnabarina* e denominato CMP1, potenzialmente efficace nel trattamento dell'ansia.

Prodotti naturali e trattamento del dolore

L'*International Association for the Study of Pain* (IASP) definisce il dolore come una spiacevole esperienza sensoriale ed emotiva associata a danno tissutale, in atto o potenziale, o descritta in termini di tale danno. Esso viene generalmente classificato come dolore acuto o cronico. Il dolore acuto si manifesta come la risposta fisiologica dell'organismo ad uno stimolo nocivo e normalmente scompare con la scomparsa dello stimolo stesso. Il dolore cronico invece insorge in seguito a danni persistenti o permanenti o in seguito a gravi malattie (diabete, cancro, neuropatie). Esso consiste in una persistente percezione di malessere dell'individuo, sino a produrre profonde modificazioni della personalità e dello stile di vita.

Molti dei farmaci più efficaci nel trattamento delle sindromi algiche sono di origine naturale. Gli oppiacei (morfina, codeina, tebaina), estratti dal *Papaver somniferum*, insieme ai loro derivati semi-sintetici (idromorfone, ossicodone, eroina, ecc.) e sintetici (fentanil, metadone, meperidina, tramadol e gli antagonisti naloxone, nalmefene e naltrexone), rappresentano la più utilizzata e la più antica classe di farmaci analgesici utilizzati dall'uomo. Gli oppioidi vengono utilizzati da molto tempo nel trattamento del dolore acuto (come il dolore post operatorio) e anche nelle cure palliative per alleviare il dolore cronico nei malati terminali di cancro o in condizioni degenerative come l'artrite reumatoide. Gli oppioidi (con questo termine si intendono sia molecole endogene quali encefaline, endorfine, dinorfine, che i composti esogeni, naturali e sintetici) svolgono la loro azione analgesica mediante l'attivazione di recettori accoppiati a proteine G, designati come MOP (mu oppioidi), DOP (delta oppioidi), KOP (kappa oppioidi) e NOP (N/OFQ), presenti nelle aree nervose deputate al controllo della percezione dolorosa (2).

Un altro composto il cui impiego antalgico è ampiamente diffuso è senz'altro l'aspirina. L'aspirina, derivata dall'acido salicilico estratto dalla corteccia di *Salix alba*, rappresenta il primo farmaco antinfiammatorio non steroideo (FANS) ad essere stato impiegato nel trattamento di forme lievi di dolore a base infiammatoria, grazie alla sua azione di inibizione dell'enzima cicloossigenasi e quindi della sintesi di eicosanoidi (3).

Un altro sistema coinvolto nei processi nocicettivi è rappresentato dai recettori dei cannabinoidi (4), attivati da composti naturali quali il D9-tetraidrocannabinolo (D9-THC) e il cannabidiolo, estratti dalla pianta *Cannabis sativa*. Sebbene efficaci nel trattamento del dolore, i derivati di *Cannabis* esercitano effetti psicoattivi mediante l'attivazione del recettore CB₁, abbondantemente presente nell'encefalo. Attualmente D9-THC è commercializzato in combinazione con il cannabidiolo sotto forma di spray orale (Sativex™) per i malati di sclerosi multipla e per alleviare il dolore neuropatico. Il corrispettivo farmaco sintetico dronabinolo, privo di effetti collaterali narcotizzanti o di dipendenza, è commercializzato con il nome di Marinol™ per il trattamento dell'anoressia o come antiemetico per i pazienti sottoposti a chemioterapia.

I capsaicinoidi comprendono una serie di molecole naturali in grado di attivare il recettore TRPV1 (*transient receptor potential cation channel vanilloid 1*), implicato nella percezione nocicettiva periferica (5). Tra i ligandi di TRPV1 più potenti ritroviamo la capsaicina (estratta da molte specie di *Capsicum*), la resiniferatossina (estratta da *Euphorbia resinifera*), lo scutigeral (isolato dal fungo *Albatrellus ovinus*).

Da ultimo, ma non da meno importante, citiamo lo ziconotide, ossia la forma sintetica della ω-conotossina MVIIA isolata dal veleno del mollusco marino *Conus magus*. Lo ziconotide, che agisce bloccando potentemente i recettori del calcio voltaggio-dipendenti di tipo N espressi sui neuroni delle corna dorsali del midollo spinale e sulle afferenze primarie periferiche, è stato approvato dalla FDA (*Food and Drug Administration*, organo competente negli Stati Uniti al rilascio delle autorizzazioni in commercio di nuovi farmaci) nella formulazione farmaceutica denominata Prialt™ per il trattamento del dolore severo cronico (6).

Benché queste molecole siano estremamente efficaci nel trattamento del dolore, il loro utilizzo è, in molti casi, condizionato dall'insorgenza, nei pazienti, di effetti avversi talora gravi. Per questa ragione, molti sforzi vengono compiuti dalla comunità scientifica allo scopo di identificare composti che abbiano un'elevata attività analgesica ed effetti collaterali trascurabili.

Due esempi di potenziale applicazione terapeutica dalle piante del genere *Hypoxis* e *Salvia*

Hypoxis hemerocallidea è una pianta diffusa nell'Africa del Sud ampiamente utilizzata nella medicina popolare. Tradizionalmente la radice di questa pianta, denominata anche patata africana, è impiegata sotto forma di decotti per il trattamento di numerose malattie quali infezioni urinarie, ipertensione, emicrania, parassitosi intestinali, ipertrofia prostatica, AIDS. Da essa è stato isolato un pro-farmaco inattivo denominato ipoxoside che, una volta ingerito, viene metabolizzato in un composto biologicamente attivo, il rooperolo. Questo diglucoside produce effetti antiossidanti, antineoplastici, battericidi e inibitori di alcune isoforme di enzimi appartenenti al complesso del citocromo P450 (7).

Esperimenti *in vivo* condotti nel nostro laboratorio hanno dimostrato che l'ipoxoside produce effetti antinocicettivi al test della formalina ed effetti antinfiammatori in un modello di edema nella zampa del topo (8). Nel test della formalina, l'iniezione di una soluzione all'1% di formalina nel sottocute dorsale (sc.) della zampa posteriore del topo (20 µL/zampa) evoca una

risposta comportamentale nocifensiva espressa come leccamento e morsicamento da parte dell'animale della zampa trattata. Tale risposta presenta un tipico andamento bifasico, con una fase acuta (0-10 min) dovuta alla diretta stimolazione delle fibre nocicettive periferiche e una fase ritardata (10-40 min) dovuta all'insorgenza di dolore infiammatorio. La somministrazione intraperitoneale (ip.) di ipoxoside (1 mg/kg, 1 h prima della formalina), non altera la risposta allo stimolo nocicettivo, mentre ipoxoside alle dosi di 10 e 20 mg/kg (1 h prima), riduce l'attività di leccamento nella fase tardiva del test. Diversamente, ipoxoside (1-20 mg/kg, ip.) non altera la soglia nocicettiva agli stimoli termici al test della piastra calda. In un modello animale di infiammazione, la somministrazione di zymosan (1% w/v) nel sottocute dorsale della zampa posteriore del topo (50 µL/zampa) produce un aumento tempo-dipendente del volume della zampa, corrispondente allo sviluppo locale di edema. Ipoxoside, somministrato sc. alle dosi di 1, 10, 20 µg/zampa, 30 min prima di zymosan, produce una riduzione dose-dipendente dell'edema, con un picco dopo 2-3 h dall'iniezione di zymosan.

Questi risultati sembrano indicare che gli effetti analgesici prodotti da ipoxoside possano dipendere dall'attivazione di meccanismi antinfiammatori. Studi successivi condotti da altri gruppi di ricerca hanno dimostrato che l'estratto acquoso della radice di *Hypoxis* induce aumento della soglia nocicettiva a stimoli nocicettivi termici e chimici quando somministrato per via intratecale nel topo e riduzione dell'infiammazione prodotta dalla somministrazione di albumina nella zampa posteriore di ratto, quando somministrato per via orale (9). È stato inoltre dimostrato che ipoxoside produce effetti ipoglicemizzanti in un modello di diabete mellito indotto dall'iniezione ip. di streptozotocina nel ratto (10). Gli effetti antinfiammatori e antidiabetici prodotti da ipoxoside sono mediati dall'inibizione della sintesi, produzione e/o rilascio di mediatori pro-infiammatori, quali le prostaglandine. È stato infatti dimostrato che proteine simil-lectina purificate dall'estratto acquoso della patata africana sono in grado di inibire l'enzima cicloossigenasi (COX) *in vitro* e che l'estratto etanologico produce effetti inibitori su COX-1 maggiori di quelli prodotti dall'estratto acquoso (11).

Salvia cinnabarina

Diverse specie appartenenti al genere *Salvia* (Famiglia *Lamiaceae*) contengono sostanze che presentano effetti farmacologici sistemici e/o centrali, quali flavonoidi, olii essenziali, diterpeni, triterpeni, polifenoli (12). Salvinorina A (isolata da *S. divinorum*), miltirone, tanshinone IIA e IIB, carnosolo e acido carnosico (da *S. officinalis*) sono alcuni esempi di diterpeni con proprietà allucinogene, neuroprotettive, sedative e ipnotiche.

Durante uno screening di composti farmacologicamente attivi dalle piante del genere *Salvia*, è stato riportato come l'estratto etanologico grezzo, ottenuto dalle parti aeree della pianta *Salvia cinnabarina* M. Martens et Galeotti, possieda attività antispasmodica *in vitro*. Tale effetto era prodotto da un nuovo diterpenoide isolato dall'estratto crudo, l'acido 3,4-secoisopimar-4(18),7,15-triene-3-ico, denominato CMP1 (13, 14). Studi successivi hanno dimostrato che CMP1 è in grado di ridurre la motilità intestinale del topo *in vivo* (15), di ridurre la contrattilità della vescica di ratto *in vitro* con un meccanismo che coinvolge i canali del calcio (16) e di produrre una lieve attività ipotensiva nel ratto (17). In un recente studio abbiamo dimostrato che CMP1 possiede interessanti proprietà centrali nel topo, quali effetti sedativi e ansiolitici (18). In questo studio, sia CMP1 (10 mg/kg, ip.) che diazepam (2 mg/kg, ip.) aumentano il tempo speso nelle braccia aperte e il numero di ingressi nelle braccia aperte nel test del labirinto sopraelevato. Il diazepam, alla dose di 1 mg/kg ip., aumenta il numero di ingressi nelle braccia aperte, mentre CPM1, alla dose più bassa di 1 mg/kg non produce alcun effetto. CMP1 e diazepam potenziano inoltre il sonno indotto dalla somministrazione ip. di pentobarbital (50

mg/kg). Infatti, CMP1 (10 mg/kg, ip.) aumenta significativamente il tempo di sonno indotto da pentobarbital ($218,8 \pm 25,5\%$, t-test: $t_{18} = 3,968$, $p < 0,001$, $N = 10$). In maniera simile, diazepam (2 mg/kg, ip.) aumenta il tempo di sonno indotto dal barbiturico ($164,4 \pm 20,9\%$, t-test: $t_{26} = 3,968$, $p < 0,01$, $N = 15$). Al contrario, CMP1 non altera la soglia nocicettiva a stimoli termici nocivi nei test della piastra calda e dello scatto di coda. Infine, CMP1 non presenta attività antidepressiva, poiché inefficace nel test del nuoto forzato.

In conclusione, le nostre osservazioni permettono di delineare ulteriormente il profilo farmacologico dei diterpenoidi e suggeriscono che CMP1 possa rappresentare un composto di partenza per lo sviluppo di una nuova classe di ansiolitici.

Bibliografia

1. Koehn FE, Carter GT. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:206-20.
2. Satoh M & Minami M. Molecular pharmacology of the opioid receptors. *Pharmacol Ther* 1995;68:343-64.
3. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971;231:232-35.
4. Grotenhermen F. Pharmacology of cannabinoids. *Neuro Endocrinology Lett* 2004;25:14-23.
5. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997;389:816-24.
6. Miljanich GP. Ziconotide: neuronal calcium channel blocker for treating severe chronic pain. *Curr Med Chem* 2004;11:3029-40.
7. Drewes SE, Elliot E, Khan F, Dhlamini JTB, Gcumisa MSS. *Hypoxis hemerocallidea*-not merely a cure for benign prostate hyperplasia. *J Ethnopharmacol* 2008;119:593-8.
8. Nicoletti M, Pieretti S, Capasso A, Galeffi C. Analgesic effects induced by hypoxoside, a norlignan glucoside from *Hypoxis* spp. *Phytother Res* 1996;10:398-401.
9. Ojewole JAO. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic properties of *Hypoxis hemerocallidea* Fisch. & C.A. Mey (Hypoxidaceae) corm 'African Potato' aqueous extracts in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 2006;103:26-134.
10. Mahomed IM, Ojewole JAO. Hypoglycemic effect of *H. hemerocallidea* corm (African potato) aqueous extracts rats. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 2003;25:617-23.
11. Gaidamashvili M, van Staden J. Prostaglandin inhibitory activity by lectin-like proteins from South African plants. *S Afr J Bot* 2006;71:661-3.
12. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. The pharmacological effects of *Salvia* species on the central nervous system. *Phytother Res* 2006;20:427-37.
13. Romussi G, Ciarallo G, Bisio A, Fontana N, De Simone F, De Tommasi N, Mascolo N, Pinto L. A new diterpenoid with antispasmodic activity from *Salvia cinnabarina*. *Planta Medica* 2001;67:153-5.
14. Bisio A, Pagano B, Romussi A, Bruno O, De Tommasi N, Romussi G, Mattia CA. Relative stereochemistry of a diterpene from *Salvia cinnabarina*. *Molecules* 2007;12:2279-87.
15. Capasso R, Izzo AA, Capasso F, Romussi G, Bisio A, Mascolo N. A diterpenoid from *Salvia cinnabarina* inhibits mouse intestinal motility in vivo. *Planta Medica* 2004;70:375-7.
16. Capasso R, Izzo AA, Romussi G, Capasso F, De Tommasi N, Bisio A, Mascolo N. A secoisopimarane diterpenoid from *Salvia cinnabarina* inhibits rat urinary bladder contractility in vitro. *Planta Medica* 2004;70:185-8.

17. Alfieri A, Maione F, Bisio A, Romussi G, Mascolo N, Cicala C. Effect of a diterpenoid from *Salvia cinnabarina* on arterial blood pressure in rats. *Phytother Res* 2007;21:690-2.
18. Maione F, Bonito MC, Colucci M, Cozzolino V, Bisio A, Romussi G, Cicala C, Pieretti S, Mascolo N. First evidence for an anxiolytic effect of a diterpenoid from *Salvia cinnabarina*. *Nat Prod Comm* 2009;4:469-72.