

NANOTECNOLOGIE E NANOMEDICINA APPLICATE ALLO SVILUPPO DI PRODOTTI NATURALI

Silybum marianum Gaert

Le nanotecnologie offrono innumerevoli e inedite possibilità di sviluppare prodotti contenenti molecole di origine naturale, che per le loro caratteristiche chimico-fisiche risultano poco disponibili. Formulazioni con nanovettori permettono l'aumento della biodisponibilità di tali sostanze e la penetrazione attiva attraverso le barriere cellulari con la conseguente ottimizzazione dell'efficacia dei farmaci vegetali.

*** Bilia Anna Rita, **Piazzini Vieri, **Guccione Clizia, **Risaliti Laura, **Asprea Martina, **Capecchi Giada, **Bergonzi Maria Camilla**

Iprodotti naturali da piante, animali e minerali hanno avuto un ruolo chiave nel trattamento e nella prevenzione delle malattie umane fin dall'antichità

e rappresentano ancora una fonte significativa per la realizzazione di moderni farmaci. Attualmente, il mercato globale dei prodotti naturali, principalmente del regno vegetale, è stimato a più di 80 miliardi di dollari ed è in con-

tinua crescita. I prodotti erboristici e gli estratti botanici venduti come integratori alimentari, alimenti o prodotti medicinali sono maggiormente rappresentati sul mercato, mentre i singoli costituenti isolati rappresentano

una proporzione minore. Inoltre, secondo l'OMS, tra il 65 e l'80% della popolazione nei paesi in via di sviluppo attualmente utilizza piante medicinali come rimedi terapeutici. Il 20° secolo è stato caratterizzato dallo sviluppo di molecole sintetiche progettate per avere efficacia selettiva su recettori o enzimi, negli ultimi decenni è apparso chiaro che queste strategie terapeutiche spesso non sono sufficientemente efficaci perché hanno un basso valore terapeutico contro le numerose patologie multifattoriali e complesse, in particolare il cancro e il diabete. Al contrario, invece, c'è stata una sempre maggiore presa di coscienza sull'attività di diversi prodotti naturali. Modulando molteplici bersagli molecolari coinvolti contemporaneamente nel processo di trasmissione del segnale all'interno della cellula, queste sostanze naturali possono avere un effetto su più bersagli e diversi target molecolari come enzimi, proteine e recettori, evidenziando così un loro ruolo indiscutibile nella terapia. D'altro canto, però, l'efficacia di molti composti naturali ed estratti è spesso scarsa a causa di una bassa idrofilia con conseguente inadeguata dissoluzione, e/o instabilità chimica. Inoltre, si può verificare un basso assorbimento, insufficiente biodistribuzione, metabolismo di primo passaggio, scarsa penetrazione e accumulo negli organi target. Senza dubbio, gli estratti totali hanno generalmente prestazioni terapeutiche migliori rispetto ai loro singoli costituenti. Lo sviluppo di composti semisintetici o analoghi sintetici, insieme alla produzione di profarmaci rappresentano una strategia largamente utilizzata per ottimizzare le prestazioni dei prodotti naturali, anche se, come in molti casi, questi approcci non sono stati soddisfacenti.

La progettazione e produzione di sistemi idonei per la somministrazione di farmaci, in particolare i nanosistemi, offre un ulteriore e più avanzato approccio per migliorare la biodisponibilità e/o ottimizzare la stabilità di costituenti isolati e estratti. Il prefisso nano deriva dal greco *nāvoç* attraverso il latino *nanus*, che significa letteralmente "molto piccolo", oggi vale a dire un fattore 10^{-9} , ovvero 1/1.000.000.000. Numerosi nanosistemi con dimensioni tra 50 e 300 nm sono oggi in fase clinica e un numero molto limitato di essi è utilizzato in terapie antifungine, antitumorali, antivirali. La sfida più incalzante per il prossimo futuro è la progettazione di sistemi multifunzionali, materiali strutturati in grado di indirizzare tessuti o organi specifici o contenenti funzionalità per consentire il trasporto attraverso barriere biologiche. Affinché il nanosistema sia un medicinale di successo deve possedere quantità idonee di carico del principio attivo e nello stesso tempo il suo rilascio deve essere ottimale per consentire un'efficacia terapeutica elevata con bassi effetti collaterali, oltre ad avere una lunga conservabilità. Le nanoformulazioni in genere possono migliorare la solubilità, stabilità, efficacia di assorbimento cellulare/internalizzazione, specificità, tollerabilità e indice terapeutico. I medicinali commerciali in forma di nanosistemi hanno avuto un impatto enorme nella tecnologia medica, migliorando significativamente la prestazione di alcuni farmaci in termini di efficacia, sicurezza e compliance del paziente.

Negli ultimi dieci anni numerose nanoformulazioni basate su prodotti naturali, sia come composti isolati che estratti sono stati sviluppati per ottimizzare le loro proprietà biofarmaceutiche. Il lettore potrebbe sostenere che è

alquanto bizzarro mettere insieme la nanotecnologia e i prodotti naturali. In realtà, una varietà di nanosistemi funzionali sono presenti in natura e la loro scala molecolare rappresenta il livello al quale si verificano tutte le reazioni biologiche. In particolare sia nel mondo animale, inclusi i mammiferi, che nel mondo vegetale, sono presenti delle speciali nanovesicole chiamate esosomi, di diametro compreso tra 30 e 300 nm, che vengono secrete dalla maggior parte delle cellule. Gli esosomi svolgono diversi ruoli vitali di cellule e tessuti, agiscono anche come messaggeri, trasmettendo informazioni ai tessuti distanti. Nel mondo vegetale gli oli essenziali vengono accumulati in diverse strutture sub-microniche, mentre altri metaboliti secondari come i carotenoidi sono conservati in forma di nanocristalli, all'interno dei cromoplasti.

Nanomedicina: solo una questione di dimensione?

L'efficacia di un farmaco è legata alla sua biodisponibilità, definita dall'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) come "la velocità e la quantità di principio attivo che viene assorbito e diventa disponibile sul sito di azione". Dopo somministrazione endovenosa, si presume che la dose di farmaco sia biodisponibile al 100%, dal momento che il farmaco viene introdotto direttamente nella circolazione sistemica. Tutte le altre forme di somministrazione sistemiche (orale, intramuscolare, sottocutanea, etc.) in genere presentano una biodisponibilità inferiore a 100%. In particolare, dopo somministrazione orale, la solubilità, la velocità di dissoluzione, la permeabilità gastrointestinale, il metabolismo di primo passaggio e la suscettibilità a meccanismi di efflusso sono tutti parametri fondamentali che controllano il tasso

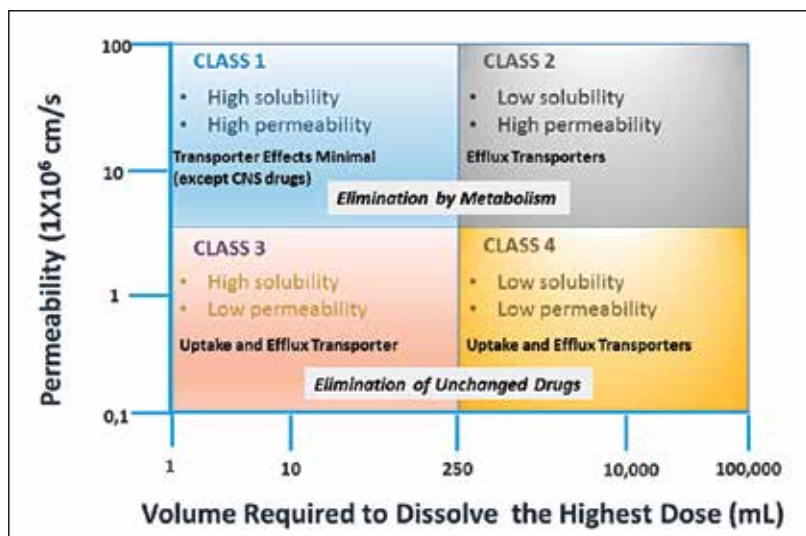


Fig 1 - Dissoluzione in vitro e biodisponibilità in vivo dei prodotti farmaceutici

e l'ampiezza dell'assorbimento di un farmaco e la sua biodisponibilità. La classificazione scientifica di una sostanza farmaceutica si basa su un sistema il cui acronimo è BCS (*Biopharmaceutical Classification System*), direttamente correlata alla solubilità e permeabilità intestinale della molecola che correlano con la dissoluzione *in vitro* e la biodisponibilità *in vivo* dei prodotti farmaceutici (Fig. 1).

Il sistema BCS è uno strumento fondamentale nello sviluppo di un medicinale, specialmente in quello di formulazioni orali. Un farmaco è considerato altamente solubile quando il più alto dosaggio è solubile in 250 mL di un mezzo acquoso con valore di pH compreso tra 1.0 e 7.5, altrimenti la sostanza è considerata poco solubile. La classificazione di permeabilità è basata sulla portata dell'assorbimento intestinale di un farmaco che è considerata altamente permeabile quando l'assorbimento intestinale è del 90% o più elevato rispetto a una dose endovenosa di riferimento. I farmaci della classe I sono rappresentati dalle molecole che hanno elevata solubilità ed elevata permeabilità e sono considerati ideali. I farmaci di classe II hanno un'elevata permeabilità

e gli studi sono focalizzati al miglioramento della loro solubilità. Nella classe III la biodisponibilità è limitata alla permeabilità, ma la dissoluzione è invece rapida. In caso di farmaci di classe IV, la biodisponibilità è limitata sia da una scarsa dissoluzione sia dalla permeabilità intestinale. Una semplice e conveniente tecnica per aumentare la solubilità di un farmaco è modificarne le sue caratteristiche fisiche riducen-

do la dimensione delle particelle e/o modificando la sua struttura cristallina. Oltre alle tecniche di micronizzazione convenzionali, oggi diversi processi per la produzione di nanoparticelle risultano promettenti per il miglioramento della solubilità dei farmaci. Le nanopolveri presentano dimensioni nel range 10-1000 nm e parità di massa possiedono superfici superiori rispetto a polveri di scala più grande, con conseguente migliore dissoluzione. Un metodo semplice per spiegare questo effetto è schematizzato dalla Figura 2. Un cubo solido di un materiale che misura 1 mm per lato ha 6 mm² di superficie. Quando la dimensione è ridotta a 10 µm, la superficie totale è di 600 mm², e diventa 60 000 mm² se il cubo è 100 nm per lato (Fig. 2). Le nanopolveri, possono essere somministrate per diverse vie, orale, parenterale, transdermica, transmucosale, oculare, polmonare, e possono ottimizzare le caratteristiche biofarmaceutiche di un farmaco controllando la velocità e l'enti-

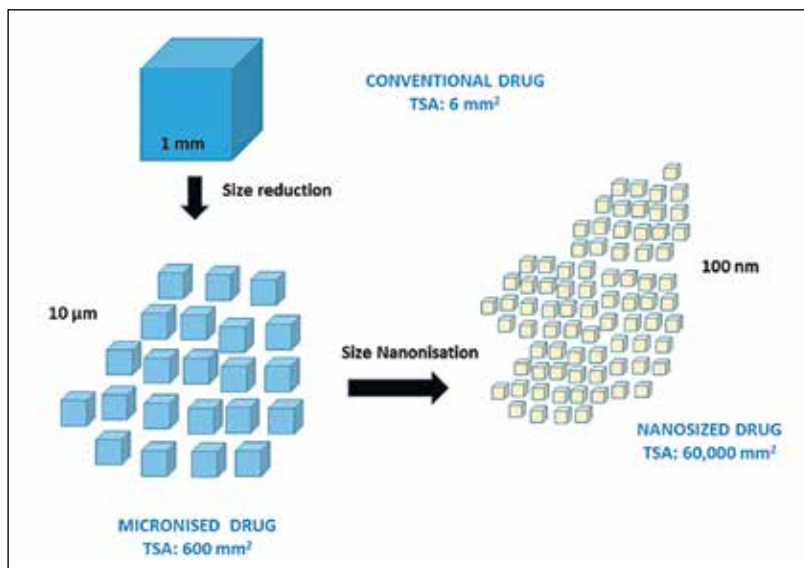


Fig2 - Le nanopolveri presentano dimensioni nel range 10-1000 nm e parità di massa possiedono superfici superiori rispetto a polveri di scala più grande, con conseguente migliore dissoluzione. Nella figura, un cubo solido di un materiale che misura 1 mm per lato ha 6 mm² di superficie. Quando la dimensione è ridotta a 10 µm, la superficie totale è di 600 mm², e diventa 60.000 mm² se il cubo è 100 nm per lato.

tà dell'assorbimento del farmaco stesso e, in ultima analisi, la sua biodisponibilità.

A differenza delle nanopolveri, i nanosistemi chiamati anche nanocarriers o nanovettori non migliorano solo la solubilità del farmaco, ma possono migliorare la fotostabilità e la stabilità chimica, la biodisponibilità, superare i fenomeni di resistenza, penetrare attivamente attraverso le barriere cellulari con conseguente ottimizzazione dell'efficacia del farmaco. Inoltre, i nanovettori possono mascherare il gusto spiacevole o limitare la volatilità di una molecola. Dimensioni, forma, carica, proprietà idrofobiche/idrofiliche e la natura chimica superficiale giocano ruoli fondamentali per migliorare i profili farmacodinamici di farmaci e la loro efficacia (Figura 3). La modifica superficiale dei nanosistemi può essere ottenuta ricoprendo l'esterno con polimeri mucoadesivi, come il chitosano, che aumentano l'assorbimento dei farmaci, oppure utilizzando polimeri idrofili, per esempio po-

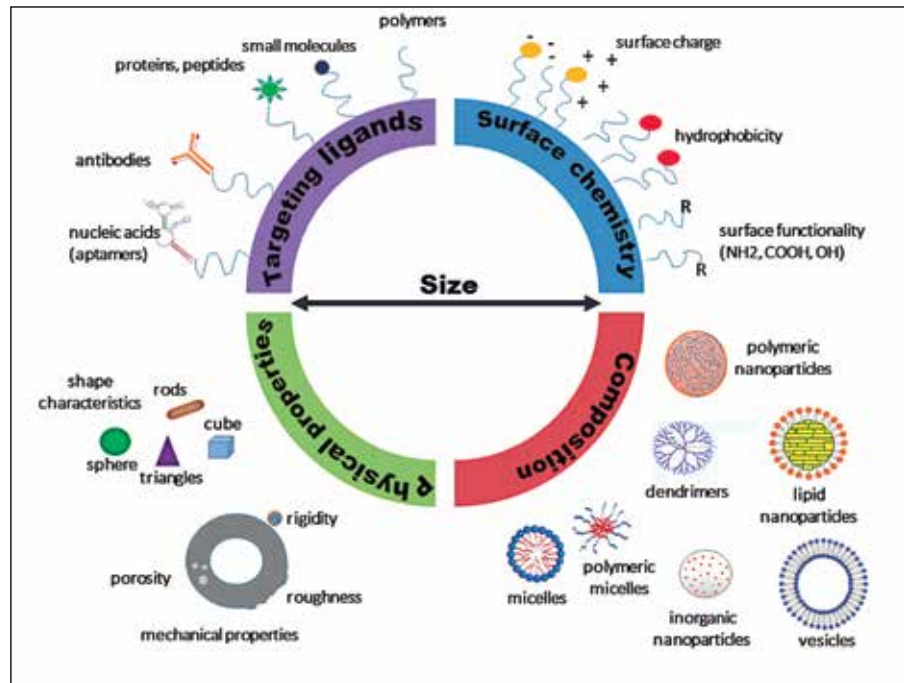


Fig 3 - Dimensioni, forma, carica, proprietà idrofobiche/idrofiliche e la natura chimica superficiale giocano ruoli fondamentali per migliorare i profili farmacodinamici di farmaci e la loro efficacia

lietilenglicole (PEG), che possono limitare l'opsonizzazione da parte delle cellule del sistema reticoloendoteliale (RES). È stato osservato che in determinate circostanze,

vale a dire infiammazione/ipossia, tumori e infarto, il rivestimento endoteliale della parete del vaso sanguigno diventa più permeabile rispetto allo stato fisiologico. I nanocarrier possono meglio penetrare tumori o regioni infiammate del corpo grazie alle loro dimensioni, che sono tali da permettere l'extravasazione nei tessuti e una ritenzione nel tessuto infiammato (Fig. 4a e 4b). Questo approccio viene anche definito targeting passivo. Una strategia alternativa è la "decorazione" della superficie del nanocarrier con elementi "targeting" per massimizzare il loro accumulo nel sito di interesse (Fig. 4c). Questo approccio, chiamato di targeting attivo, rappresenta una terapia ideale per curare una malattia in quanto il carrier è selettivo per le sole cellule malate. Diversi elementi di targeting possono essere usati per decorare la superficie dei nanocarriers, vale a dire, anticorpi, piccole molecole, proteine e peptidi che vengono riconosciuti selettivamente da tes-

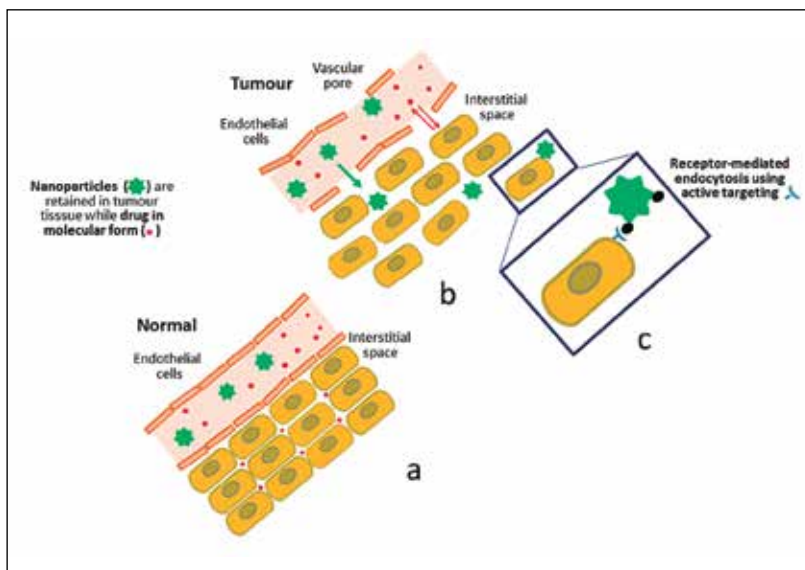


Fig 4a-c - I nanocarrier possono meglio penetrare tumori o regioni infiammate del corpo, a causa delle loro dimensioni che sono tali da permettere l'extravasazione nei tessuti e una ritenzione nel tessuto infiammato (Fig. 4a e 4b). Questo approccio viene anche definito targeting passivo. Una strategia alternativa è la "decorazione" della superficie del nanocarrier con elementi "targeting" per massimizzare il loro accumulo nel sito di interesse (Fig. 4c)

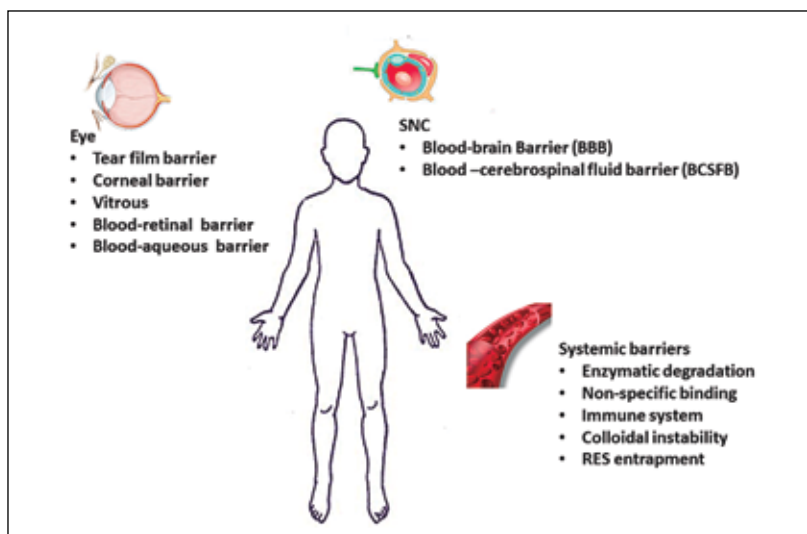


Fig 5 - Se progettati opportunamente, i nanocarriers sono in grado di attraversare le barriere fisiologiche, cioè la barriera sangue-cervello, la barriera fluido cerebrospinale-sangue, la barriera retinica e le altre barriere oculari

suti o organi (Fig. 3).

Se progettati opportunamente, i nanocarriers sono in grado di attraversare le barriere fisiologiche, cioè la barriera ematoencefalica, la barriera ematocerebrospinale o ematoliquorale, la barriera ematoretinica e le altre barriere oculari (Fig. 5). In generale, esistono quattro meccanismi distinti per le molecole che attraversano la membrane della mucosa: attraverso le vie paracellulari e transcellulari, e il trasporto mediato da carrier e mediato dai recettori (Fig. 6). La diversa tipologia di percorso

dipende dalle diverse caratteristiche fisiche, compreso il peso molecolare, l'idrofobicità, la costante di ionizzazione e la stabilità delle molecole. Il passaggio attraverso la pelle avviene mediante la via intracellulare e transcellulare, ma anche tramite le numerose appendici associate, i follicoli piliferi e le ghiandole sudoripare, che formano percorsi attraverso l'epidermide intatta (Fig. 7).

Come sono fatti i nanovettori

Possono essere utilizzati diversi

tipi di nanomateriali per preparare i nanocarriers capaci di essere caricati con farmaci idrofobi o idrofili. Alcuni di questi, le vescicole, sono in grado di caricarsi sia di farmaci idrofili che idrofobici. In generale, i nanocarriers sono classificati come sistemi a base di polimeri e sistemi a base di lipidi (Figura 8). I nanocarriers polimerici sono composti da proteine, polisaccaridi, polimeri semisintetici o sintetici e in genere sono in forma di nanosfere e nanocapsule. Le nanosfere sono sistemi a matrice in cui il farmaco è disperso uniformemente, mentre nelle nanocapsule il farmaco è confinato in una cavità circondata da una membrana polimerica (Figura 8). Le micelle polimeriche sono costituite da copolimeri di blocco che consistono di unità monomeriche idrofobiche e idrofiliche disperse in un mezzo acquoso. Due monomeri con diversa idrofobicità possono essere coniugati per formare una struttura micellare, dove i blocchi idrofili e idrofobi costituiscono rispettivamente il guscio della micella e il core (Figura 8). I nanocarriers di natura lipidica comprendono emulsioni di dimensioni nanometriche, vescicole comprese i liposomi e i niosomi, micelle e nanoparticelle lipidiche, chiamate nanoparticelle solide lipidiche (SLN) e sistemi lipidici nanostrutturati (NLC) (Figura 8). Le vescicole sono caratterizzate da strutture a doppio strato di lipidi e sono adatte a caricare sia composti idrofili che idrofobi. Le micelle possono caricare solamente le molecole lipofile nel nucleo lipidico chiamato core.

ALCUNI ESEMPI PARADIGMATICI DI NANOCARRIERS CARICATI CON COSTITUENTI NATURALI

Nanocarriers

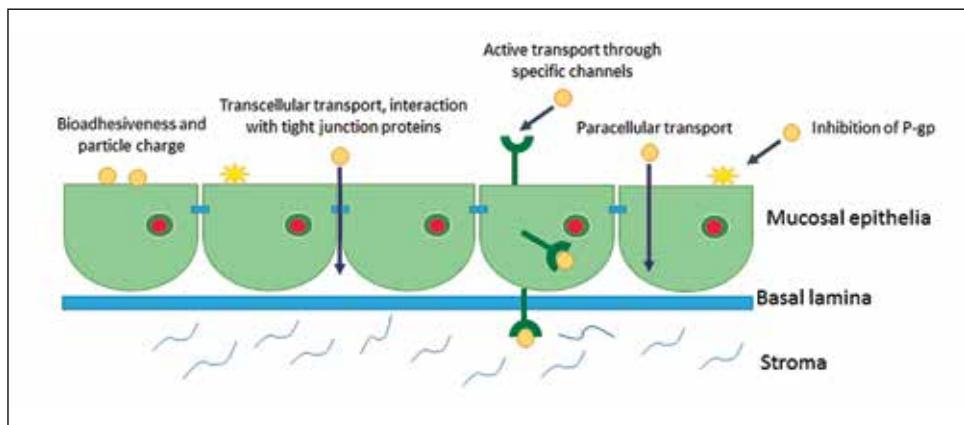


Fig 6 - In generale, esistono quattro meccanismi distinti per le molecole che attraversano la membrana della mucosa: attraverso le vie paracellulari e transcellulari, e il trasporto mediato da carrier e mediato dai recettori

di artemisinina per migliorare la solubilità in acqua, la stabilità e l'efficacia

L'artemisinina (in cinese *qinghaosu*) è un lattone sesquiterpenico unico in natura, ed è stata isolata per la prima volta da Youyou Tu nel 1972 da *Artemisia annua* L. (*qinghao*, Asteraceae). Attualmente questa molecola è considerata un farmaco di elezione in caso di malaria ed è raccomandata dall'OMS in combinazione con altri antimalarici per trattare ceppi resistenti, malaria cerebrale e la malaria nei bambini. Oltre la malaria, l'artemisinina e i suoi derivati esercitano attività significative verso altri protozoi (*Leishmania*, *Trypanosoma*, amebe, *Neospora caninum* e *Eimeria tenella*), trematodi (*Schistosoma*) e virus (citomegalovirus umano, epatite B e C virus). Recentemente, l'artemisinina e i suoi derivati hanno mostrato una interessante attività contro alcune linee cellulari cancerose, numerosi batteri e funghi. Il valore terapeutico dell'artemisinina e analoghi è però limitato a causa della scarsa solubilità della mole-

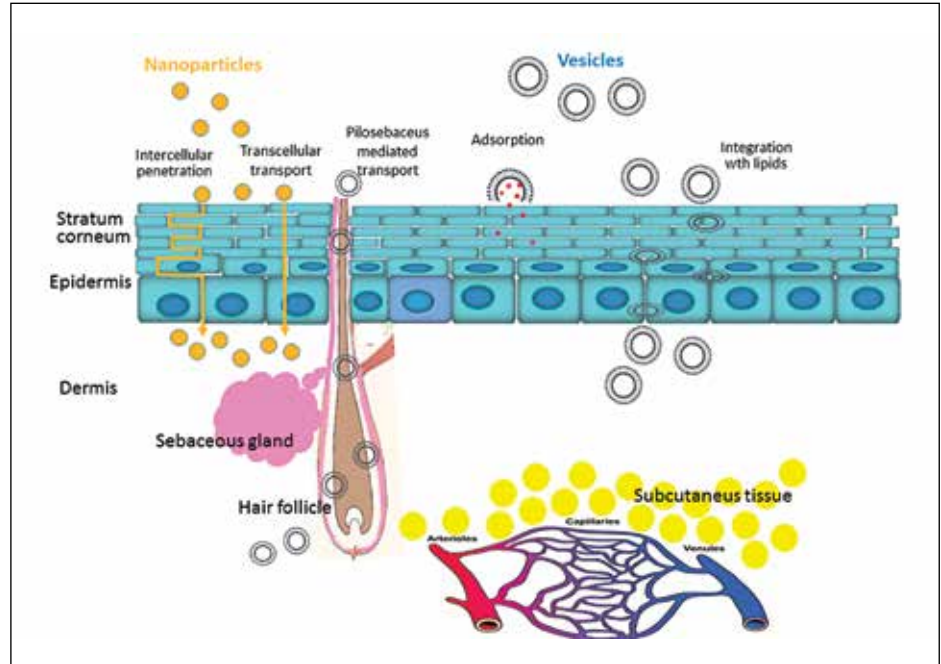


Fig 7 - Il passaggio attraverso la pelle avviene attraverso la via intracellulare e transcellulare, ma anche attraverso le numerose appendici associate, i follicoli piliferi e le ghiandole del sudore, che formano percorsi attraverso l'epidermide intatta

cola sia in acqua sia in olio, una bassa biodisponibilità dopo somministrazione per via orale, il rapido metabolismo a livello del fegato e una breve emivita (circa 2,5 ore). Pertanto, esiste un'urgente ne-

cessità di sviluppare nuove formulazioni che possano aumentare la biodisponibilità, selettività ed efficacia terapeutica.

Uno studio ha mostrato che la formulazione liposomiale di artemisinina decorata con polietilenglicole ha evidenziato un tempo di circolazione sanguigna molto più lungo (ca. 5 volte) rispetto a quella dell'artemisinina libera o artemisinina liposomiale. Formulazioni liposomiali di artemisinina e curcumina hanno presentato proprietà antimalariche molto potenti in topi infettati con *Plasmodium berghei* NK-65. In un ulteriore studio la diidroartemisinina, un metabolita della artemisinina, formulata in liposomi, è stata testata su linee cellulari tumorali MCF-7. I liposomi hanno mostrato una migliore penetrazione cellulare (uptake) e profilo di citotossicità. Nanoliposomi carichi con artemisinina e decorati con transferrina e polietilenglicole sono stati studiati per

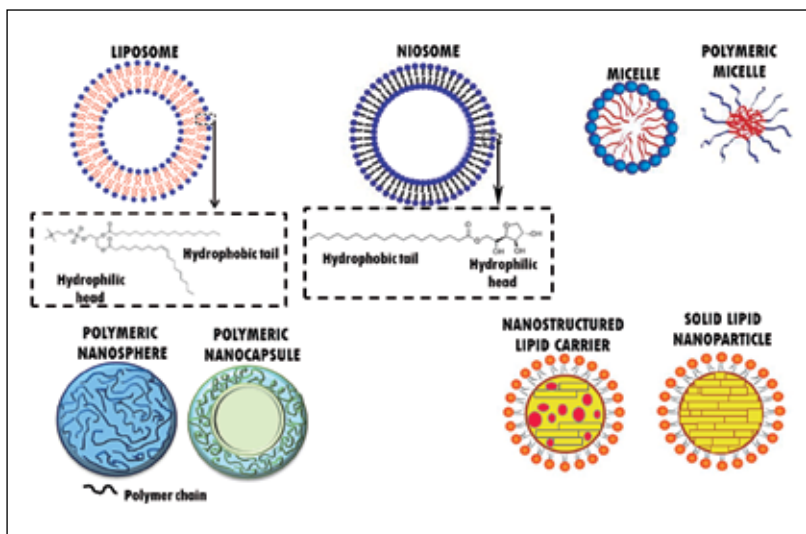


Fig 8 - Le nanosfere sono sistemi a matrice in cui il farmaco è disperso uniformemente, mentre nelle nanocapsule il farmaco è confinato in una cavità circondata da una membrana polimerica.

l'assorbimento cellulare e la citotossicità in linee cellulari HCT-8 che sovraesprimono il recettore della transferrina.

Lo studio ha chiaramente mostrato un miglior assorbimento cellulare e una incrementata citotossicità rispetto all'artemisinina libera, ma anche ai liposomi che non presentavano transferrina sulla superficie.

Nanoparticelle caricate di curcumina incrementano l'efficacia

La curcumina è il principale componente bioattivo del rizoma di curcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae). Isolata nel 1815, la sua struttura chimica, determinata nel 1910 è il diferuloilmetano e possiede numerose attività: antiangiogenica, antiproliferativa, antitumorigenica, antiossidante e antinfiammatoria. Nonostante le proprietà multitargeting in varie condizioni patologiche, la curcumina ha numerose limitazioni per una applicazione terapeutica. Presenta una bassa idrofilia e dissoluzione, elevata instabilità fisica e chimica, rapida metabolizzazione, scarso assorbimento, ridotta biodisponibilità.

Durante l'ultimo decennio, un numero straordinario e sorprendente di nanoformulazioni sono state studiate per migliorare l'uso della curcumina: Nanogel e un numero elevato di nanocarrier lipidici e idrofili, cioè nanoparticelle polimeriche, liposomi, micelle, nanoemulsioni, complessi CD, nanodischi, nanofibre, nanoparticelle solide lipidiche e nanodispersioni solide.

Uno studio ha evidenziato come le nanoparticelle biodegradabili PEGilate e caricate con curcumina migliorino la biodisponibilità della curcumina grazie a un incremento della permeabilità transcellulare nel modello

delle Caco-2. In uno studio farmacocinetico la biodisponibilità orale di curcumina è stata incrementata incorporandola in nanoparticelle solide lipidiche, mentre in un test *in vitro*, il cosiddetto test di permeabilità della membrana artificiale parallela (PAMPA), è stato anche impiegato per valutare la permeazione della curcumina caricata in diversi nanocarriers sviluppati per somministrazione orale. Gli studi sono stati focalizzati su nanoparticelle solide lipidiche impiegando eccipienti GRAS, cioè "Generally Recognised As Safe". La dimensione delle particelle era molto bassa (ca. 300 nm). Un ulteriore approccio per migliorare la solubilità, la stabilità e l'assorbimento orale della curcumina è stata la formulazione di microemulsioni di tipo O/A. Diverse microemulsioni sono state sviluppate e caratterizzate, ottenendo una percentuale di permeazione attraverso la membrana artificiale di circa il 70%. Infine sono state sviluppate nanoparticelle polimeriche (2-40 nm) caricate con curcumina con attività antimicrobica. L'efficacia è stata testata contro *Streptococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Penicillium notatum* e *Aspergillum niger*. L'aumentata solubilità in acqua e le piccole dimensioni delle nanoparticelle di curcumina hanno contribuito in maniera preponderante a una maggiore attività antimicrobica rispetto alla curcumina libera.

Flavonoidi caricati in nanocarrier per migliorare la bioefficacia

I flavonoidi rappresentano la più grande classe di polifenoli, ampiamente distribuiti nei vegetali, soprattutto nelle piante a uso alimentare. Una pletora di

prove supporta i benefici per la salute e il valore dei flavonoidi, che possono svolgere un ruolo nel trattamento delle funzioni fisiologiche e nella prevenzione delle malattie, in particolare di condizioni degenerative tra cui tumori, malattie cardiovascolari e neurodegenerative. Viceversa, vari studi hanno anche dimostrato che i flavonoidi hanno alcuni inconvenienti dopo la somministrazione orale, principalmente bassa stabilità, biodisponibilità e bioefficacia. La scarsa solubilità in acqua e l'inadeguata stabilità gastrica sono i principali fattori limitanti. Un enorme numero di nanoparticelle, nanocapsule, micro e nanoemulsioni, micelle, vescicole, nanoparticelle lipidiche solide e capsule lipidiche nanostrutturate, sono state sviluppate con successo, come recentemente riportato in una review. La maggior parte degli studi riguarda composti isolati e in particolare epigallocatechina gallato, quercetina, rutina, apigenina, baicaleina, puerarina, apigenina ed esperetina, usati principalmente in nanoparticelle biodegradabili (polimeri naturali o sintetici), micelle, vescicole e micro- e nanoemulsioni. I risultati hanno mostrato che i nanocarriers hanno alcuni vantaggi: i flavonoidi sono più stabili, la biodisponibilità è migliore perché è aumentato l'assorbimento da parte degli enterociti. Infine, i sistemi di nanocarriers migliorano il rilascio controllato dei flavonoidi incapsulati. Una recente review si è concentrata sui nanocarriers preparati con sostanze GRAS.

Nanoformulazioni di successo con estratti

Gli estratti sono miscele complesse di costituenti in genere molto attivi in saggi *in vitro*, ma in molti casi l'attività non risul-

ta riproducibile in esperimenti *in vivo*. In alcuni casi, i componenti del fitocomplesso possono essere incompatibili con altri costituenti nella formulazione o hanno proprietà indesiderabili, di conseguenza, sono state tentate diverse strategie nanotecnologiche per migliorare la loro efficacia. I nanosistemi possono aumentare la selettività e l'attività, proteggono contro la degradazione termica o fotodegradazione, riducono gli effetti collaterali, promuovono il rilascio prolungato di componenti attivi o riducono la dose richiesta, con conseguente migliore attività. Alcune recenti revisioni della letteratura hanno messo in evidenza diversi approcci nanotecnologici alla formulazione con estratti come nanoparticelle polimeriche, nanoparticelle solide lipidiche, sistemi a cristalli liquidi, vescicole, nanoemulsioni e microemulsioni, al fine di conferire alla formulazione proprietà più desiderabili. Gli estratti più studiati sono risultati ginseng, tè verde, ginkgo e cardo mariano.

Molto interessanti sono gli studi di nanocarrier basati sul fitocomplesso silimarina per ottimizzare la protezione epatica. *Silybum marianum* L. è infatti impiegato, sin dall'antichità, per curare le malattie del fegato e delle vie biliari, in particolare cirrosi, ittero ed epatite. La silimarina è costituita da flavonolignani, principalmente silibina, isosilibina, silidianina e silichristina. È poco solubile in acqua ed esercita la sua azione epatoprotettiva a una dose orale di 240-800 mg/die in due o tre dosi divise. Quando viene somministrato per via orale, il picco della concentrazione plasmatica è raggiunta in 2-4 h, con emivita di 6 h. Solo il 20-50% di silimarina viene assorbito dal tratto gastrointestinale, dove subisce un'estesa circolazione

enteroepatica. Pertanto, l'assorbimento della silimarina nel tratto gastrointestinale è basso. La scarsa biodisponibilità della silimarina è quindi dovuta a diversi fattori: esteso metabolismo, scarsa solubilità in mezzo acquoso, rapida escrezione attraverso urine e bile e bassa permeabilità nelle cellule epiteliali dell'intestino. Pertanto la silimarina rappresenta un buon candidato per le nanoformulazioni. Nel 2011 è stata pubblicata una interessante revisione della letteratura su varie tecniche per incrementare la biodisponibilità della silimarina, e in particolare l'approccio nanotecnologico. Tra gli studi più recenti si ricorda una formulazione di nanoparticelle solide polimeriche dove la solubilità dei diversi costituenti la silimarina è migliorata di circa 1.300 volte. Inoltre, dopo somministrazione orale di 10 mg/kg nei ratti, le nanoparticelle hanno mostrato un tempo notevolmente più breve per raggiungere il picco della concentrazione. In particolare, le concentrazioni plasmatiche di silimarina in nanoparticelle sono state molto superiori rispetto ad una formulazione convenzionale di silimarina (1,27 e 1,44 volte, rispettivamente, $p < 0,05$). La biodisponibilità orale era aumentata e in maniera proporzionale anche l'efficacia della silimarina sulle cellule epatiche cui era stata indotta una epatotossicità con tetracloruro di carbonio.

Nanocarriers caricati con oli essenziali per ottimizzare l'uso terapeutico

Gli oli essenziali sono miscele complesse di molecole volatili e comprendono terpenoidi, componenti fenolici e costituenti alifatici. Gli oli essenziali presentano un elevato interesse nei settori farmaceutico, sanitario, cosmetico, agricolo e alimentare.

Fin dal Medioevo, gli oli essenziali sono stati ampiamente usati per la loro azione battericida, virucida, fungicida, antiparassitaria, insetticida. In campo medico sono stati anche impiegati come analgesici, sedativi, antinfiammatori, spasmolitici, e anestetici locali. La loro nanoencapsulazione in diverse tipologie di carriers è stata proposta per diminuire la loro volatilità, migliorare la stabilità, la solubilità in acqua e mantenendo l'efficacia terapeutica o addirittura migliorandola. Un aspetto molto interessante di questi composti, riguarda il fatto che l'olio essenziale come tale non può essere usato in dermatologia a causa della sua elevata volatilità e delle elevate proprietà di penetrazione, con conseguenti problematiche di sicurezza per l'alta dose che può essere assorbita anche a livello sistemico. Pertanto l'uso di nanoformulazioni ha oggi assunto un interesse particolare per ottenere formulazioni adeguate alla via di somministrazione e ai dosaggi. Nella letteratura si ritrovano due categorie di nanocarriers: nanoparticelle polimeriche, studiate particolarmente per il significativo miglioramento dell'azione antimicrobica dell'olio essenziale e carriers lipidici, come liposomi, nanoparticelle solide lipidiche, particelle lipidiche nanostrutturate e nanoemulsioni. Una parte notevolmente significativa della letteratura corrente sull'incapsulamento di oli essenziali si occupa di capsule di dimensioni micrometriche, che vengono utilizzate per la protezione dei composti attivi contro fattori ambientali (per esempio, ossigeno, luce, umidità e pH), per diminuire la volatilità dell'olio essenziale e per trasformarlo in polvere. L'incapsulamento nelle particelle nanometriche è un'alternativa per superare questi problemi ma, a

causa delle dimensioni subcellulari possono aumentare i meccanismi di assorbimento cellulare e la bioefficacia, come riportato in una recente review. Tra i diversi studi descritti in letteratura, è interessante quello che ha valutato *in vitro* l'azione antierpetica su ceppi HSV-1 dell'olio essenziale di *Santolina insularis* L., notevolmente più attivo rispetto all'olio non formulato in liposomi. I liposomi hanno anche impedito con successo la degradazione dei costituenti dell'olio. Gli stessi autori hanno anche studiato l'attività antierpetica dell'olio essenziale di *Artemisia arborescens* L. caricato in liposomi. La formulazione liposomiale anche in questo caso ha migliorato la attività antierpetica e inoltre è stato dimostrato che, dopo un anno di stoccaggio, la conservazione dell'olio era ancora buona, anche se era presente in minima parte una fusione di vescicole. In un ulteriore studio, sono state preparate le nanoparticelle solide lipidiche caricate con olio essenziale di *A. arborescens*, dopo test *in vitro* è stato confermata un'elevata attività erpetica. In un ulteriore studio *in vitro*, diversi esperimenti di permeazione hanno mostrato un passaggio lento e costante dell'olio attraverso la pelle, evidenziando un possibile impiego topico della nanoformulazione. Gli studi di nanotecnologie sono stati anche condotti su incenso e mirra, due gommoresine ottenute rispettivamente dai generi *Boswellia* e *Commiphora*. Moderni studi farmacologici hanno infatti rivelato che gli oli essenziali di incenso e mirra presentano un ampio spettro di attività biologiche, principalmente antimicrobiche, antinfiammatorie e antitumorali. Come per altri oli essenziali, l'instabilità e la scarsa idrosolubilità provocano scarsa biodisponibilità orale, che

ne limita la loro applicazione clinica. I componenti degli oli essenziali d'incenso e di mirra sono molto sensibili alla luce, all'aria, all'alta temperatura e stimolano il tratto gastrointestinale, rendendo questi oli inadatti per la somministrazione orale. Un recente studio ha riportato come le nanoparticelle solide lipidiche siano ottimali nelle formulazioni orali di incenso e mirra ottimizzando la stabilità dei costituenti e il loro assorbimento.

*** UNIVERSITÀ DI FIRENZE;**
Presidente della Società Italiana di Fitochimica e delle Scienze delle Piante Medicinali, Alimentari e da Profumo

**** UNIVERSITÀ DI FIRENZE**
Dipartimento di Chimica

Photo credit:
Planta Med. 2017 Mar;83(5):366-381.
doi: 10.1055/s-0043-102949. Epub 2017 Feb 8

Bibliografia

Alexander A, Ajazuddin. Patel RJ, Saraf S, Saraf S. Recent expansion of pharmaceutical nanotechnologies and targeting strategies in the field of phytopharmaceuticals for the delivery of herbal extracts and bioactives. *J Control Release* 2016; 241: 110-124

Bergonzi MC, Hamdouch R, Mazzacava F, Isacchi B, Bilia AR. Optimization, characterization and *in vitro* evaluation of curcumin microemulsions. *LWT-Food Sci Technol* 2014; 59: 148-155

Bilia AR, Isacchi B, Righeschi C, Guccione C, Bergonzi MC. Flavonoids loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy. *Food Nutr Sci* 2014; 5: 1212-1227

Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 2014: 651593

Bilia AR, Piazzini V, Guccione C, Risaliti L, Asprea M, Capecechi G, Bergonzi MC. Improving on Nature: The Role of Nanomedicine in the Development of Clinical

Natural Drugs. *Planta Med* 2017; 83(05): 366-381

Bonifácio BV, Silva PB, Ramos MA, Negri KM, Bauab TM, Chorilli M. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 1-15

Cameron A, Ewen M, Auton M, Abegunde D. WHO (World Health Organization): The world medicines situation 2011: Medicines prices, availability and affordability. Geneva, Switzerland. Available at: http://www.who.int/medicines/areas/policy/world_medicines_situation/WMS_ch6_wPricing_v6.pdf Accessed September 3, 2016

Couvreur P, Vauthier C. Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease. *Pharm Res* 2006; 23: 1417-1450

Committee for proprietary medicinal products (CPMP). Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf Accessed October 3, 2017

Efferth T, Romero MR, Bilia AR, Osman AG, ElSohly M, Wink M, Bauer R, Khan I, Bergonzi MC, Marin JJG. Expanding the therapeutic spectrum of artemisinin: activity against infectious diseases beyond malaria and novel pharmaceutical developments. *World J Tradit Chin Med* 2016; 2: 1-23

Isacchi B, Arrigucci S, la Marea G, Bergonzi MC, Vannucchi MG, Novelli A, Bilia AR. Conventional and long-circulating liposomes of artemisinin: preparation, characterization, and pharmacokinetic profile in mice. *J Liposome Res* 2011; 21: 237-244

Isacchi B, Bergonzi MC, Grazioso M, Righeschi C, Pietretti A, Severini C, Bilia AR. Artemisinin and artemisinin plus curcumin liposomal formulations: enhanced antimalarial efficacy against Plasmodium berghei-infected mice. *Eur J Pharm Biopharm* 2012; 80: 528-534

Jabr-Milane LS, van Vlerken LE, Yadav S, Amiji MM. Multi-functional nanocarriers to overcome tumor drug resistance. *Cancer Treat Rev* 2008; 34: 592-602

Jaggi M, Chauhan SC. Therapeutic applications of curcumin nanoformulations. *AAPS J* 2015; 17: 1341-1356

Javed S, Kohli K, Ali M. Reassessing bioavailability of silymarin. *Altern Med Rev* 2011; 16: 239-249

Kakkar V, Singh S, Singla D, Kaur IP. Exploring solid lipid nanoparticles to enhance the oral bioavailability of curcumin. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 495-503

Lai F, Sinico C, De Logu A, Zaru M, Müller

RH, Fadda AM. SLN as a topical delivery system for *Artemisia arborescens* essential oil: *in vitro* antiviral activity and skin permeation study. *Int J Nanomedicine* 2007; 2: 419-425

Leto I, Coronello M, Righeschi C, Bergonzi MC, Mini E, Bilia AR. Enhanced efficacy of artemisinin loaded in transferrin-conjugated liposomes versus stealth liposomes against HCT-8 colon cancer cells. *ChemMedChem* 2016; 11: 1745-1751

Lu JJ, Pan W, Hu YJ, Wang YT. Multi-target drugs: the trend of drug research and development. *PLoS One* 2012; 7: e40262

Mehta P, Shah R, Lohidasan S, Mahadik KR. Pharmacokinetic profile of phytoconstituent (s) isolated from medicinal plants – A comprehensive review. *J Tradit Complement Med* 2015; 5: 207-227

Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *Eur J Pharm Sci* 2003; 18: 113-120

Möschwitzer JP. Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development

process. *Int J Pharm* 2013; 453: 142-156
Righeschi C, Coronello M, Mastrantonio A, Isacchi B, Bergonzi MC, Mini E, Bilia AR. Strategy to provide a useful solution to effective delivery of dihydroartemisinin: development, characterization and *in vitro* studies of liposomal formulations. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2014; 116: 121-127

Righeschi C, Bergonzi MC, Isacchi B, Bazicalupi C, Gratteri P, Bilia AR. Enhanced curcumin permeability by SLN formulation: The PAMPA approach. *LWT-Food Sci Technol* 2016; 66: 475-483

Tahmasebi Mirgani M, Isacchi B, Sadeghizadeh M, Marra F, Bilia AR, Mowla SJ, Najafi F, Babaei E. Dendrosomal curcumin nanoformulation downregulates pluripotency genes via miR-145 activation in U87MG glioblastoma cells. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 403-417
Yallapu MM, Nagesh PK, Shi F, Zhao JH, Liu Y, Wang Z, Zhang YT, Feng NP. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with frankincense and myrrh oil. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 2033-2043

Sinico C, De Logu A, Lai F, Valenti D, Mancini M, Loy G, Bonsignore L, Fadda AM. Liposomal incorporation of *Artemisia arborescens* L. essential oil and antiviral activity. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; 59: 161-168

Yang KY, Hwang du H, Yousaf AM, Kim DW, Shin YJ, Bae ON, Kim YI, Kim JO, Yong CS, Choi HG. Silymarin-loaded solid nanoparticles provide excellent hepatic protection: physicochemical characterization and *in vivo* evaluation. *Int J Nanomedicine* 2013; 8: 3333-3343

Valenti D, De Logu A, Loy G, Sinico C, Bonsignore L, Cottiglia F, Garau D, Fadda AM. Liposome-incorporated Santolina insularis essential oil: preparation, characterization and *in vitro* antiviral activity. *J Liposome Res* 2001; 11: 73-90

Wu CY, Benet LZ. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharm Res* 2005; 22: 11-23



Foto di Jim

Nonostante le proprietà multitargeting in varie condizioni patologiche, la curcumina ha numerose limitazioni per una applicazione terapeutica.