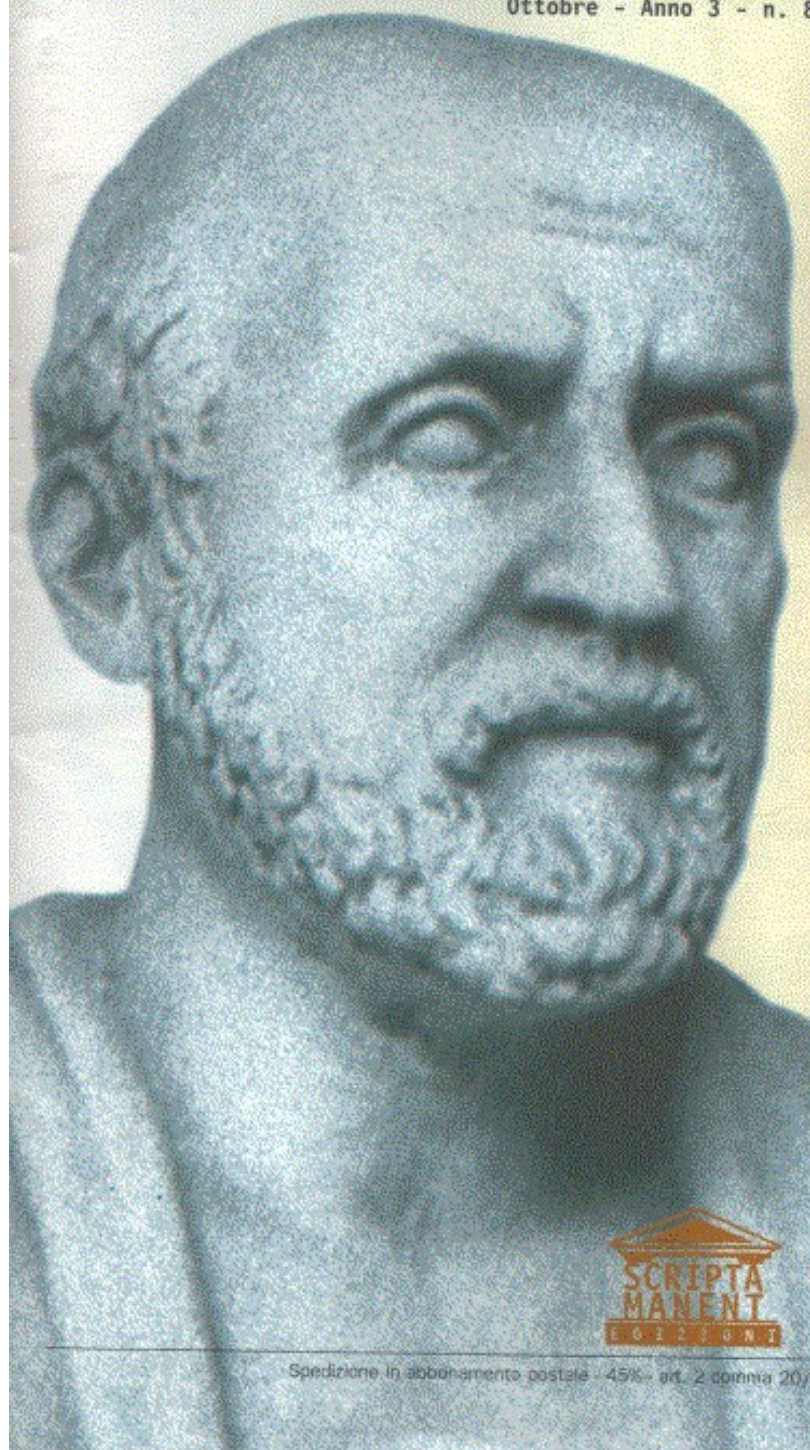


Scripta MEDICA

MENSILE DI AGGIORNAMENTO PROFESSIONALE

Ottobre - Anno 3 - n. 8 - 2000



Gli antibiotici nel trattamento delle riacutizzazioni della bronchite cronica: una revisione degli studi clinici controllati

Francesco Blasi, Marinella Alessi

Orticaria cronica: raccomandazioni per la diagnosi

Aldo Finzi, Carsten Bindslev-Jensen, Malcolm Greaves, Jose Camarasa, Jean-Paul Ortonne, Erwin Schöpf, Dominique Yennstedt

I rischi del tabacco

Tobacco Control Resource Centre

I nuovi farmaci per l'attacco emicranico

Innocenzo Rainero

Grassi alimentari, dieta mediterranea e salute

2000 Consensus Statement

TESI

Estratti etnobotanici di potenziale interesse medico: pruritorina e uncaria

Caterina Vivani, Lamberto Re

POSTER

Ictus cerebrale ischemico: utilità della terapia antiossidante

Sandro Cecconi, Alessandro Cecconi

STUDIO CLINICO

Trattamento dei pazienti ipertesi con cardiopatia coronarica

Pietro Cazzola



Spedizione in abbonamento postale - 45% - art. 2 comma 20/b legge 662/96 - Filiale di Milano



Estratti etnobotanici di potenziale interesse medico: pruruptorina e uncaria

Caterina Vivani*, Lamberto Re**

Introduzione

La riscoperta di estratti vegetali potenzialmente utili in campo medico e recentemente discussa in un interessante lavoro apparso su *Le Scienze* (1), impone la necessità di studiare adeguati protocolli, sia di base che clinici, atti a delineare i meccanismi funzionali e la reale efficacia clinica di tali presidi naturali. Le sostanze di origine vegetale da noi studiate sono la Pruruptorina e la Uncaria tomentosa. Si tratta di estratti etnobotanici di notevole interesse medico anche per la loro potenziale attività calcio-antagonista che potrebbe essere alla base delle supposte proprietà terapeutiche.

La Pruruptorina è un composto benzopiranic estratto dalle radici di *Peucedanum praeruptorum*, una pianta appartenente alla Famiglia delle Umbelliferae (Figura 1); i composti estratti dalle radici di questa pianta sono usati ancora oggi, soprattutto come fonte di medicamento nella Tradizionale Medicina Cinese, per combattere disturbi alimentari, bronchiali e per il dolore al torace.

Il secondo prodotto studiato è l'estratto totale di *Uncaria tomentosa*, una pianta legnosa (Figura 2)



Figura 1.
Tipico fiore delle Umbelliferae con cinque petali, alternati a cinque stami e due pistilli, dei quali non si vede l'ovario perché infero.

Figura 2.
Corteccia di *Uncaria tomentosa*.



appartenente alla famiglia delle Rubiaceae e tipica della foresta Amazzonica, volgarmente denominata "uña de gato" (cat's claw) e che ha mostrato un particolare interesse farmacologico, tanto che nel 1994 la World Health Organization ha assegnato a questa pianta il riconoscimento ufficiale di pianta medicinale.

L'estratto di Uncaria contiene:

- Alcaloidi ossindolici pentaciclici (pteropodina, isopteropodina, mitrafillina ecc.);
- Alcaloidi ossindolici tetraciclici (rincofillina, isorincofillina ecc);
- Triterpeni (glucosidi dell'acido quinovico);
- Altri costituenti (betasitosterolo, campesterolo, stigmasterolo, catechine).

Nel nostro lavoro sperimentale abbiamo utilizzato l'estratto totale di Uncaria, che contiene una miscela dei prodotti sopracitati, e il costituente prevalente dell'estratto di *Peucedanum praeruptorum* e cioè la Pruruptorina.

Materiali e metodi

Il metodo utilizzato è stato quello del *Loose Patch Clamp* (2). Questa tecnica elettrofisiologica permette la registrazione extracellulare di macrocorrenti ioniche generate dall'attivazione sia di canali ionici voltaggio-dipendenti,

*Biologa tirocinante Clinica Urologica,
**Ricercatore Cattedra di Farmacologia,
Istituto di Patologia dell'Apparato Urinario,
direttore Prof. Giovanni Muzzonigro,
Facoltà di Medicina e Chirurgia,
Università degli Studi di Ancona.

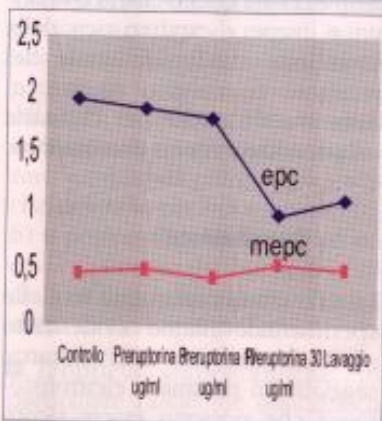
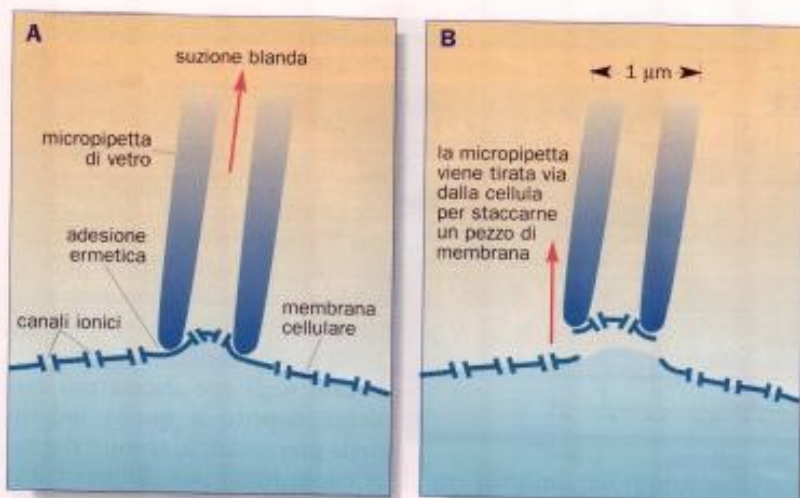


Figura 3. Tecnica di registrazione a Patch Clamp. Si possono fare registrazioni della corrente attraverso questi canali con il patch ancora attaccato al resto della cellula (A), oppure staccato (B). In quest'ultimo caso si ha il vantaggio di poter alterare la composizione della soluzione su entrambi i lati della membrana per controllare l'effetto dei vari soluti sul comportamento dei canali.

Figura 4. Il grafico mostra come l'aumento della concentrazione di Preruptorina provochi un efficace riduzione dell'attività evocata.

piezza delle correnti di placca spontanee (mepc) ed evocate da impulso nervoso (epc), la frequenza di liberazione dei mepc (f) oltre alla cinetica del tempo di chiusura dei canali ionici mediante la valutazione del decadimento temporale dei mepc (τ).

Risultati

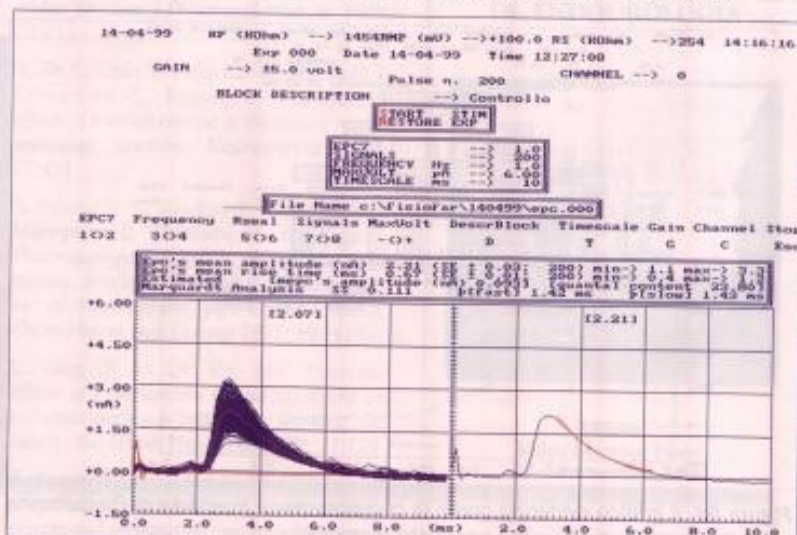
I risultati ottenuti hanno dimostrato un effetto diversificato per i due estratti. In Figura 4 sono mostrati gli effetti indotti dalla Preruptorina sulle ampiezze degli epc e dei mepc. Come si può notare, l'estratto induce una marcata riduzione dell'ampiezza dei segnali evocati senza alterare l'ampiezza dei potenziali in miniatura (valori in ordinata, nA).

Nelle Figure seguenti (Fig. 5 a, b, c, d) sono mostrati alcuni esempi di epc e mepc. Il dato cinetico, valutato analizzando il decadimento del mepc (Figure 5c e 5d), non è modificato dalla Preruptorina, indicando un prevalente effetto presinaptico.

Figura 5a. Esempio di epc nel controllo, cioè in assenza di Preruptorina.

che di recettori che operano con un meccanismo di trasduzione tipo canale ionico. Si tratta di una variante della tecnica del Patch Clamp mediante la quale è possibile analizzare i parametri caratteristici del recettore colinergico nicotinico della placca neuromuscolare e l'eventuale modulazione da parte di agenti farmacologici del rilascio, sia spontaneo che evocato, del mediatore acetilcolina (ACh).

Il metodo di registrazione elettrofisiologica è stato ampiamente illustrato in precedenti lavori (3, 4) e schematizzato in Figura 3. I dati analizzati sono stati l'am-



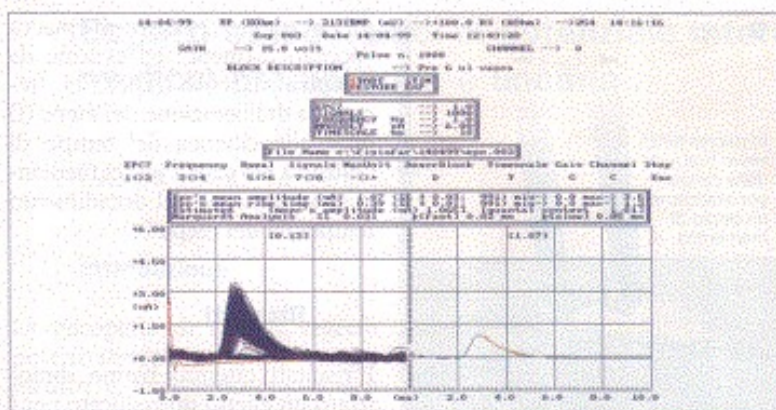


Figura 5b. Esempio di epc in presenza di pruruptorina.

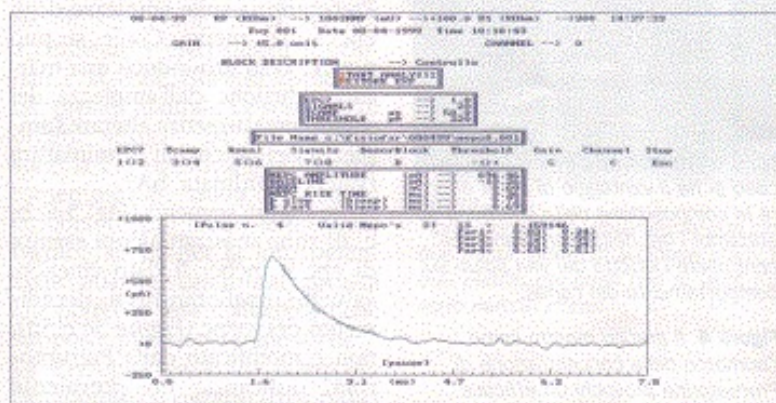


Figura 5c. Il grafico mostra l'analisi bi esponenziale del decadimento caratteristico della variazione conformazionale del recettore colinergico nicotinico nel controllo.

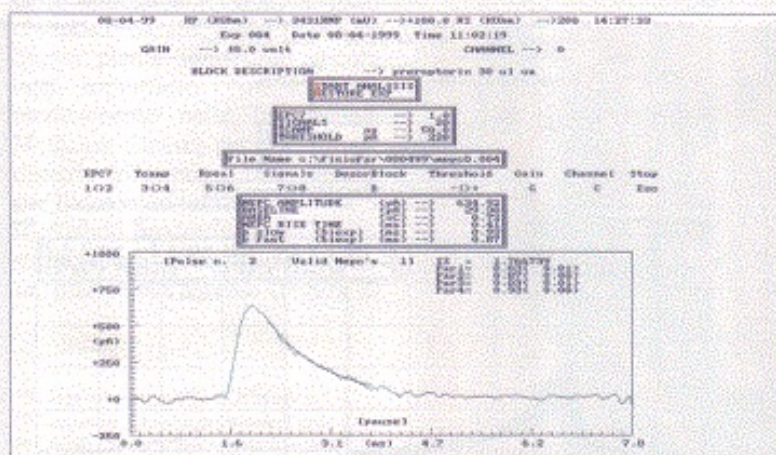


Figura 5d. Il grafico evidenzia come la concentrazione massima di Pruruptorina non alteri significativamente i parametri temporali.

La tabella che segue (Tabella 1) riporta i valori medi dei parametri valutati ottenuti nei controlli e nei rispettivi trattamenti con Uncaria espressi in nA (epc e mepc), msec (τ) e Hz (f). Le medie dei valori sperimentali riportati, così come quelli della Pruruptorina, risultano significative con $p < 0,05$ mediante l'analisi del test *t* di Student.

Dalla tabella si nota un effetto inibitorio sugli epc ancora più evidente rispetto a quello indotto dalla pruruptorina, mentre rimangono costanti sia il parametro ampiezza sia quello cinetico relativo ai mepc e caratteristico della variazione conformazionale del recettore colinergico nicotinico, dimostrando anche per l'Uncaria un prevalente effetto presinaptico.

Conclusioni

I dati ottenuti con questo modello sperimentale hanno evidenziato effetti diversificati delle sostanze saggiate sui parametri elettrofisiologici che possono essere ricondotti a due fenomeni differenti:

- effetto calcio-bloccante presinaptico;
- effetto sui canali voltaggio dipendenti a livello presinaptico.

La riduzione del rilascio evocato di ACh e l'assenza di effetti sulla cinetica della variazione conformazionale del recettore colinergico sono indicativi dell'assenza di qualsiasi interferenza nel compartimento postsinaptico. Inoltre, la costanza del potenziale d'azione dimostra l'assenza di eventuali effetti anestetico locali confortando l'ipotesi di una interferenza con l'ingresso voltaggio dipendente del calcio a livello presinaptico.



	Epc (nA)	Mepc (nA)	t (ms)	f (Hz)
Controllo	1,76	0,13	0,78	2,92
Uncaria 15 mg/ml	1,56	0,1	0,88	6,74
Uncaria 45 mg/ml	1,03	0,12	0,89	/
Uncaria 150 mg/ml	0,3	0,15	0,99	39,77
Lavaggio	0,57	0,11	0,86	29,72

Tabella 1. Valori medi dei parametri valutati ottenuti nei controlli e nei rispettivi trattamenti con Uncaria

In conclusione, sia per la Preruptorina che per la Uncaria, possiamo parlare di estratti naturali dotati di attività calcio-antagonista.

Alla luce di questi primi risultati sperimentali è interessante analizzare le proprietà clinico-terapeutiche descritte per i due estratti (5, 6) e potenzialmente legate ad un coinvolgimento dei canali del calcio a voltaggio dipendenti. Tra gli effetti di cui sopra ricordiamo:

- Proprietà antileucemiche: in particolare l'alcaloide ossindolico stimola il sistema immunitario aumentando l'attività linfocitaria (7); quindi potrebbe potenzialmente essere utilizzato nel trattamento di malattie, come il cancro e AIDS, che portano ad una deficienza immunitaria;
- Proprietà antiinfiammatorie: alcuni costituenti trovati nella pianta possono inibire l'infiammazione dal 46% al 69% sia in vivo che in vitro (8);
- Proprietà antiipertensive (9) legato all'effetto calcio bloccante;
- Proprietà antiossidanti o scavenger (10).

I dati del presente lavoro, ancorchè preliminari, pongono serie

basi per studi più approfonditi nel campo del potenziale terapeutico di farmaci a derivazione etnobotanica.

Bibliografia

1. Cox PA, Balick MJ. The ethnobotanical approach to drug discovery. *Sci Am* 1994; 270(6): 82
2. Stuhmer W, Roberts WM, Almers W. The loose patch clamp. In: Sakmann B, Neher E editors. *Single Channel Recording*. New York: Plenum Press: Chapter 8, 1993.
3. Re L, Giusti P, Conzettoni C, Di Sarra B. Computerized estimation of spontaneous and evoked acetylcholine release at the neuromuscular junction. *J Pharmacol Methods* 1989; 22:233
4. Re L, Cola V, Fulgenzi G, Marinelli F, Conzettoni C, Rossini L. Post-synaptic effects of methocramine at the mouse neuromuscular junction. *Neuroscience* 1993; 57:451
5. Takeuchi N, Kasama T, Aida Y, Oki J, Maruyama I, Watanabe K, Tobinaga S. Pharmacological activities of the prenylcoumarins, developed from folk usage as medicine of *Peucedanum japonicum* THUNB. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1991; 39:1415
6. Yang JR, Li QP, Rao MR. Protective effects of Preruptorin C and nifedipine on ischemia-perfused injury in working rat hearts. *Yao Hsueh Hsueh Pao* 1992; 27:729
7. Keplinger K. Oxindole Alkaloids having proprieties stimulating the immunologic system and preparation containing the same.

United States Patent 1989; 4:844

8. Aquino R. Plant metabolites. New compounds and anti-inflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *J Nat Prod* 1991; 54:453
9. Horie S, Yano S, Aimi N, Sakai S, Watanabe K. Effects of hirsutine, an antihypertensive indole alkaloid from *Uncaria rhynchophylla*, on intracellular calcium in rat thoracic aorta. *Life Sci* 1992; 50:491
10. Liu J, Mori A. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. and *Uncaria rhynchophylla*. *Neuropharmacology* 1992; 31:1287.

1° CONGRESSO DELLA ASSOCIAZIONE ITALIANA DI ENDOUROLOGIA



Milano
Milan Marriott Hotel
22-24 novembre 2000