



*Dipartimento del Farmaco
Istituto Superiore di Sanità*



SmartDrugs

Terza edizione



Presidenza del Consiglio dei Ministri
DIPARTIMENTO DELLA GIOVENTÙ E DEL SERVIZIO CIVILE NAZIONALE

Il progetto è stato realizzato con il supporto tecnico e logistico del Comando Carabinieri per la tutela della salute (NAS) nelle fasi di pianificazione delle verifiche e di individuazione degli Smart Shop, dei siti internet e nel reperimento delle sostanze da analizzare.

Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping
Osservatorio Fumo Alcol e Droga
Dipartimento del Farmaco
Istituto Superiore di Sanità
Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
Tel. 06 49902909
Fax 06 49902016
E-mail: osservatorio.fad@iss.it

Volume realizzato grazie al finanziamento concesso
dalla Presidenza del Consiglio dei Ministri
Dipartimento della Gioventù e del Servizio Civile Nazionale
a valere sul Fondo per le Politiche giovanili - anno 2011

SmartDrugs

Terza edizione

Simona Pichini e Roberta Pacifici

con

Emilia Marchei, Ilaria Palmi, Manuela Pellegrini, Maria Concetta Rotolo

Dipartimento del Farmaco - Osservatorio Fumo Alcol e Droga
Istituto Superiore di Sanità - Roma

**Gen. D. Cosimo Piccinno, Magg. Pietro Della Porta,
Cap. Francesco Saggio, Cap. Dario Praturlon**

Comando Carabinieri per la tutela della salute (NAS)
Ufficio Comando - Sezione Operazioni
Reparto Analisi

Gruppo di lavoro dell'Osservatorio Fumo Alcol e Droga

Antonella Bacosi, Simonetta Di Carlo, Rita di Giovannandrea, Patrizia Gori,
Silvia Graziano, Laura Martucci, Luisa Mastrobattista, Adele Minutillo, Claudia Mortali,
Giulia Scaravelli, Renata Solimini, Roberta Spoletini, Giacomo Toth

Si ringraziano

Rosanna Cammarano, Alessandra Ceccarini, Italo Gentilini, Scilla Pizzarelli
del "Settore Documentazione" dell'Istituto Superiore di Sanità

Indice

| | |
|--|----------|
| Prefazione | pag. 9 |
| Presentazione | pag. 11 |
| Introduzione | pag. 13 |
| 1 “Smart Drugs” di origine vegetale | |
| 1.1 <i>Acorus calamus</i> | pag. 17 |
| 1.2 <i>Amanita muscaria</i> | pag. 23 |
| 1.3 <i>Anadenanthera peregrina</i> | pag. 27 |
| 1.4 <i>Areca catechu</i> | pag. 33 |
| 1.5 <i>Argemone mexicana</i> | pag. 38 |
| 1.6 <i>Argyreia nervosa</i> | pag. 45 |
| 1.7 <i>Artemisia absinthium</i> | pag. 50 |
| 1.8 <i>Ayahuasca</i> | pag. 56 |
| 1.9 <i>Brugmansia arborea</i> | pag. 60 |
| 1.10 <i>Calea zacatechichi</i> | pag. 63 |
| 1.11 <i>Citrus aurantium</i> | pag. 65 |
| 1.12 <i>Datura stramonium</i> | pag. 70 |
| 1.13 <i>Ephedra sinica</i> | pag. 75 |
| 1.14 <i>Eurycoma longifolia</i> | pag. 80 |
| 1.15 <i>Heimia salicifolia</i> | pag. 88 |
| 1.16 <i>Hydrangea</i> | pag. 94 |
| 1.17 <i>Ipomoea violacea</i> | pag. 100 |
| 1.18 <i>Lactuca virosa</i> | pag. 103 |
| 1.19 <i>Mimosa hostilis</i> | pag. 106 |
| 1.20 <i>Mitragyna speciosa</i> | pag. 108 |
| 1.21 <i>Muirea puama</i> | pag. 113 |
| 1.22 <i>Pausinystalia yohimbe</i> | pag. 115 |

| | | |
|------|----------------------------------|----------|
| 1.23 | Piper methysticum | pag. 119 |
| 1.24 | Radula marginata | pag. 124 |
| 1.25 | Rivea corymbosa | pag. 126 |
| 1.26 | Salvia divinorum | pag. 129 |
| 1.27 | Sceletium tortuosum | pag. 133 |
| 1.28 | Sida cordifolia | pag. 137 |
| 1.29 | Tribulus terrestris | pag. 141 |
| 1.30 | I Cactus del genere Trichocereus | pag. 144 |
| 1.31 | Turnera aphrodisiaca | pag. 148 |
| 1.32 | Voacanga africana | pag. 153 |
| 1.33 | Withania somnifera | pag. 160 |

2 Cannabinoidi sintetici

| | | |
|-------|-------------------------|----------|
| 2.1 | Introduzione | pag. 173 |
| 2.2 | Naftoilindoli | pag. 176 |
| 2.2.1 | JWH-022 | pag. 176 |
| 2.2.2 | JWH-122 e suoi analoghi | pag. 179 |
| 2.2.3 | AM-2201 e suo analogo | pag. 189 |
| 2.3 | Aminoalchilindoli | pag. 193 |
| 2.3.1 | JWH-200 | pag. 193 |
| 2.4 | Naftoilpirroli | pag. 195 |
| 2.4.1 | JWH-307 | pag. 195 |
| 2.5 | Benzoilindoli | pag. 198 |
| 2.5.1 | AM-694 e suoi analoghi | pag. 198 |
| 2.5.2 | AM-2233 | pag. 205 |
| 2.5.3 | RCS-4 | pag. 208 |
| 2.6 | Ciclopropilindolchetoni | pag. 211 |
| 2.6.1 | UR-144 | pag. 211 |

3 Catinoni sintetici

| | | |
|------|-------------------------|----------|
| 3.1 | Introduzione | pag. 215 |
| 3.2 | Catha edulis | pag. 217 |
| 3.3 | Mefedrone | pag. 222 |
| 3.4 | 4-metilecatinone | pag. 226 |
| 3.5 | Efedrone | pag. 229 |
| 3.6 | Metilendiossirovalerone | pag. 233 |
| 3.7 | Butilone | pag. 237 |
| 3.8 | Metilone | pag. 242 |
| 3.9 | Bufedrone | pag. 245 |
| 3.10 | Pentedrone | pag. 248 |

4 Designer Drugs

| | | |
|-----|--|----------|
| 4.1 | Introduzione | pag. 253 |
| 4.2 | Dimetilamilamina | pag. 256 |
| 4.3 | Metossietamina | pag. 261 |
| 4.4 | (2-aminopropil)benzofurani: 6, 5 e 4-APB | pag. 265 |
| 4.5 | 4-Fluoroamfetamina | pag. 270 |
| 4.6 | Metaclorofenilpiperazina | pag. 273 |
| 4.7 | Benzilpiperazina | pag. 277 |

5 Potenzianti delle performance sessuali

| | | |
|-------|---|----------|
| 5.1 | Introduzione | pag. 283 |
| 5.2 | Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil | pag. 285 |
| 5.3 | Analoghi del Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil | pag. 292 |
| 5.3.1 | Tioanaloghi del Sildenafil | pag. 292 |
| 5.3.2 | Altri analoghi del Sildenafil | pag. 294 |
| 5.3.3 | Analoghi del Vardenafil | pag. 296 |
| 5.3.4 | Analoghi del Tadalafil | pag. 298 |

6

Bevande Energetiche

| | | |
|------|-----------------------|----------|
| 6.1 | Introduzione | pag. 305 |
| 6.2 | Caffeina | pag. 311 |
| 6.3 | Teofillina | pag. 318 |
| 6.4 | Teobromina | pag. 322 |
| 6.5 | Taurina | pag. 324 |
| 6.6 | Carnitina | pag. 328 |
| 6.7 | Glucuronolattone | pag. 331 |
| 6.8 | Vitamine del gruppo B | pag. 334 |
| 6.9 | Ginkgo biloba | pag. 339 |
| 6.10 | Paullinia cupana | pag. 347 |
| 6.11 | Panax quinquefolius | pag. 352 |

Prefazione

L'universo giovanile è in continua evoluzione e, come tale, anche la manifestazione delle problematiche che i ragazzi vivono cambia repentinamente ed inaspettatamente.

Per le istituzioni e, in particolare, per il Dipartimento della Gioventù e del Servizio civile nazionale che ha come *mission* quella di occuparsi dei giovani e delle politiche che trasversalmente li interessano, risulta di fondamentale importanza studiare quei fenomeni che pongono a serio rischio il loro sviluppo e la loro crescita e possono comprometterne la salute fisica e psicologica.

Nella nostra società in cui è ormai evidente che gli adolescenti rappresentano una delle fasce più a rischio, a maggior ragione se appartenenti a realtà sociali e territoriali più svantaggiate e con problematiche legate all'esclusione sociale, risulta fondamentale predisporre un sistema di protezione efficace.

In quest'ottica, diviene prioritario, da una parte conoscere approfonditamente i rischi correlati al consumo di sostanze più o meno legali che i nostri giovani trovano facilmente negli ambienti che frequentano, dall'altra individuare interventi di contrasto al disagio giovanile che prevengano la diffusione di fenomeni quali il consumo di sostanze stupefacenti e l'abuso di alcool.

Per questo motivo, il Dipartimento della Gioventù e del Servizio civile nazionale, che ho il piacere di coordinare, intende promuovere lo studio e la ricerca sulle "Smart Drugs"; il fine non è soltanto quello, seppur importante, di offrire agli adulti di riferimento, come gli educatori ed i familiari, gli strumenti necessari per essere consapevoli ed informati sui rischi che i nostri giovani incontrano quotidianamente, ma anche e soprattutto stimolare i giovani stessi a "recitare" una parte attiva per contrastare la cultura dello "sballo" e degli stati d'animo artificiali.

Il duplice obiettivo che si intende raggiungere è, quindi, quello di informare i ragazzi sui rischi derivanti dall'uso di queste sostanze, che spesso hanno forme ed effetti accattivanti, ma anche di lavorare sulla loro crescita personale e sulla promozione di stili di vita salutari.

La conoscenza è senz'altro importante per promuovere la consapevolezza delle azioni e dei comportamenti ma, altrettanto vitale risulta essere un intervento preventivo che intercetti le problematiche nel momento in cui si manifestano, fermando, per tempo, comportamenti lesivi e dannosi per se stessi e per gli altri.

Questo è il motivo per cui il Dipartimento, in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità, ha realizzato questa pubblicazione, ormai giunta alla terza edizione, perché, riprendendo una frase di Papa Francesco, "*non abbiamo mai avuto più informazioni di adesso, ma continuiamo a non sapere che cosa succede*". Le istituzioni, invece, devono scoprirlo ed intervenire.

*Il Capo del Dipartimento della Gioventù
e del Servizio civile nazionale
Cons. Calogero Mauceri*

Presentazione

Il termine “Smart Drugs” (“droghe furbe”) appare nella letteratura scientifica negli anni ‘90 del ventesimo secolo per indicare tutti quei composti di origine naturale o sintetica in grado di agire sulle “performance” generali dell’individuo. Mentre alcune di queste sostanze sono semplici integratori dietetici, miscele di vitamine, oligoelementi, aminoacidi, altre possiedono presunte o accertate proprietà psicoattive. Il determinante comune di tutte le “Smart Drugs” è in ogni caso la libera vendita e la mancanza di informazioni scientifiche per quanto riguarda il potenziale di abuso di queste sostanze con caratteristiche tali da essere incluse nell’elenco delle sostanze stupefacenti soggette a controllo (DPR 309/90) e quindi includerle nelle leggi vigenti sugli stupefacenti.

Negli anni successivi, una serie di studi ha chiarito che tra le “Smart Drugs”, la maggior parte delle sostanze esaminate era rappresentata da integratori o “nootropici” (*smart nutrients*) sostanze in grado di stimolare le capacità cognitive, sebbene in alcuni altri casi si trattasse di sostanze farmacologicamente attive o psicoattive per le quali era necessario un approfondimento scientifico per poterle classificare accuratamente e includerle nei giusti termini di legge.

Questo approfondimento è stato fatto dal Reparto “Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping” del Dipartimento del Farmaco dell’Istituto Superiore di Sanità che, a partire dall’anno 2003, su incarico del Ministro della Salute, ha eseguito senza soluzione di continuità analisi chimiche quali-quantitative e valutazioni farmacotossicologiche su reperti provenienti da sequestri dei Nuclei Antisofisticazioni dell’arma dei Carabinieri (NAS) e delle Procure della Repubblica di diverse città in “Smart Shops”, erboristerie, negozi di etnobotanica e infine su negozi telematici.

Negli anni 2003-2004, i prodotti analizzati erano soprattutto di origine naturale: estratti secchi di piante, foglie essiccate, preparati per decotti, capsule contenenti materiale erbaceo, distillati alcolici di piante, ecc.

Sulla base del lavoro analitico, valutativo e di catalogazione il Ministero della Salute ha emanato una serie di decreti legislativi che hanno inserito alcune piante ed alcuni principi attivi in esse contenuti nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all’articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Nell’anno della pubblicazione della prima Edizione di “Smart Drugs” (2006), sul mercato telematico e nei negozi specializzati in articoli “etno” compaiono miscele di “Smart Drugs”, denominate “Spice”, che potevano essere fumate ottenendo effetti simili a quelli della cannabis. Si trattava infatti di erbe fumabili per uno “sballo legale”, facendo riferimento al loro status giuridico. In realtà, le analisi chimiche quali-quantitative eseguite su questi prodotti rivelarono la presenza di cannabinoidi sintetici, una vasta famiglia di molecole strutturalmente non correlate tra di loro ma funzionalmente simili al Δ -9-tetraidrocannabinolo (THC), il principio attivo della cannabis.

Nella seconda edizione del libro “Smart Drugs” edito nel 2010 dall’Istituto Superiore di Sanità si è quindi provveduto, oltre all’aggiornamento legislativo, farmacotossicologico ed analitico delle monografie della prima edizione, ad inserire nuove monografie di “Smart Drugs” ed un capitolo dedicato alle “Spice” e ai cannabinoidi sintetici.

Nell’ultimo decennio però, accanto alla diffusione di prodotti di origine naturale, il mercato illecito, ma soprattutto il mercato telematico hanno iniziato a proporre molti prodotti di sintesi analoghi strutturali di differenti classi di sostanze psicoattive e psicotrope: catinoni sintetici, nuove fenetilamine, nuove designer drugs e analoghi degli inibitori delle fosfodiesterasi-5 (quali potenziatori delle performance sessuali) .

Le “Smart Drugs” acquistano l’appellativo di “Trash Drugs” (droghe spazzatura), prodotti di scarto della ricerca farmacologica, non utilizzabili ai fini medici, ma utilizzati soltanto in ambito ricreazionale, venduti come “droghe legali” (legal highs) “prodotti chimici per la ricerca” (research chemicals) non per uso umano, “fertilizzanti” (plant food), “sali da bagno” (bath salts).

L’Ufficio delle Nazioni Unite per il controllo della droga e la prevenzione del crimine (United Nation Office on Drugs and Crime -UNODC) ha proposto nel 2005 l’uso del termine “New Psychoactive Substances” (NPS) per indicare, come riporta il documento ufficiale, quelle “Sostanze d’abuso, sia in forma pura che sotto forma di preparati, che non sono sottoposte a controllo da parte della Convenzione Unica sugli Stupefacenti del 1961.

In **Europa**, l'Osservatorio europeo sulle droghe e tossicodipendenze (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction EMCDDA) riporta che nel triennio 2010-2013 sono state segnalate al sistema di allerta rapido dell'Unione Europea oltre 245 nuove sostanze psicoattive; per le sostanze sospettate di provocare danni significativi per la salute sono state poi varate a livello europeo attività formali di valutazione dei rischi .

In **Italia** alla fine del 2008 il Dipartimento Politiche Antidroga ha attivato il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida (National Early Warning System N.E.W.S.) con l'obiettivo di individuare precocemente i fenomeni potenzialmente pericolosi per la salute pubblica correlati alla comparsa di nuove sostanze e di nuove modalità di consumo e di attivare segnalazioni di pre-allerta o allerta che tempestivamente coinvolgano le strutture deputate alla tutela della salute e responsabili della eventuale attivazione di misure in risposta alle emergenze. Nel corso di questi anni il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida ha monitorato strettamente la situazione sul territorio italiano rilevando circa 280 nuove sostanze psicoattive circolanti. Questo mercato utilizza principalmente Internet per la pubblicizzazione delle molteplici offerte delle sostanze psicoattive, per la raccolta degli ordinativi e dei pagamenti mediante credito elettronico e approfitta dei normali corrieri postali per il loro invio a domicilio.

Pertanto, in questa terza edizione del libro "Smart Drugs" edita dall'Istituto Superiore di Sanità si è nuovamente provveduto all'aggiornamento legislativo, farmacotossicologico ed analitico delle monografie delle piante presenti nelle precedenti edizioni, all'inserimento di sei nuove monografie di "Smart Drugs" di origine vegetale, per le quali si è osservato un numero crescente di siti telematici che ne promuovevano la vendita, ed infine sono stati aggiunti capitoli riguardanti i cannabinoidi sintetici, i catinoni sintetici, le nuove "designer drugs", i potenziatori delle performance sessuali e le bevande energetiche. Sebbene non esaustive, le notizie contenute in questa terza Edizione del Libro riportano dati di nostri studi e ricerche e della letteratura internazionale in merito e forniscono informazioni utili al ricercatore, al legislatore e alle forze dell'ordine.

Prof. Gualtiero Ricciardi
Commissario
Istituto Superiore di Sanità

Introduzione

La terza edizione del libro “Smart Drugs” comprende novantadue monografie divise in sei capitoli.

La peculiarità del libro è che ogni capitolo riporta notizie, informazioni tecnico scientifiche e legali che possono essere utilizzate nell’ambito lavorativo da professionisti della salute, dalle forze dell’ordine, da ricercatori e studiosi della materia.

Infatti in ciascuna monografia sono fornite indicazioni riguardanti il/i principio/i farmacologicamente attivo/i contenuto/i con le principali caratteristiche chimico-fisiche, le notizie relative all’uso, la legislazione in materia del singolo principio attivo eventualmente presente, le proprietà farmaco-tossicologiche, la tossicità, gli effetti avversi, le possibili interazioni farmacologiche e i possibili effetti in gravidanza. In ciascuna monografia è altresì presente una sezione riguardante le determinazioni analitiche dei principi attivi con maggiore attenzione ai metodi riguardanti l’analisi su matrici biologiche convenzionali e non convenzionali. In assenza di queste, si riportano metodologie per l’analisi del/i principio/i attivo/i in materiali non biologici (polveri, compresse, capsule, ecc.) o su parti della pianta o preparati contenenti parti della pianta stessa nel caso di “Smart Drugs” provenienti da piante.

A tal proposito, il primo capitolo consta di 33 monografie di “Smart Drugs” di origine vegetale, per le quali si riportano anche le caratteristiche tassonomiche della specie vegetale in questione, il luogo di coltivazione e la porzione della pianta contenente il/i principio/i attivo/i. Si tratta dell’aggiornamento di ventisette monografie già presenti nella seconda edizione del libro e di sei nuove monografie di “Smart Drugs” vegetali al momento molto pubblicizzate e commercializzate per scopi ricreazionali.

Il secondo capitolo del libro comprende, oltre ad una breve introduzione, le monografie dei cannabinoidi sintetici maggiormente presenti nel mercato italiano appartenenti alle classi dei Naftoilindoli, Aminoalchilindoli, Naftoilpirroli, Benzilindoli e Ciclopropilindolchetoni. Si tratta di molecole analoghe ai cannabinoidi naturali che vengono sintetizzate in laboratori chimico-farmaceutici con l’obiettivo di individuare molecole che conservino alcune proprietà del Δ -9-tetraidrocannabinolo (THC) principio psicoattivo della cannabis. Presenti nel mercato dai primi anni del ventunesimo secolo, vietati dal legislatore in Italia a partire dal 2010, rimangono tra le “nuove sostanze psicoattive” più commercializzate poiché è possibile sintetizzare e quindi commercializzare analoghi che per le loro modificazioni di struttura chimica non rientrano tra quelli vietati dalla legge vigente.

Il terzo capitolo include le monografie di otto catinoni sintetici, fra i più diffusi nel mercato telematico preceduti da una monografia della pianta di Khat meglio conosciuta come *Catha edulis* e dei suoi principi attivi catinone e catina. I catinoni sintetici sono infatti analoghi strutturali degli alcaloidi di origine naturale presenti nelle foglie della *Catha edulis*. Si tratta di derivati fenetilaminici che presentano un gruppo carbonilico di tipo chetonico nella posizione beta della catena alchilaminica. Similmente ai cannabinoidi sintetici hanno larga diffusione come droghe psicostimolanti ed allucinogene tra i giovani e anche in questo caso quando una molecola è posta sotto controllo legislativo, è possibile sintetizzarne e commercializzarne degli analoghi strutturali con modificazioni strutturali che li escludano da un controllo legislativo.

Lo stesso discorso vale per le nuove “designer drugs”: fenetilamine, piperazine, triptamine piperidine e delle pirrolidine con effetti stimolanti e psicoattivi. Nel quarto capitolo sono riportate le otto monografie delle “Designer Drugs” più consumate al momento a scopo ricreazionale.

Si è ritenuto di dedicare il quinto capitolo ai principali farmaci della classe degli inibitori delle fosfodiesterasi V e ai loro analoghi utilizzati nel trattamento della disfunzione erettile, poiché si tratta di prodotti largamente commercializzati a scopo ricreazionale in circuiti differenti (es. siti telematici, sexy shop) dalle farmacie dove la legge prevede l’acquisto dietro prescrizione medica

Oltre alle monografie relative ai tre principali inibitori della fosfodiesterasi 5 (PDE-5) sildenafil, tadalafil e vardenafil nel capitolo sono anche presenti le monografie relative ai principali analoghi e tioanaloghi dei tre composti sopra menzionati, al momento ancora non registrati come farmaci e quindi di libera vendita su siti telematici e nei sexy shop.

Anche in questo capitolo tutte le monografie sono impostate secondo lo schema già precedentemente descritto.

Infine il sesto capitolo è dedicato ai principali componenti delle bevande energetiche- “Energy drinks”.

Diversi studi, sia in Europa che negli Stati Uniti, hanno evidenziato una prevalenza di consumatori tra i giovani ed in particolar modo tra gli studenti. Le informazioni ottenute da questi studi hanno messo in evidenza una scarsa conoscenza, da parte dei consumatori, degli effetti fisiologici e psicologici potenzialmente dannosi che derivano da un uso incontrollato di queste bevande, specialmente in associazione con l'alcol come rilevato da studi epidemiologici nazionali ed internazionali.

Le monografie di questo capitolo, articolate come quelle dei capitoli precedenti, riguardano le tre metilxantine caffeina, teobromina e teofillina, quindi la taurina, la carnitina, il glucuronolattone, le vitamine del gruppo B e tre piante comunemente presenti in queste bevande: il Ginkgo biloba, la Paullinia cupana e il Panax quinquefolius.

Simona Pichini e Roberta Pacifici
Istituto Superiore di Sanità



1

“Smart Drugs”
di origine vegetale

1.1 *Acorus calamus*

(calamo aromatico)



Nome: *Acorus calamus* L.

Famiglia: *Acoraceae*

Genere: *Acorus* L.

Specie: *Calamus*

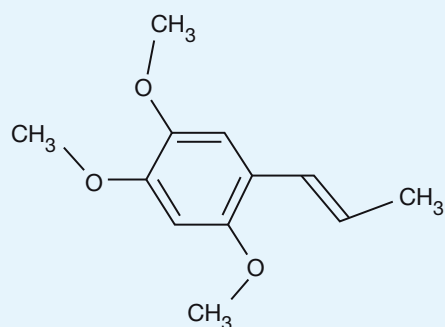
Sinonimi: calamo aromatico, Sweet flag (ingl.), Bach (indi), Vasa (Telugu), Vacha (Ayurvedica)

Provenienza: Asia

Principi attivi: α - e β -asarone

L'*Acorus calamus*, detto anche canna odorosa o calamo aromatico, è una pianta erbacea perenne che cresce in zone paludose. Originaria dell'Asia, si è diffusa in Europa e nei Paesi dal clima temperato, inclusa l'America settentrionale. Dal rizoma si produce un olio essenziale che contiene diverse sostanze, tra le quali: α - e β -asarone, cis-metil isoeugenolo, asarilaldeide, calamene, linalolo, calamolo, calameone, eugenolo, metil eugenolo, azulene, pinene, cineolo, canfora, ecc. ⁽¹⁻³⁾. All' α - e al β -asarone vengono attribuite sia le proprietà farmacologiche che quelle psicoattive della pianta ⁽⁴⁾. In funzione del contenuto di β -asarone, vengono distinti 3 chemotipi di *Acorus calamus*: un chemotipo diploide caratterizzato dall'assenza di β -asarone, un chemotipo triploide, europeo e nordamericano, con basse concentrazioni di β -asarone (3-19%) e un chemotipo tetraploide, presente nel Sud-Est Asiatico, con elevate quantità di β -asarone (90-96%) ⁽⁴⁻⁶⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: α -asarone.

Formula Molecolare: $C_{12}H_{16}O_3$ (peso molecolare = 208,2).

Nome sistematico: 1,2,4-trimetossi-5-[(1E)-1-propen-1-il]benzene.

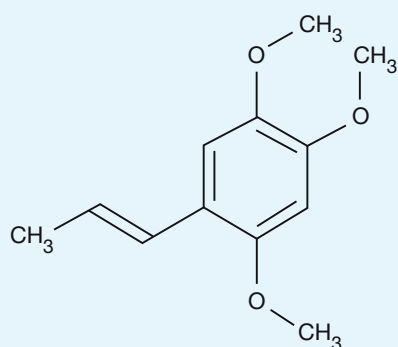
Numero di registro CAS: 2883-98-9.

Punto di fusione: 57-61°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in acetato di etile, cloroformio, etere e alcol etilico.

Insolubile in acqua.



Nome: β -asarone.

Formula Molecolare: $C_{12}H_{16}O_3$ (peso molecolare = 208,2).

Nome sistematico: 1,2,4-trimetossi-5-[(1Z)-1-propen-1-il]benzene.

Numero di registro CAS: 5273-86-9.

Punto di fusione: 65,8°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in acetato di etile, cloroformio, etere e alcol etilico.

Insolubile in acqua.

Uso storico

Riferimenti sull'*Acorus calamus* sono presenti in alcuni passi dell'Antico Testamento. Nelle prescrizioni che Javeh detta a Mosé sulla costruzione del santuario a lui dedicato e sulle relative cerimonie da eseguire, viene pronunciata una precisa formula per la preparazione di un "olio dell'unzione", composto di mirra, cassia, canna odorifera (*Acorus calamus*), e cinnamomo. Con quest'olio Mosé doveva ungere le diverse parti del santuario e dei suoi accessori, e quindi gli stessi sacerdoti dediti al culto⁽⁷⁾.

Il rizoma dell'*Acorus calamus* è usato da più di 2000 anni in Cina e in India per ridurre il gonfiore addominale e per la stitichezza. Molte tribù native americane avevano familiarità con il calamo e la pianta veniva usata come anestetico per il mal di denti e mal di testa⁽⁸⁾.

Il rizoma è stato utilizzato anche dagli antichi Greci e Romani. Plinio riporta l'impiego di questa pianta nella preparazione di oli e profumi pregiati, e anche come ricercato aroma e additivo dei vini greci e latini⁽⁸⁾. Dioscoride afferma che il termine *Acorus* viene dal greco *akoro*, il quale a sua volta proviene dalla parola *kore*, la pupilla dell'occhio, in quanto si riteneva che la pianta fosse utile per guarire le malattie oculari⁽⁸⁾. Inoltre, sempre secondo Dioscoride, il fumo di *Acorus calamus*, aspirato attraverso un imbuto, alleviava la tosse⁽⁴⁾.

Uso attuale

L'*Acorus calamus* è una pianta che viene utilizzata in erboristeria e fitoterapia principalmente per le sue proprietà toniche e aromatiche ed anche per il trattamento di disturbi nervosi, vascolari, reumatoidi e come sedativo^(7,9). Dal rizoma si ricava un infuso utilizzato come stimolante dell'appetito e della digestione⁽⁷⁾.

Al di là del consumo "tradizionale" e "storico" della pianta, l'*Acorus calamus* è popolare tra i consumatori di sostanze psicoattive per le sue presunte proprietà allucinogene. Da quanto riportato sui siti telematici rivolti all'uso di sostanze psicoattive, il rizoma della pianta viene utilizzato per preparare un infuso che poi viene bevuto come tè oppure il rizoma ridotto in polvere viene fumato da solo o miscelato con la marijuana. È stato ipotizzato che il β -asarone, una volta assunto venga biotrasformato in 2,4,5-trimetossiamfetamina (TMA-2), sostanza con proprietà psicoattive allucinogene inserita nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni⁽¹⁰⁾. In contrasto con questa ipotesi, uno studio sui possibili metaboliti dell' α - e β -asarone in campioni di urina di soggetti intossicati dopo ingestione di olio di *Acorus calamus* non ha, però, potuto rilevare la presenza di TMA-2⁽¹⁰⁾. L'ipotesi della biotrasformazione del β -asarone a TMA-2 nasce dal fatto che il β -asarone estratto dal rizoma della pianta viene utilizzato per produrre la TMA-2. Per tale motivo questo prodotto è venduto su siti telematici insieme alle istruzioni per la sintesi "fai-da-te" della 2-TMA⁽¹¹⁾.

Legislazione

L'*Acorus calamus* può essere legalmente comprato, venduto e posseduto in Italia. Tuttavia, il Ministero della Salute Italiano ha inserito il rizoma e l'olio essenziale di *Acorus calamus* nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽¹²⁾. L'allegato III del Regolamento (CE) n. 1334/2008 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2008, relativo agli aromi e ad ingredienti alimentari con proprietà aromatizzanti destinati a essere utilizzati negli e sugli alimenti fissa a 1 mg/kg il livello massimo di β -asarone nelle bevande alcoliche⁽¹³⁾. Lo stesso regolamento, nell'allegato IV, inserisce la varietà tetraploide dell'*Acorus calamus* in un elenco di sostanze che non possono essere utilizzate per la produzione di aromi e di ingredienti alimentari con proprietà aromatizzanti⁽¹³⁾.

Allo stesso modo, il comitato per i medicinali dell'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) ha concluso che le concentrazioni di α - e β -asarone nei medicinali a base di erbe dovrebbero essere ridotti al minimo, e la varietà diploide della pianta deve sempre essere preferita. Viene inoltre fissato un limite di assunzione di β -asarone presente in prodotti medicinali vegetali di circa 115 mg/die, pari a circa 2 mg/kg di peso corporeo/die⁽¹⁴⁾.

Negli Stati Uniti, la Food and Drug Administration (FDA), a causa delle controversie sulla sicurezza dell'olio di *Acorus calamus* e sulla potenziale cancerogenicità del β -asarone, ha vietato l'uso della pianta e dei suoi estratti ed oli come additivo alimentare e nei farmaci per uso umano⁽¹⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Studi sull'attività farmacologica degli estratti e degli oli essenziali dell'*Acorus calamus* hanno evidenziato potenziali effetti anticonvulsivanti⁽¹⁶⁻¹⁹⁾ e analgesico/sedativi^(18,20) mediati dal potenziamento dell'attività dell'acido γ -aminobutirrico (GABA) nel sistema nervoso centrale⁽¹⁸⁾. L'interazione con il GABA sarebbe anche alla base dell'attività antidepressiva degli estratti di rizoma di *Acorus calamus*⁽²¹⁾.

Gli estratti di foglie di *Acorus calamus* esercitano un'attività anticolinergica e antimuscarinica, che potrebbero essere potenzialmente sfruttate non solo nel trattamento di disturbi cognitivi,^(22,23) ma anche nella cura dell'asma⁽²⁴⁾.

Il β -asarone attenua l'apoptosi neuronale nell'ippocampo di ratto ed per tale motivo è un potenziale candidato come agente terapeutico per gestire la compromissione cognitiva associata a condizioni quali il morbo di Alzheimer⁽²⁵⁾. Altri studi hanno evidenziato l'utilità dell'*Acorus calamus* nel trattamento del disturbo d'ansia generalizzato⁽²⁶⁾.

Recentemente sono state evidenziate anche le proprietà antimicrobiche^(27,28), antinfiammatorie⁽²⁹⁾, antielmintiche e insetticide⁽³⁰⁾ sia del β -asarone che degli estratti acquosi di *Acorus Calamus*.

Tossicità

I dati riguardanti la tossicità e la sicurezza degli estratti di *Acorus calamus* hanno dimostrato che mentre sia l' α - che il β -asarone sono citotossici, solo il β -asarone è potenzialmente genotossico^(7,31). Sembra, infatti, che il β -asarone induca la sintesi non programmata del DNA negli epatociti e possieda effetti immunosoppressivi^(4,32).

In esperimenti di tossicità acuta e cronica condotti su modello animale, gli estratti etanolic⁽³³⁾ ed idroalcolico⁽³⁴⁾ di *Acorus calamus* sono entrambi risultati ben tollerati non causando reazioni tossiche significative negli animali trattati a dosi orali di 2500 mg/kg. Mortalità e alterazioni comportamentali moderate sono state invece osservate dopo somministrazione orale di un estratto idroalcolico alla dose di 5000 mg/kg, mentre la somministrazione di 10000 mg/kg in unica dose provoca una mortalità del 100% degli animali⁽³⁴⁾.

Dati relativi alla tossicità acuta dell' α -asarone⁽³⁵⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 310 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione orale: 418 mg/kg

Nel topo - DLLo dopo somministrazione intravenosa: 66 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta del β -asarone⁽¹¹⁾

Nel ratto - DL50 dopo somministrazione orale: 1010 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 184 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta dell'olio di *Acorus calamus*⁽³⁶⁾

| Varietà dell' <i>Acorus Calamus</i> | Animale | Via di somministrazione | DL50 (mg/kg) |
|-------------------------------------|---------|-------------------------|--------------|
| Indiana | ratto | orale | 4331,0 |
| | ratto | intraperitoneale | 221,0 |
| | topo | intraperitoneale | 145,5 |
| | criceto | intraperitoneale | 2,75 |
| Europea | ratto | orale | 3497,0 |
| | topo | intraperitoneale | 1139,0 |
| Europea (senza β -asarone) | topo | intraperitoneale | 1709,0 |

Effetti avversi

Nel triennio 2003-2006, il centro informazioni veleni Svedese ha registrato 30 casi clinici di intossicazione con prodotti a base di *Acorus calamus*⁽¹⁰⁾. In tutti i casi, il sintomo clinico più frequentemente riportato è stato un vomito prolungato (fino a 15 ore), seguito da nausea e tachicardia. Altri effetti avversi registrati in seguito all'ingestione di prodotti a base di *Acorus calamus* sono vertigini, tremore, respirazione irregolare, pallore e ansia⁽¹¹⁾. Non sono stati riportati invece effetti allucinogeni o psicoattivi.

Interazioni farmacologiche

Sebbene l'estratto di *Acorus calamus* e in particolare l' α -asarone interagiscano con gli isoenzimi CYP3A4 e CYP2D6 del citocromo P-450, responsabili del metabolismo di molti farmaci⁽³⁷⁾, in letteratura non sono note interazioni rilevanti dell'*Acorus calamus* e dei suoi principi attivi con alcun tipo di farmaco.

Effetti in gravidanza

Date le proprietà emmenagoghe e genotossiche non è consigliabile l'utilizzo in gravidanza dell'*Acorus calamus*^(38,39).

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura metodologie per l'analisi dell' α - e/o β -asarone negli estratti del rizoma^(40,41), negli oli essenziali⁽⁴²⁾, in bevande alcoliche^(43,44) e in prodotti commerciali^(11,45) a base di *Acorus calamus*.

Questi metodi analitici utilizzano per la determinazione dell' α - e/o β -asarone nell'*Acorus calamus* tecniche separative in cromatografia elettrocinetica micellare⁽⁴⁰⁾, in cromatografia su strato sottile⁽⁴¹⁾ e in gas cromatografia e cromatografia liquida accoppiate alla spettrometria di massa⁽⁴²⁻⁴⁵⁾.

Inoltre, esistono metodologie per l'analisi dell' α - e/o β -asarone contenuti nell'*Acorus calamus* in matrici e liquidi biologici di animali da esperimento utilizzando cromatografia liquida o gassosa accoppiata alla spettrometria di massa^(22,46) e nelle urine di consumatori della pianta⁽¹⁰⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dell' α - e del β -asarone in urine⁽¹⁰⁾

Estrazione del campione

Un ml di urina viene addizionato con due diversi volumi di 3 ml di etere dietilico e miscelato per 10 minuti. Dopo centrifugazione, la fase organica viene raccolta e portata a secco sotto flusso di azoto. L'essiccato viene ricostituito con 50 μ l di etile acetato e iniettato nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: HP-Ultra (0,2 mm x 17 m, 0,11 μ m)

Temperatura iniettore: 250°C

Gas: elio al flusso di 1 ml/min

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: 80°C per un minuto, 80°C - 280°C a 12°C/min

Rivelatore: spettrofotometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

α -asarone: 7,4 min

β -asarone: 7,8 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

α -asarone: m/z 208, 193, 165

β -asarone: m/z 208, 193, 165

Standard

Gli standard delle sostanze utilizzate nelle analisi sono state acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Non viene descritta la creazione di una curva di calibrazione.

Risultati

L'analisi viene eseguita su sette campioni di urina provenienti da soggetti intossicati dopo aver ingerito volontariamente delle preparazioni a base di *Acorus calamus*. I campioni sono stati raccolti presso il pronto soccorso ospedaliero, dove i soggetti si erano recati per gli effetti dell'intossicazione. L'analisi ha evidenziato la presenza dell' α -asarone in cinque dei sette campioni di urina a concentrazioni comprese tra 11 e 1150 $\mu\text{g/ml}$ e del β -asarone in quattro a concentrazioni comprese tra 22-220 $\mu\text{g/ml}$.

Bibliografia

- OPREAN R, OPREAN L, TAMAS M, SANDULESCU R, ROMAN L. Essential oil analysis. II. Mass spectra identification of terpene and phenylpropane derivatives. *J Pharm Biomed Anal.* 2001; 24: 1163-1168.
- RAINA VK, SRIVASTAVA SK, SYAMASUNDER KV. Essential oil composition of *Acorus calamus* L. from then lower region of the Himalayas. *Flavour Fragr J.* 2003; 18: 18-20.
- SATYAL P, PAUDEL P, POUDEL A, DOSOKY NS, MORIARITY DM, VOGLER B, SETZER WN. Chemical compositions, phytotoxicity, and biological activities of *Acorus calamus* essential oils from Nepal. *Nat Prod Commun.* 2013; 8: 1179-81.
- AVADHANI MNM, SELVARAJ CI, RAJASEKHARAN PE, THARACHAND C. The sweetness and bitterness of Sweet Flag [*Acorus calamus* L.] – A Review. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 2013; 4: 598-610.
- MOTLEY TJ. the ethnobotany of sweet flag, *Acorus calamus* (araceae). *Economic Botany.* 1994; 48: 397-412.
- WAGNER H, BAUER R, MELCHART D, XIAO PG, STAUDINGER A. 2011. *Chromatographic fingerprint Analysis of herbal medicines*, 2nd ed. Springer Wien, New York.
- SAMORINIO G, FESTI F. *Acorus calamus* L. (calamo aromatico). *Eleusis.* 1995; 1: 33-36.
- RAJPUT SB, TONGE MB, KARUPPAYIL SM. An overview on traditional uses and pharmacological profile of *Acorus calamus* Linn. (Sweet flag) and other *Acorus* species. *Phytomedicine* 2014; 21: 268-276.
- SINGH R, SHARMA PK, MALVIYA R. Pharmacological properties and ayurvedic value of indian buch plant (*Acorus calamus*): a short review. *Advan Biol Res.* 2011; 5: 145-154.
- BJÖRNSTAD K, HELANDER A, HULTÉN P, BECK O. Bioanalytical investigation of asarone in connection with *Acorus calamus* oil intoxications. *J Anal Toxicol.* 2009; 33: 604-609.
- ZUBA D, BYRSKA B. Alpha- and beta-asarone in herbal medicinal products. A case study. *Forensic Sci Int.* 2012; 223: 1-3.
- Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
- REGOLAMENTO (CE) N. 1334/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008, che modifica il regolamento (CEE) n. 1601/91 del Consiglio, i regolamenti (CE) n. 2232/96 e (CE) n. 110/2008 e la direttiva 2000/13/CE.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0034:0034:IT:PDF>
- Committee on Herbal Medicinal Products, Evaluation of Medicines for Human Use, Public statement on the use of herbal medicinal products containing asarone, European Medicines Agency (EMA), London, 2005 (Doc Ref: EMA/HMPC/ 139215/2005).
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/04/WC500089956.pdf
- U.S. Food And Drug Administration Department Of Health And Human Services. CFR - Code of Federal Regulations Title 21.
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=189.110>
- PATTANAİK J, KUMAR Y, KHATRI RS. *Acorus calamus* Linn.: a herbal tonic for central nervous system. *Sci Inn Res.* 2013; 2 (5): 950-954.
- SHARMA V, SINGH I, CHAUDHARY P. *Acorus calamus* (The Healing Plant): a review on its medicinal potential, micropropagation and conservation. *Nat Prod Res.* 2014; 28: 1454-1466.
- JAYARAMAN R, ANITHA T, VISHAL JOSHI D. Analgesic and anticonvulsant effects of *acorus calamus* roots in mice. *International J Pharm Tech Research.* 2010; 2: 552-555.

19. BHAT SD, ASHOK BK, ACHARYA RN, RAVISHANKAR B. Anticonvulsant activity of raw and classically processed Vacha (*Acorus calamus* Linn.) rhizomes. *AYU*. 2012; 33: 119-122.
20. KHAN MA, ISLAM MT. Analgesic and cytotoxic activity of *Acorus calamus* L., *Kigelia pinnata* L., *Mangifera indica* L. and *Tabernaemontana divaricata* L. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012; 4: 149-154.
21. HAN P, HAN T, PENG W, WANG XR. Antidepressant-like effects of essential oil and asarone, a major essential oil component from the rhizome of *Acorus tatarinowii*. *Pharm Biol*. 2013; 51: 589-594.
22. LIU L, FANG YQ. Analysis of the distribution of β -asarone in rat hippocampus, brainstem, cortex and cerebellum with gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). *J Med Plants Res*. 2011; 5: 1728-1734.
23. LI C, XING G, DONG M, ZHOU L, LI J, WANG G, ZOU D, WANG R, LIU J, NIU Y. Beta-asarone protection against beta-amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells via JNK signaling and modulation of Bcl-2 family proteins. *Eur J Pharmacol*. 2010; 635: 96-102.
24. VIJAYAPANDI P, ANNABATHINA V, SIVANAGASRIKANTH B, MANJUNATH V, BOGGAVARAPU P, MOHAMMED P AK, RAJENDRA-PRASAD K, KUMARAPPAN CT. In vitro anticholinergic and antihistaminic activities of *acorus calamus* linn. leaves extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2012; 10: 95-101.
25. GENG Y, LI C, LIU J, XING G, ZHOU L, DONG M, LI X, NIU Y. Beta-asarone improves cognitive function by suppressing neuronal apoptosis in the beta-amyloid hippocampus injection rats. *Biol & Pharm Bull*. 2010; 33: 836-843.
26. BHATTACHARYYA D, SUR TK, LYLE N, JANA U, DEBNATH PK. A clinical study on the management of generalized anxiety disorder with Vaca (*Acorus calamus*). *Indian J Tradit Knowl*. 2011; 10: 668-671.
27. KIM WJ, HWANG KH, PARK DG, KIM TJ, KIM DW, CHOI DK, MOON WK AND LEE KH. Major constituents and antimicrobial activity of Korean herb *Acorus calamus*. *Nat Prod Res*. 2011; 25: 1278-1281.
28. RAJPUT SB, KARUPPAYIL SM. β -Asarone, an active principle of *Acorus calamus* rhizome, inhibit morphogenesis, biofilm formation and ergosterol biosynthesis in *Candida albicans*. *Phytomedicine*. 2013; 20: 139-142.
29. SHI GB, WANG B, WU Q, WANG TC, WANG CL, SUN XH, ZONG WT, YAN M, ZHAO QC, CHEN YF, ZHANG W. Evaluation of the wound-healing activity and anti-inflammatory activity of aqueous extracts from *Acorus calamus* L. *Pak J Pharm Sci*. 2014; 27: 91-95.
30. LIU XC, ZHOU LG, LIU ZL, DU SS. Identification of insecticidal constituents of the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. *Molecules*. 2013; 18: 5684-5696.
31. UNGER P, MELZIG MF. Comparative study of the cytotoxicity and genotoxicity of alpha- and Beta-asarone. *Sci Pharm*. 2012; 80: 663-668.
32. GHOLKAR MS, MULIK MB, LADDHA KS. Fate of β -asarone in Ayurvedic Sodhana process of Vacha. *J Ayurveda Integr Med*. 2013; 4: 19-22.
33. SHAH PD, GHAG M, DESHMUKH PB, KULKARNI Y, JOSHI SV, VYAS BA, SHAH DR. Toxicity study of ethanolic extract of *Acorus calamus*. *Int Green Pharm*. 2012, <http://dx.doi.org/10.4103/0973-8258.97119>
34. MUTHURAMAN A, SINGH N. Acute and sub-acute oral toxicity profile of *Acorus calamus* (Sweet-Flag) in rodents. *Asian Pacific J Trop Biom* 2012; 2: S1017-S1023.
35. <http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html>
36. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je04.htm>
37. PANDIT S, MUKHERJEE PK, PONNUSANKAR S, VENKATESH M, SRIKANTH N. Metabolism mediated interaction of α -asarone and *Acorus calamus* with CYP3A4 and CYP2D6. *Fitoterapia* 2011; 82: 369-374.
38. CHIEJ R. The Macdonald Encyclopedia of Medicinal Plants. 1988 Macdonald & Co Ltd, London, UK.
39. ERNST E. Herbal medicinal products during pregnancy: are they safe? *BJOG*. 2002; 109: 227-235.
40. WIDMER V, SCHIBLI A, REICH E. Rapid assessment of β -asarone content of *Acorus calamus* by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Electrophoresis* 2005; 26: 934-946.
41. WIDMER V, SCHIBLI A, REICH E. Quantitative determination of beta-asarone in calamus by high-performance thin-layer chromatography. *J AOAC Int*. 2005; 88: 1562-1567.
42. OPREAN R, TAMAS M, ROMAN L. Comparison of GC–MS and TLC techniques for asarone isomers determination. *J Pharm Biomed Anal*. 1998; 18: 227-234.
43. GALLI CL, GALLI G, TRAGNI E. Quantitative analysis of alpha, beta-thujone, pulegone, safrole, coumarin and beta-asarone in alcoholic beverages by selected-ion monitoring. *J Appl Toxicol*. 1984; 4: 273-276.
44. CURRÒ P, MICALI G, LANUZZA F. Determination of β -asarone, safrole, isosafrole and anethole in alcoholic drinks by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1987; 404: 273-278.
45. YU SM, KIM EK, LEE JH, LEE KR, HONG J. Development of fingerprints for quality control of *acorus* species by gas chromatography/mass spectrometry. *Bull Korean Chem Soc*. 2011; 32: 1547-1553.
46. NANDAKUMAR S, MENON S, SHAILAJAN S. A rapid HPLC-ESI-MS/MS method for determination of β -asarone, a potential anti-epileptic agent, in plasma after oral administration of *Acorus calamus* extract to rats. *Biomed Chromatogr*. 2013; 27: 318-26.

1.2 Amanita muscaria (ovolo malefico)



Nome: *Amanita muscaria*

Famiglia: *Amanitaceae*

Genere: *Amanita*

Specie: *Amanita muscaria* L. (Hooker)

Sinonimi: agaricus pseudoaurianticus Buillard, ovolo malefico, segnabrise

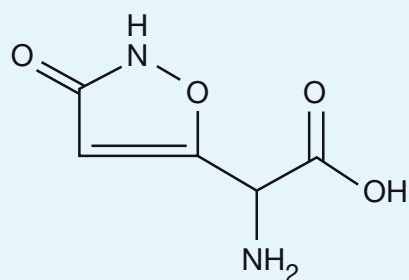
Provenienza: ubiquitario: cresce in autunno nei boschi di conifere e di latifoglie

Principi attivi: muscimolo, acido ibotenico, muscazone, muscarina⁽¹⁾

L'*Amanita muscaria* è una specie velenosa di fungo. I principi attivi contenuti nell'*Amanita muscaria* sono: l'acido ibotenico, il muscimolo ed il muscazone in una percentuale del 20% del peso secco della pianta⁽²⁾.

Il fungo viene assunto per i suoi effetti psichedelici sia in cerimoniali di popolazioni antiche e della Siberia, sia per scopi ricreazionali da consumatori di sostanze psicotrope^(3,4).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: acido ibotenico.

Formula Molecolare: $C_5H_6N_2O_4$ (peso molecolare = 158,1).

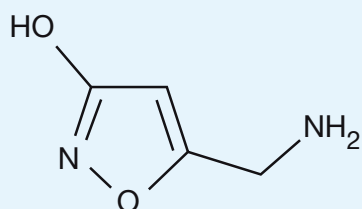
Nome sistematico: acido α -amino-2,3-diidro-3-osso-5-isossazolacetico.

Numero di registro CAS: 2552-55-8.

Punto di fusione: 151-152°C (anidro), 144-146°C (monoidrato).

UVmax: 230 nm.

Solubilità: acqua, alcol metilico e dimetilsolfossido.



Nome: muscimolo.

Formula Molecolare: $C_4H_6N_2O_2$ (peso molecolare = 114,1).

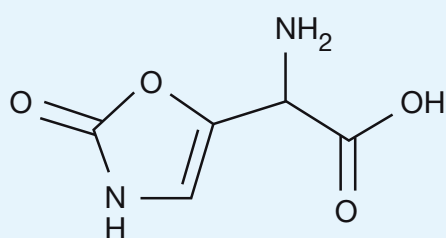
Nome sistematico: 5-(amminometile)-3-isossazololo.

Numero di registro CAS: 2763-96-4.

Punto di fusione: 175°C.

UVmax: 230 nm.

Solubilità: acqua.



Nome: muscazone.

Formula Molecolare: $C_5H_6N_2O_4$ (peso molecolare = 158,1).

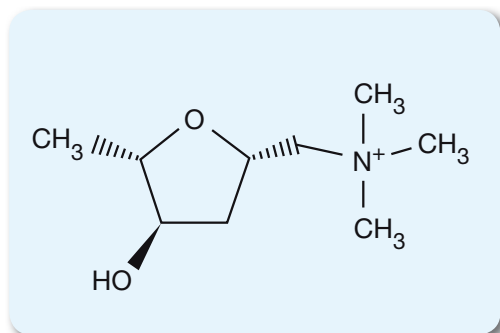
Nome sistematico: acido α -amino-2,3-diidro-2-osso-5-ossazolacetico.

Numero di registro CAS: 2255-39-2.

Punto di fusione: 175°C.

UVmax: (pH 2-7) = 212 nm, (pH 12) = 220 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: muscarina.

Formula Molecolare: $C_9H_{20}NO_2$ (peso molecolare = 174,2).

Nome sistematico: 2S-(2 α ,4 β ,5 α)-tetraidro-4-idrossi-5metilfurfuril-trimetilammonio.

Numero di registro CAS: 300-54-9.

Punto di fusione: 180-181°C

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: acqua, alcol etilico.

Legislazione

L'*Amanita muscaria* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'*Amanita muscaria* viene utilizzata a scopo voluttuario per le sue proprietà allucinogene. In particolare è stato osservato che l'acido ibotenico, strutturalmente correlato all'acido glutammico, causa eccitazione⁽⁵⁾, mentre il muscimolo, essendo più simile all'acido gamma amminobutirrico GABA, esercita un effetto depressivo^(5,6). Nel 2012, uno studio clinico sponsorizzato dal National Institute of Neurological Disorder and Stroke statunitense (NINDS, USA), ha valutato la sicurezza e l'efficacia dell'infusione diretta di muscimolo nel cervello di pazienti con epilessia non trattabile per il controllo delle crisi⁽⁷⁾. Tale studio, tuttora in corso, prende spunto da una serie di ricerche effettuate precedentemente su modello animale^(8,9).

Tossicità

Sono riportate in letteratura informazioni riguardanti la minima dose tossica (DTLo) del muscimolo (0,109 mg/kg) e la quantità minima letale (DLLo) della muscarina (0,735 mg/kg) nell'uomo⁽¹⁰⁾. Sono riportati dati di tossicità acuta dell'acido ibotenico e del muscimolo in modello animale⁽¹¹⁾.

Effetti avversi

Sono stati segnalati due casi di coma dopo ingestione di *Amanita muscaria*, risolti positivamente con trattamento sintomatico. I pazienti dichiaravano comunque il protrarsi per diversi giorni delle allucinazioni visive^(12,13). In generale, nei soggetti intossicati che mostrano segni di iperattività e sintomi psicotici viene consigliato il trattamento con tranquillanti o narcolettici⁽¹⁴⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono note interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati relativi all'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Esistono metodologie per l'analisi dei principi attivi nella testa e nel gambo del fungo, rispettivamente^(15,16). Sono state pubblicate due metodologie per l'analisi dei principi attivi dell'*Amanita muscaria* nelle urine di assuntori del fungo^(17,18). Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad un rivelatore a spettrometria di massa, utile per isolare ed identificare muscimolo, acido ibotenico e muscarina nelle urine di consumatori di *Amanita muscaria* e *Amanita pantherina*⁽¹⁷⁾. Il secondo metodo analitico utilizza un cromatografo gassoso accoppiato ad uno spettrometro di massa per la determinazione e quantificazione del muscimolo e dell'acido ibotenico in campioni di urina di consumatori di *Amanita pantherina*⁽¹⁸⁾. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del muscimolo e dell'acido ibotenico nelle urine⁽¹⁸⁾

Estrazione del campione

500 µl di urine vengono miscelati con 200 µl di una sospensione in acido cloridrico 0,1 N di Dowex 50W X8 (resina a scambio ionico). Dopo centrifugazione, la fase acquosa viene scartata e la rimanente fase (urina miscelata alla sospensione di Dowex 50W X8) viene lavata con 500 µl di una soluzione di acido cloridrico 0,1 N ed alcol etilico (2:1, v/v). Dopo miscelazione e centrifugazione, la fase acquosa viene scartata e alla rimanente fase (urina miscelata alla sospensione di Dowex 50W X8) vengono aggiunti 280 µl di alcol etilico, 500 µl di una soluzione all'1% di idrossido di sodio e 670 µl di una soluzione all'8% di etilcloroformiato in diclorometano. La miscela viene agitata, mediante vortex, per 10 secondi e lasciata riposare per un minuto. Successivamente vengono aggiunti 70 µl di piridina (99%) e la miscela viene ulteriormente agitata a mano per 10 secondi e lasciata riposare per un minuto. Dopo centrifugazione, la fase acquosa viene scartata e alla fase organica viene aggiunto 1 ml di acido cloridrico 1 N. La soluzione viene miscelata, mediante vortex, per 10 secondi e centrifugata. La fase organica (parte inferiore) viene prelevata, portata a secco sotto flusso d'azoto e ricostituita con 50 µl di acetato di etile. Un volume di 1 µl viene iniettato nel gas cromatografo.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: HP-5MS (0,25 mm x 15 m x 0,25 m)

Temperatura iniettore: 220°C

Gas: elio con un flusso di 1,0 ml/min

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: 70°C per un minuto, 70°C - 170°C a 10°C/minuto, 170°C - 300°C a 30°C/minuto, mantenuta a 300°C per 4,67 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

muscimolo: 12,13 min

acido ibotenico: 13,08 min

cicloserina (standard interno): 11,60 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

muscimolo: m/z 186, 130, 113

acido ibotenico: m/z 257, 185, 113

cicloserina (standard interno): m/z 115

Standard

Lo standard dell'acido ibotenico, del muscimolo e della cicloserina sono stati acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione dell'acido ibotenico e del muscimolo (1, 2,5, 5, 7,5, 10 e 15 g/ml) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di urina di controllo.

Risultati

L'analisi viene eseguita su quattro campioni di urina provenienti da soggetti intossicati dopo aver ingerito, per errore, del cibo contenente *Amanita pantherina*. I campioni sono stati raccolti dalle 3 alle 8 ore dopo l'ingestione del cibo presso il Pronto Soccorso dove i soggetti si erano recati per l'improvvisa intossicazione. La concentrazione dell'acido ibotenico e del muscimolo nei quattro campioni in esame è riportata nella Tabella 1.

Tabella 1. Concentrazioni urinarie ($\mu\text{g/ml}$) di acido ibotenico e di muscimolo in soggetti intossicati con *Amanita pantherina*

| Campione | Acido ibotenico ($\mu\text{g/ml}$) | Muscimolo ($\mu\text{g/ml}$) |
|----------|--------------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 47,4 | 9,9 |
| 2 | 32,2 | 6,0 |
| 3 | 37,2 | 7,6 |
| 4 | 55,2 | 7,4 |

Bibliografia

1. THE MERCK INDEX An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14th Edition. Maryadele J O'Neil Editor, Merck Sharp & Dohme Corp., Whitehouse Station, N.J., U.S.A., 2013.
2. HALPERN JH, Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United states. *Pharmacol Ther.* 2004; 102: 131-138.
3. Amanita Muscaria in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 14: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. Amanita Muscaria in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 8: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. MATSUSHIMA Y, EGUCHI F, KIKUKAWA T, MATSUDA T. Historical overview of psychoactive mushrooms. *Inflammation and Regeneration* 2009; 29: 47-58.
6. WALKER RJ, WOODRUFF GN, KERKUT GA. The effect of ibotenic acid and muscimol on single neurons of the snail, *Helix aspersa*. *Comp Gen Pharmacol.* 1971; 2: 168-174.
7. ClinicalTrials.gov.; Brain Infusion of Muscimol to Treat Epilepsy. <http://clinicaltrials.gov/search/intervention=muscimol>.
8. LUDVIG N, TANG HM, ARTAN NS, MIROWSKI P, MEDVECZKY G, BAPTISTE SL, DARISI S, KUZNIECKY RI, DEVINSKY O, FRENCH JA. Transmeningeal muscimol can prevent focal EEG seizures in the rat neocortex without stopping multineuronal activity in the treated area. *Brain Res.* 2011; 1385: 182-191.
9. LUDVIG N, BAPTISTE SL, TANG HM, MEDVECZKY G, VON GIZYCKI H, CHARCHAFLIEH J, DEVINSKY O, KUZNIECKY RI. Localized transmeningeal muscimol prevents neocortical seizures in rats and nonhuman primates: therapeutic implications. *Epilepsia.* 2009; 50: 678-693.
10. <http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html>.
11. Amanita Muscaria in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 9: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
12. HOHN H, SCHOENEMANN J. Cholinergic syndrome with unconsciousness in amanita poisoning. *Dtsch Med Wochenschr.* 2000; 125: 1366-1368.
13. BRVAR M, MOZINA M, BUNC M. Prolonged psychosis after Amanita muscaria ingestion. *Wien Klin Wochenschr.* 2006; 118: 294-297.
14. MARCINIAK B, FERENC T, KUSOWSKA J, CIECWIERZ J. Poisoning with selected mushrooms with neurotropic and hallucinogenic effects. *Med Pr.* 2010; 61: 583-595.
15. Amanita Muscaria in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 16: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
16. Amanita Muscaria in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 10: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
17. MEROVA B, ONDRA P, STANKOVA M, VALKA I. Isolation and identification of the Amanita muscaria and Amanita pantherina toxins in human urine. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008; 29: 744-748.
18. STŘÍBRNÝ J, SOKOL M, MEROVÁ B, ONDRA P. GC/MS determination of ibotenic acid and muscimol in the urine of patients intoxicated with Amanita pantherina. *Int J Legal Med.* 2012; 126: 519-524.

1.3 *Anadenanthera peregrina* (yopo)



Nome: *Anadenanthera peregrina* L.

Famiglia: Mimosaceae

Genere: *Anadenanthera*

Specie: *Peregrina*

Sinonimi: yopo, cohoba

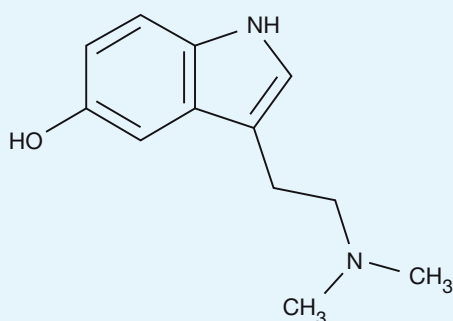
Provenienza: Caraibi, Sud America

Principi attivi: bufotenina (5-idrossi-N,N-dimetiltriptamina, 5-OH-DMT), 5-metossi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT), N,N-dimetiltriptamina (DMT)

L'*Anadenanthera peregrina* è un albero perenne nativo dei Caraibi e del Sud America i cui semi contengono triptamine allucinogene. Nello specifico, circa un 7% di bufotenina (5-idrossi-N,N-dimetiltriptamina, 5-OH-DMT), uno 0,04% di 5-metossi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT) e uno 0,16% di N,N-dimetiltriptamina (DMT)⁽¹⁾.

I semi di *Anadenanthera peregrina* vengono tostati e polverizzati per preparare lo “Yopo”, una polvere che viene inalata per le sue proprietà allucinogene dalle tribù indigene del sud-est di Venezuela, Colombia e Brasile⁽²⁾. Non ci sono dati scientifici consultabili che indichino la quantità di semi necessari a preparare lo Yopo. Secondo i forum di discussione su siti telematici dedicati a sostanze psicoattive, l'inalazione di una quantità di 3-4 semi di Yopo induce un periodo di forti allucinazioni della durata di circa 20-40 minuti seguiti da un periodo con maggiore sedazione e allucinazioni più tenui⁽³⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: bufotenina (5-idrossi-N,N-dimetiltriptamina) (5-OH-DMT).

Formula Molecolare: C₁₂H₁₆N₂O (peso molecolare = 204,3).

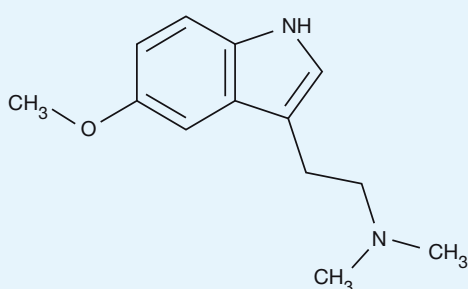
Nome sistematico: 3-(2-(dimetilamino)etil)-1H-indol-5-olo.

Numero di registro CAS: 487-93-4

Punto di fusione: 146,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dai relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in alcol etilico, acidi e basi diluite. Insolubile in acqua.



Nome: 5-metossi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT).

Formula Molecolare: C₁₃H₁₈N₂O (peso molecolare = 218,3).

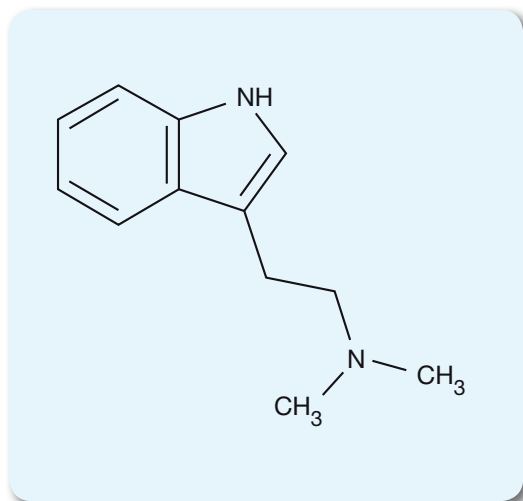
Nome sistematico: 5-metossi-N,N-dimetil-1H-indol-3-etilamina.

Numero di registro CAS: 1019-45-0.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dai relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dai relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: N,N-dimetiltriptamina (DMT).

Formula Molecolare: $C_{13}H_{18}N_2O$ (peso molecolare = 188,2)

Nome sistematico: N,N-dimetil-1H-indol-3-etilamina.

Numero di registro CAS: 61-50-7.

Punto di fusione: 44,6 - 46,8°C.

UVmax: 279-288 nm.

Solubilità: acido acetico.

Uso storico

Testimonianze archeologiche dimostrano che l'uso di polveri da inalare contenenti *Anadenanthera peregrina* è piuttosto antico e che era diffuso in tutta l'America Latina⁽⁴⁾. In diverse sepolture nel deserto nord-cileno di S. Pedro de Atacama sono stati trovati dei reperti risalenti a 500-1000 anni dopo Cristo, costituiti da borse contenenti oggetti lavorati quali tavolette su cui porre il preparato psicoattivo e tubi per inalare, oltre a campioni di polveri e semi di *Anadenanthera peregrina*⁽⁵⁾. Inoltre, si riporta che i marinai di Cristoforo Colombo furono i primi a notare in Brasile l'uso di una miscela da fumare, chiamata Cohoba, preparata a partire dall'*Anadenanthera peregrina*, dalla *Nicotiana tabacum* e da altre piante⁽⁶⁾. Questa veniva consumata come stimolante e allucinogeno dagli sciamani per fare profezie e divinazioni e proteggere la tribù da disgrazie, epidemie e malattie⁽⁶⁾.

Uso attuale

Alcuni gruppi etnici venezuelani nella valle dell'Orinoco utilizzano ancora lo Yopo, sniffato con canne di bambù o ossa di uccello, così come avveniva nell'antichità, per i loro riti sciamanici⁽⁷⁾ ed alcune tribù di regioni brasiliane e venezuelane utilizzano lo Yopo assieme alla pianta di *Banisteriopsis caapi* per aumentare e prolungare gli effetti visionari, creando un'esperienza simile a quella dell'Ayahuasca^(2,7). Questo perché, come già riportato nella monografia dell'Ayahuasca, la *Banisteriopsis caapi* contiene ammine in grado di bloccare le monoaminoossidasi, enzimi che metabolizzano le triptamine, e le sensazioni allucinogene che esse producono nell'organismo. Durante l'utilizzo dello Yopo nei riti sciamanici, inizialmente viene riferito un tremore dei muscoli del braccio e un'alterazione delle espressioni del viso. Dopo questa fase, gli sciamani iniziano a urlare in modo aggressivo invocando gli spiriti. Questa agitazione dura in media dai 30 ai 60 minuti. Segue la fase della trance in cui gli sciamani portano a conoscenza della tribù le loro visioni⁽⁶⁾.

I siti web che commercializzano le "Smart drugs" inseriscono i semi dell'*Anadenanthera peregrina* nella categoria dei prodotti etnobotanici o di orticoltura da non utilizzare per il consumo umano, anche se in realtà danno informazioni sia sul contenuto e sull'effetto delle triptamine che i semi contengono sia su come preparare la polvere da sniffare⁽⁸⁾.

Legislazione

In Italia, la N,N-dimetiltriptamina (DMT), è inserita nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Diversamente, né la bufotenina (5-OH-DMT) o la 5-metossi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT), né la pianta o i semi sono inseriti in tale o altre Tabelle del suddetto articolo. L'*Anadenanthera peregrina* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

L'*Anadenanthera peregrina* e le altre piante ad essa correlate sono di libera vendita negli Stati Uniti. Tuttavia la DMT, la bufotenina e, dal 2011, anche la 5-MeO-DMT sono sostanze incluse nella "Schedule I" del Controlled Substances Act statunitense.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non ci sono studi sulle proprietà farmacologiche della pianta di *Anadenanthera peregrina*, i cui semi vengono ricercati esclusivamente a scopo ricreazionale per la loro capacità di indurre effetti psicoattivi e allucinatori.

È possibile dedurre alcune proprietà farmaco-tossicologiche dell'*Anadenanthera peregrina* quale risultato dell'azione delle triptamine (DMT, 5-OH-DMT e 5-MeO-DMT) in essa contenute. Quest'ultime, strettamente correlate alla serotonina, hanno affinità per i recettori serotoninergici (5-HT) a livello dei quali agiscono come agonisti (Tabella 1)⁽⁹⁾.

La 5-MeO-DMT ha alta affinità per il recettore della serotonina 5-HT1A ed è dalle 4 alle 10 volte più potente della DMT⁽¹⁰⁾. Come la DMT, i suoi effetti psicoattivi sono di breve durata quando assunta per via orale e con gli inibitori degli enzimi monoaminoossidasi, in quanto in mancanza di essi la DMT è rapidamente metabolizzata nel tratto gastrointestinale proprio da questi enzimi. In contraddizione con questa affermazione, un recente studio dimostra l'azione della 5-MeO-DMT per via orale a dosi superiori a 30 mg senza ausilio di un MAO-inibitore⁽¹¹⁾. La via di assunzione comune di queste sostanze è quella intranasale o l'aspirazione delle sostanze vaporizzate nel fumo. Più raramente si sceglie la via iniettiva.

Tabella 1. Dosaggio, via di somministrazione, durata d'azione delle indolalchilamine (triptamine) contenute nell'*Anadenanthera peregrina*⁽⁸⁾

| Composto | Dosaggio (µg/kg) | Via di somministrazione | Durata dell'effetto psicoattivo (minuti) | Sito di legame |
|-----------|------------------|------------------------------|--|----------------------|
| DMT | 400 | Fumata/sniffata iniettata | 10-15 | 5-HT1A e C, 5-HT2 |
| 5-MeO-DMT | 200 | Fumata/sniffata iniettata | 10-20 | 5-HT1A, C e D, 5-HT2 |
| 5-OH-DMT | 50 | Fumata/sniffata | 10-20 | 5-HT1A, C e D, 5-HT2 |

Esperimenti naïve di alcuni consumatori riportano che la bufotenina ha effetti psicoattivi-allucinatori a differenti dosi in funzione della via di somministrazione (Tabella 2).

Tabella 2. Dosi psicoattive della bufotenina nell'uomo secondo le diverse vie di somministrazione

| Via di somministrazione | Dose (mg di bufotenina) |
|-------------------------|-------------------------|
| Intranasale | 40-100 |
| Sublinguale | 50 |
| Orale | 100 |
| Vaporizzazione | 2-8 |
| Rettale | 50 |

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'*Anadenanthera peregrina*.

Dati relativi alla tossicità acuta della bufotenina ⁽¹²⁾

Nella rana - DLLo dopo somministrazione parenterale: 2500 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 290 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intravenosa: 25 mg/kg

Nell'uomo - DTLo dopo somministrazione intravenosa: 57 µg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta della 5-metossi-N,N-dimetiltriptamina ⁽¹¹⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 115 mg/kg

Nel topo - DLLo dopo somministrazione subcutanea: 75 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta della N,N-dimetiltriptamina ⁽¹¹⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 47 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intravenosa: 32 mg/kg

Nell'uomo - DTLo dopo somministrazione intramuscolare: 1 mg/kg

Effetti avversi

I principali effetti avversi riportati a seguito dell'uso di Yopo sono le allucinazioni visive ⁽⁸⁾. La bufotenina contenuta nell'*Anadenanthera peregrina* sembra essere la responsabile di sensazioni quali: costrizione alla gola, schiacciamento del torace e ansia ⁽¹³⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della pianta. La somministrazione concomitante di 5-MeO-DMT, uno dei principi attivi contenuti nei semi di *Anadenanthera peregrina*, con armalina o altri MAO-inibitori può provocare casi d'intossicazione o addirittura la morte ⁽⁹⁾.

Effetti in gravidanza

Non sono riportate in letteratura dati sull'uso della pianta in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi dell'*Anadenanthera peregrina* nei liquidi biologici. Tuttavia, esistono in letteratura metodologie per la determinazione della N,N dimetiltriptamina nei liquidi biologici di assuntori della bevanda di *Ayahuasca* ⁽¹⁴⁻¹⁹⁾.

È invece presente in letteratura una metodologia analitica che utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa e alla spettroscopia ad infrarossi per l'analisi della bufotenina nei semi di *Anadenanthera peregrina* ⁽²⁰⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Determinazione della bufotenina nei semi di *Anadenanthera peregrina* ⁽²⁰⁾

Estrazione del campione

Un ml di urina viene addizionato con due diversi volumi di 3 ml di etere dietilico e miscelato per 10 minuti. Dopo centrifugazione, la fase organica viene raccolta e portata a secco sotto flusso di azoto. L'essiccato viene ricostituito con 50 µl di etile acetato e iniettato nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: J&W DB-5MS (0,25 µm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 250°C

Gas: elio con un flusso di 1,0 ml/min

Modalità di iniezione: split 50:1

Programmata di temperatura: 70°C per 2 minuti, 70°C - 300°C a 20°C/minuto, mantenuta a 300°C per 15 minuti.

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

bufotenina: 11,28 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

bufotenina: m/z 204, 146, 58

Standard

Lo standard di bufotenina è reperibile presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Trattandosi di un'analisi di tipo qualitativo, non viene descritta la creazione della curva di calibrazione.

Risultati

L'analisi dei semi di *Anadenanthera peregrina* conferma la presenza della bufotenina: non vengono invece determinate la DMT e 5-MeO-DMT.

Bibliografia

1. OTT J. Pharmañopo-psychonautics: human intranasal, sublingual, intrarectal, pulmonary and oral pharmacology of bufotenine. *J Psychoactive Drugs*. 2001; 33: 273-281.
2. RODD R. Snuff synergy: preparation, use, and pharmacology of yopo and Banisteriopsis Caapi among the Piaroa of southern Venezuela. *J Psychoactive Drugs*. 2002; 34: 273-279.
3. <http://www.psychonaut.com/piante/41318-anadenanthera-colubrina-yopo-cebil.html>
4. BÁEZ H, CASTRO MM, BENAVENTE AM, KINTZ P, CIRIMELE V, CAMARGO C, THOMAS C. Drugs in prehistory: chemical analysis of ancient human hair. *Forensic Sci Intern* 2000; 108: 173-179.
5. OGALDE JP, ARRIAZA BT, SOTO EC. Uso de plantas psicoactivas en el north de Chile: evidencia química del consumo de ayahuasca durante el periodo medio (500-1000 d.C.). *Latin American Antiquity*. 2010; 21: 441-450.
6. MARTINEZ ST, ALMEIDA MR, PINTO AC. Alucinógenos naturais: um voo da europa medieval ao brasil. *Quim. Nova*. 2009; 32: 2501-2507.
7. RODD R, SUMABILAA. Yopo, ethnicity and social change: a comparative analysis of Piaroa and Cuiva yopo use. *J Psychoactive Drugs*. 2011; 43: 36-45.
8. <http://www.shamanic-extracts.com/xcart/shamanic-products/anadenanthera-peregrina-yopo-seeds.html>
9. SALIH LH, KAUSHIK A. Mini review on psychedelic drugs: Illumination on the hidden aspects of mind. *AJPCT*. 2013; 1: 432-444.
10. SHEN HW, JIANG XL, WINTER JC, YU AM. Psychedelic 5-Methoxy-N,N-dimethyltryptamine: metabolism, pharmacokinetics, drug interactions, and pharmacological actions. *Curr Drug Metab*. 2010; 11: 659-666.
11. OTT J. Pharmepéna-Psychonautics: Human intranasal, sublingual and oral pharmacology of 5-methoxy-N,N-dimethyl-tryptamine. *J Psychoactive Drugs*. 2001; 33: 403-407.
12. Toxnet: <http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html>.
13. TORRES CM, REPKE DB. *Anadenanthera*. Visionary plant of ancient South America. Haworth Herbal Press, Inc., New York: 2006.
14. RIBA J, MCILHENNY EH, VALLE M, BOUSO JC, BARKER SA. Metabolism and disposition of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. *Drug Test Anal*. 2012; 4: 610-616.
15. MCILHENNY EH, RIBA J, BARBANOJ MJ, STRASSMAN R, BARKER SA. Methodology and the determination of the major constituents and metabolites of the Amazonian botanical medicine ayahuasca in human urine. *Biomed Chromatogr*. 2011; 25: 970-984.
16. OLIVEIRA CD, OKAI GG, DA COSTA JL, DE ALMEIDA RM, OLIVEIRA-SILVA D, YONAMINE M. Determination of dimethyltryptamine and β -carbolines (ayahuasca alkaloids) in plasma samples by LC-MS/MS. *Bioanalysis*. 2012; 4: 1731-1738.
17. MCILHENNY EH, RIBA J, BARBANOJ MJ, STRASSMAN R, BARKER SA. Methodology for determining major constituents of ayahuasca and their metabolites in blood. *Biomed Chromatogr*. 2012; 26: 301-313.
18. GAUJAC A, DEMPSTER N, NAVICKIENE S, BRANDT SD, ANDRADE JBD. Determination of N,N-dimethyltryptamine in beverages consumed in religious practices by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography ion trap mass spectrometry. *Talanta* 2013; 106: 394-398.
19. Ayahuasca in: "Smart Drugs" Segunda Edizione 2010, pp. 50-52: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
20. BLACKLEDGE RD, PHELAN CP. Identification of bufotenine in Yopo seeds via GC/IRD. *Microgram J*. 2006; 4: 3-11.

1.4 Areca catechu (areca-nut)



Nome: *Areca catechu* Linn

Famiglia: *Areaceae (Palmae)*

Genere: *Areca* L.

Specie: *Areca catechu* Linn

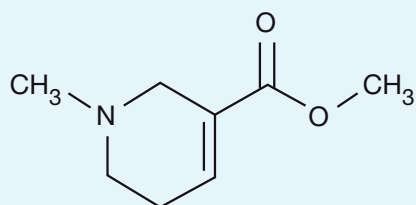
Sinonimi: noce di betel, areca, betel palm, pinang, bing lang, areca-nut, betel nut

Provenienza: originaria di Ceylon (Sri Lanka), Malesia, viene tuttavia coltivata in tutto il sud-est asiatico, in India ed in alcune regioni dell'Africa centro-orientale

Principi attivi: arecolina, arecaidina, guvacina e guvacolina

L'*Areca catechu* è una palma ad alto fusto. La noce di *Areca catechu* viene triturata in piccoli pezzi ed insieme all'idrossido di calcio e alle foglie del *Piper betle* (pepe betel) viene masticata (betel quid) oppure fumata, mescolata con il tabacco e racchiusa in foglie secche di pepe betel⁽¹⁾. La noce di Areca avrebbe presunti effetti stimolati, afrodisiaci e di resistenza alla fame⁽¹⁻³⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: arecolina.

Formula Molecolare: $C_8H_{13}NO_2$ (peso molecolare = 155,1).

Nome sistematico: 1,2,5,6,tetraidro-1-metil-3-acido piridincarbosilico metilestere.

Numero di registro CAS: 63-75-2.

Punto di fusione: $<25^{\circ}C$.

UVmax: non presenta assorbimento significativo, assorbe da 230 a 360 nm.

Solubilità: cloroformio, acqua, etere.



Nome: arecaidina.

Formula Molecolare: $C_7H_{11}NO_2$ (peso molecolare = 141,1).

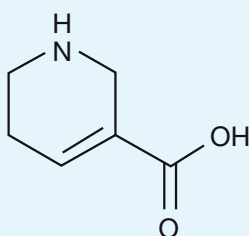
Nome sistematico: 1,2,5,6,tetraidro-1-acido metil-nicotinico.

Numero di registro CAS: 499-04-7.

Punto di fusione: $232^{\circ}C$.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.



Nome: guvacina.

Formula Molecolare: $C_6H_9NO_2$ (peso molecolare = 127,1).

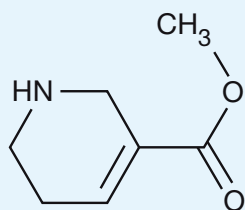
Nome sistematico: 1,2,5,6-acido tetraidronicotinico.

Numero di registro CAS: 498-96-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.



Nome: guvacolina (norarecolina).

Formula Molecolare: $C_7H_{11}NO_2$ (peso molecolare = 141,1).

Nome sistematico: 1,2,5,6-tetraidro 3-acido piridinocarbossilico metil estere.

Numero di registro CAS: 495-19-2.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

L'*Areca Catechu*, può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito l'arecolina in un elenco di sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici⁽⁴⁾ e i semi dell'*Areca Catechu* in un elenco di sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La noce di *Areca* è nota per le sue proprietà analgesiche, sedative e antidepressive^(6,7). La maggior parte delle sue proprietà farmaco-tossicologiche sono da attribuire all'arecolina, il principale alcaloide dell'*Areca catechu*. L'arecolina è uno stimolante del sistema nervoso centrale, ma presenta effetti antimuscarinici sulla muscolatura liscia e si lega ai recettori GABA nel cervello che contribuiscono agli effetti psicoattivi^(1,8,9).

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta dell'arecolina nel modello animale⁽¹⁰⁾.

Effetti avversi

L'assunzione della noce di *Areca* è associata allo sviluppo di diverse patologie quali: cancro esofageo, cancro al fegato, obesità, sindrome metabolica, malattie cardiache, schizofrenia⁽¹¹⁻¹⁸⁾ ed è, inoltre, uno dei maggiori responsabili dell'elevato numero di carcinomi della bocca e della laringe rilevato tra le popolazioni asiatiche⁽¹⁹⁾. L'arecolina è inoltre una sostanza con un potenziale genotossico, mutageno e cancerogeno⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Interazioni farmacologiche

Sono stati rilevati effetti extrapiramidali a seguito dell'interazione tra farmaci neurolettici e noce di *Areca*⁽²²⁾.

Effetti in gravidanza

L'utilizzo della noce di *Areca* durante la gravidanza è associato a: riduzione del peso alla nascita, parto pre-termine, morti neonatali e malformazioni fetali⁽²³⁻²⁶⁾. L'*Areca*, soprattutto quando combinata con il tabacco, possiede un potenziale fetotossico ad alte dosi e riduce la fertilità^(24,27,28).

Determinazioni Analitiche

Recentemente è stato pubblicato un metodo analitico che utilizza un gas cromatografo accoppiato alla spettrometria di massa per l'analisi di bustine contenenti trinciato di noce di areca con pepe betel masticabili, molto diffuse nel continente indiano (indian pouches)⁽²⁹⁾.

Sono state pubblicate diverse metodologie per l'analisi dei principi attivi dell'*Areca catechu* in liquidi biologici di consumatori⁽³⁰⁻³²⁾.

Di questi metodi analitici, due utilizzano una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione e quantificazione dell'arecolina, dell'arecaidina^(30,31) e dell'acido N-metilnipecotico, metabolita di entrambi gli alcaloidi dell'*Areca*⁽³²⁾ in campioni di sangue⁽³⁰⁾ e di urina⁽³¹⁾ di consumatori abituali. Il terzo metodo analitico utilizza un cromatografo liquido associato ad uno spettrometro di massa per la determinazione dell'arecolina nella saliva⁽³²⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dell'arecolina, dell'arecaidina e dell'acido N-metilnipecotico nelle urine⁽³¹⁾

Estrazione del campione

I campioni di urina raccolti vengono riscaldati a 37°C per 10 minuti. Dopo centrifugazione a 5000 rpm, 20 µl sono diluiti dieci volte con una soluzione al 2% di alcol metilico contenente 0,1% di acido trifluoroacetico. 50 µl di campione così diluito viene caricato su un sistema di purificazione automatico provvisto di colonna per l'estrazione in fase solida (SPE) (Inertsil ODS-3, 75 × 2.1 mm, 5 µm) precedentemente condizionata con una soluzione al 2% di alcol metilico contenente 0,1% di acido trifluoroacetico. La colonna SPE viene lavata con la soluzione al 2% di alcol metilico contenente 0,1% di acido trifluoroacetico per 1,8 minuti e successivamente una valvola trasferisce parte dell'estratto nella posizione di iniezione nella colonna separativa del cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Inertsil ODS-3 C18 (250 x 2,1 mm x 5 µm)

Fase mobile A: soluzione al 2% di alcol metilico contenente 0,1% di acido formico

Fase mobile B: soluzione al 50% di alcol metilico contenente 0,1% di acido formico

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile B: 0% nell'intervallo 0,00-5,10 minuti; fino al 17% nell'intervallo 5,11-7,00 minuti, mantenuto per due minuti; fino al 100% nell'intervallo 9,01-9,1 minuti, mantenuto per 1,9 minuti; fino allo 0% nell'intervallo 11,01-11,10 minuti)

Flusso: 0,2 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa tandem con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del gas di evaporazione: 450°C

Temperatura del gas di nebulizzazione: 450°C

Voltaggio dell'ago: 5.5 kV

Energia di collisione: 35 V per l'arecolina, 30 V per l'arecolina-d₃ e l'arecaidina-d₃, 25 V per l'arecaidina, l'acido N-metilnipecotico e acido N-metilnipecotico-d₃.

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

arecaidina: 7,2 min

arecaidina-d₃ (standard interno): 7,2 min

acido N-metilnipecotico: 7,4 minuti

acido N-metilnipecotico-d₃ (standard interno): 7,4 min

arecolina: 9,9 min

arecolina-d₃ (standard interno): 9,9 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

arecaidina: m/z 142 → 99, 142 → 44

arecaidina-d₃ (standard interno): m/z 145 → 47

acido N-metilnipecotico: m/z 144 → 126, 144 → 98

acido N-metilnipecotico-d₃ (standard interno): m/z 147 → 73

arecolina: m/z 156 → 113, 156 → 44

arecolina-d₃ (standard interno): m/z 159 → 47

Standard

Gli standard dell'arecolina e dell'arecaidina sono stati acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia). Lo standard di acido N-metilnipecotico è stato acquistato presso la ditta Oakwood Product (West Columbia, SC, USA).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione dell'arecolina, dell'arecaidina e dell'acido N-metilnipecotico vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di urina di controllo.

Risultati

L'analisi viene eseguita su 33 campioni provenienti da soggetti che masticano regolarmente noce di Areca. Le concentrazioni medie dei diversi principi attivi nei campioni di urina raccolti sono pari a:

Arecolina: 23,9 ng/mg creatinina

Arecaidina: 5,816 ng/mg creatinina

Acido N-metilnipecotico: 1,298 ng/mg creatinina

Bibliografia

1. GUPTA PC, WARNAKULASURIYA S. Global epidemiology of areca nut usage. *Addict Biol.* 2002; 7: 77-83.
2. Areca Nut in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p.19: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
3. Areca Nut in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p.15: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
4. Elenco delle sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_145_listaFile_itemName_0_file.pdf
5. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
6. BHANDARE AM, KSHIRSAGAR AD, VYAWAHARE NS, HADAMBAR AA, THORVE VS. Potential analgesic, anti-inflammatory and antioxidant activities of hydroalcoholic extract of *Areca catechu* L. nut. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 3412-3417.
7. JAISWAL P, KUMAR P, SINGH VK, SINGH DK. *Areca catechu* L.: a valuable herbal medicine against different health problems. *Res J Med Plant.* 2011; 5: 145-152.
8. WINSTOCK A. Areca nut-abuse liability, dependence and public health. *Addict Biol.* 2002; 7: 133-138.
9. MIRZA SS, SHAFIQUE K, VART P, ARAIN MI. Areca nut chewing and dependency syndrome: is the dependence comparable to smoking? A cross sectional study. *Subst Abuse Treat Prev Policy.* 2011; 6: 23.
10. Areca Nut in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 17: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
11. LIN MY, CHEN MC, WU IC, WU DC, CHENG YJ, WU CC, CHAI CY, LEE JM, WU MT. Areca users in combination with tobacco and alcohol use are associated with younger age of diagnosed esophageal cancer in Taiwanese men. *PLoS One.* 2011; 6: e25347.
12. WEN CP, TSAI MK, CHUNG WS, HSU HL, CHANG YC, CHAN HT, CHIANG PH, CHENG TY, TSAI SP. Cancer risks from betel quid chewing beyond oral cancer: a multiple-site carcinogen when acting with smoking. *Cancer Causes Control.* 2010; 21: 1427-1435.
13. LIN WY, PI-SUNYER FX, LIU CS, LI TC, LI CI, HUANG CY, LIN CC. Betel nut chewing is strongly associated with general and central obesity in Chinese male middle-aged adults. *Obesity.* 2009; 17: 1247-1254.
14. YEN AM, CHIU YH, CHEN LS, WU HM, HUANG CC, BOUCHER BJ, CHEN TH. A population-based study of the association between betel-quid chewing and the metabolic syndrome in men. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83: 1153-1160.
15. LIN WY, CHIU TY, LEE LT, LIN CC, HUANG CY, HUANG KC. Betel nut chewing is associated with increased risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in Taiwanese men. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87: 1204-1211.
16. IQBAL MP, MEHBOOBALI N, HAIDER G, PERVEZ S, AZAM I. Effects of betel nut on cardiovascular risk factors in a rat model. *BMC Cardiovasc Disord.* 2012; 12: 94-100.
17. SULLIVAN RJ, ANDRES S, OTTO C, MILES W, KYDD R. The effects of an indigenous muscarinic drug, Betel nut (*Areca catechu*), on the symptoms of schizophrenia: a longitudinal study in Palau, Micronesia. *Am J Psychiatry.* 2007; 164: 670-673.
18. ALI NS, KHAWAJA AK. In: Nuts and seeds in health and disease prevention. Preedy V, Watson R, Patel V, editor. New York: Elsevier Inc; 2011. Betel nut (*Areca catechu*) and its effects on health; pp. 197-203.
19. HU CW, CHAO MR. Direct-acting DNA alkylating agents present in aqueous extracts of areca nut and its products. *Chem Res Toxicol.* 2012; 25: 2386-2392.
20. LIN CC, CHANG MC, CHANG HH, WANG TM, TSENG WY, TAI TF, YEH HW, YANG TT, HAHN LJ, JENG JH. Areca nut-induced micronuclei and cytokinesis failure in Chinese hamster ovary cells is related to reactive oxygen species production and actin filament deregulation. *Environ Mol Mutagen.* 2009; 50: 367-374.
21. SHARAN RN, MEHROTRA R, CHOUDHURY Y, ASOTRA K. Association of betel nut with carcinogenesis: revisit with a clinical perspective. *PLoS One.* 2012; 7: e42759.
22. COPPOLA M, MONDOLA R. Potential action of betel alkaloids on positive and negative symptoms of schizophrenia: a review. *Nord J Psychiatry.* 2012; 66: 73-78.
23. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC), WHO, Betel-quid and areca-nut chewing and some areca-nut-derived nitrosamines. Summary of data reported and evaluation, vol. 85; 2004. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol85/volume85.pdf>
24. KUMAR S. Tobacco and areca nut chewing-Reproductive impairments: An overview. *Reprod Toxicol.* 2013; 36: 12-17.
25. SENN M, BAIWOG F, WINMAI J, MUELLER I, ROGERSON S, SENN N. Betel nut chewing during pregnancy, Madang province, Papua New Guinea. *Drug Alcohol Depend.* 2009; 105: 126-131.
26. LIU ST, YOUNG GC, LEE YC, CHANG YF. A preliminary report on the toxicity of arecoline on early pregnancy in mice. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 144-148.
27. KUMARIA, GAUTAM AK, LAKKAD BC, KUMAR S. In utero and lactation exposure of mice to panmasala: effect on dams and pregnancy outcome. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2011; 30: 71-81.
28. CHUE AL, CARRARA VI, PAW MK, PIMANPANARAK M, WILADPHAINGERN J, VAN VUGT M, LEE SJ, NOSTEN F, MCGREADY R. Is areca innocent? The effect of areca (betel) nut chewing in a population of pregnant women on the Thai-Myanmar border. *Int Health.* 2012; 4: 204-209.
29. ROTOLO MC, PELLEGRINI M, BOSE D, MARCHEI E, DURGBANSHI A, PICHINI S. Systematic toxicological analysis of Indian herbal ready-to-chew pouches by gas chromatography mass spectrometry. *Ann Toxicol Anal.* 2011; 23: 205-210.
30. WU IC, CHEN PH, WANG CJ, WU DC, TSAI SM, CHAO MR, CHEN BH, LEE HH, LEE CH, KO YC. Quantification of blood betel quid alkaloids and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine in humans and their association with betel chewing habits. *J Anal Toxicol.* 2010; 34: 325-331.
31. HU CW, CHANG YZ, WANG HW, CHAO MR. High-throughput simultaneous analysis of five urinary metabolites of areca nut and tobacco alkaloids by isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry with on-line solid-phase extraction. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010; 19: 2570-2578.
32. COX S, VICKERS ER, GHU S, ZOELLNER H. Salivary arecoline levels during areca nut chewing in human volunteers. *J Oral Pathol Med.* 2010; 39: 465-469.

1.5 Argemone mexicana (prickly poppy)



Nome: *Argemone mexicana*

Famiglia: *Papaveraceae*

Genere: *Argemone* L.

Specie: *Argemone mexicana* L.

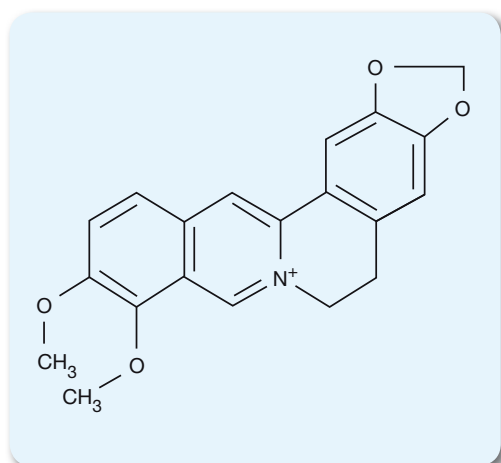
Sinonimi: mexican prickly poppy, “cardo santo”, chicolate

Provenienza: originaria dell’America Centrale, in particolare del Messico

Principi attivi: berberina, protopina, sanguinarina, diidrosanguinarina, allocriptopina, cheleritrina, coptisina

L’*Argemone mexicana*, comunemente conosciuta come prickly poppy, è originaria dell’America Centrale, del Messico e delle Indie⁽¹⁾. I diversi alcaloidi isochinolinici contenuti nella pianta sono: berberina, protopina, sanguinarina, diidrosanguinarina, allocriptopina, cheleritrina, coptisina⁽²⁾. Recentemente sono stati identificati altri alcaloidi quali: deidrocoridalmina, jatrorrizina, columbamina, ossiberberina, protomessicina⁽³⁻⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: berberina.

Formula Molecolare: $[C_{20}H_{18}NO_4]^+$ (peso molecolare = 336,4).

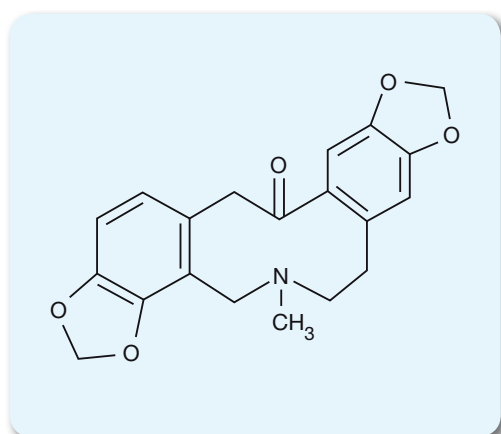
Nome sistematico: 5,6-diidro-9,10-dimetossibenzo(g)-1,3-benzodiossolo(5,6-a)quinolizinio.

Numero di registro CAS: 2086-83-1.

Punto di fusione: 145°C.

UVmax: 265, 343 nm.

Solubilità: dissolve lentamente in acqua.



Nome: protopina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{19}NO_5$ (peso molecolare = 353,4).

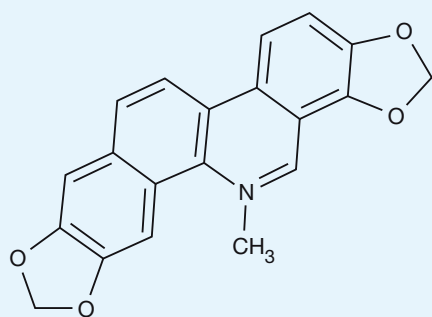
Nome sistematico: 4,6,7,14-tetraidro-5-metil-bis(1,3)-benzodiossolo(4,5-c-5',6'-g)azecin-13(5H)-one.

Numero di registro CAS: 130-86-9.

Punto di fusione: 208°C.

UVmax: 239, 291, in alcol etilico 95% = 293 nm.

Solubilità: solubile in acetato di etile, bisulfide di carbonio, benzene, petrolio, etere. Praticamente insolubile in acqua.



Nome: sanguinarina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{14}NO_4$ (peso molecolare = 332,3).

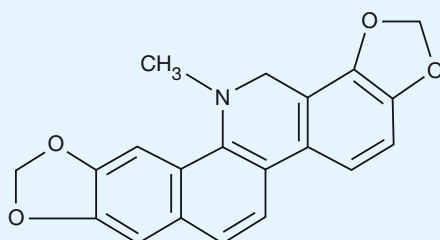
Nome sistematico: 13-metil(1,3)benzodiossolo(5,6-c)-1,3-diossolo-(4,5-i)fenantridina.

Numero di registro CAS: 2447-54-3.

Punto di fusione: 273-274°C.

UVmax: 234, 283, 325 nm (alcol metilico).

Solubilità: solubile in alcol, cloroformio, acetone, acetato di etile.



Nome: diidrosanguinarina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{15}NO_4$ (peso molecolare = 333,3).

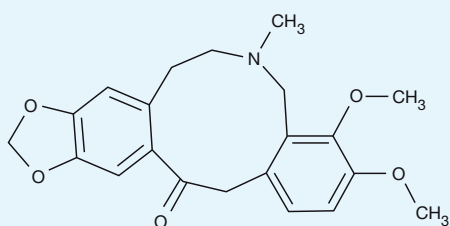
Nome sistematico: 13,14-diidro-13-metil(1,3)benzodiossolo(5,6-c)-1,3-diossolo(4,5-i)fenantridina.

Numero di registro CAS: 3606-45-9.

Punto di fusione: 188-189°C.

UVmax: 237, 284, 322 nm (alcol etilico).

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: allocriptopina.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{23}NO_5$ (peso molecolare = 369,4).

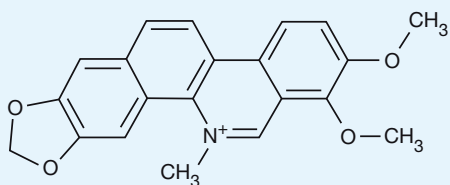
Nome sistematico: 5,7,8,15-tetraidro-3,4-dimetossi-6-metil(1,3)benzodiossolo(5,6-e)(2)benzazecin-14(6H)-one.

Numero di registro CAS: 485-91-6.

Punto di fusione: 160-161°C.

UVmax: 232, 284 nm.

Solubilità: solubile in alcol, cloroformio, etere, acetato di etile e acidi diluiti.



Nome: cheleritina.

Formula Molecolare: $[C_{21}H_{18}NO_4]^+$ (peso molecolare = 348,4).

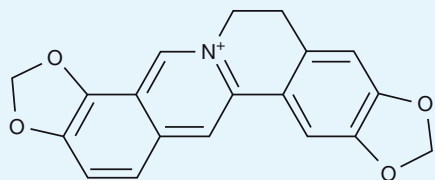
Nome sistematico: 1,2-dimetossi-12-metil(1,3)benzodiossolo(5,6-c)fenantridinio.

Numero di registro CAS: 34316-15-9.

Punto di fusione: 200-206°C.

UVmax: 226, 283, 320 nm.

Solubilità: solubile in dimetilsolfossido (DMSO), alcol etilico, etere di petrolio. Non solubile in acqua.



Nome: coptisina.

Formula Molecolare: $[C_{19}H_{14}NO_4]^+$ (peso molecolare = 320,3).

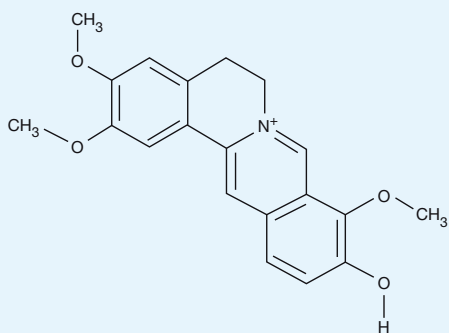
Nome sistematico: 6,7-diidrobis(1,3)benzodiossolo(5,6-a:4',5'-g)quinolizinio.

Numero di registro CAS: 3486-66-6.

Punto di fusione: 218°C.

UVmax: 229, 244, 267, 353.

Solubilità: molto poco solubile in acqua, parzialmente solubile in alcol, solubile in alcali.



Nome: deidrocoridalmina.

Formula Molecolare: $[C_{20}H_{20}NO_4]^+$ (peso molecolare = 338,4)

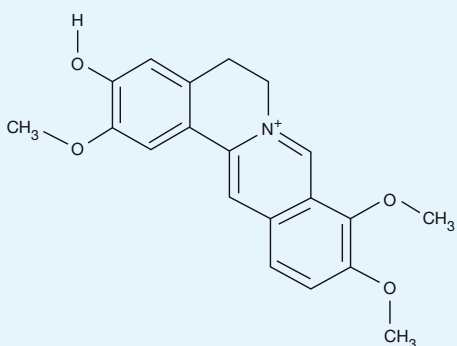
Nome sistematico: 5,6-diidro-10-idrossi-2,3,9-trimetossi-dibenzo(a,g)quinolizinio.

Numero di registro CAS: 6877-27-6.

Punto di fusione: 250-252°C

UVmax: 226, 265, 350, 430 nm.

Solubilità: sotto forma di sale solubile in acqua. Sotto forma di base solubile nei più comuni solventi organici.



Nome: jatrorrizina.

Formula Molecolare: $[C_{20}H_{20}NO_4]^+$ (peso molecolare = 338,4).

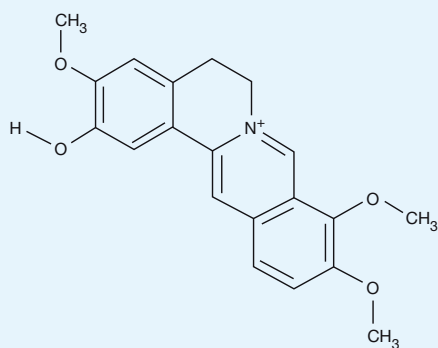
Nome sistematico: 5,6-diidro-3-idrossi-2,9,10-trimetossi-dibenzo(a,g)quinolizinio.

Numero di registro CAS: 3621-38-3.

Punto di fusione: 205-206°C.

UVmax: 229, 266, 349, 429 nm.

Solubilità: sotto forma di sale solubile in acqua. Sotto forma di base solubile nei più comuni solventi organici ⁽⁶⁾.



Nome: columbamina.

Formula Molecolare: $[C_{20}H_{20}NO_4]^+$ (peso molecolare = 338,4)

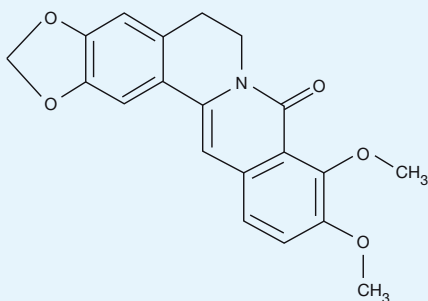
Nome sistematico: 5,6-diidro-2-idrossi-3,9,10-trimetossi-dibenzo(a,g)quinolizinio.

Numero di registro CAS: 3621-36-1.

Punto di fusione: 209-211°C.

UVmax: 230, 266, 355, 432 nm.

Solubilità: sotto forma di sale solubile in acqua. Sotto forma di base solubile nei più comuni solventi organici ⁽⁶⁾.



Nome: ossiberberina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{17}NO_5$ (peso molecolare = 351,35).

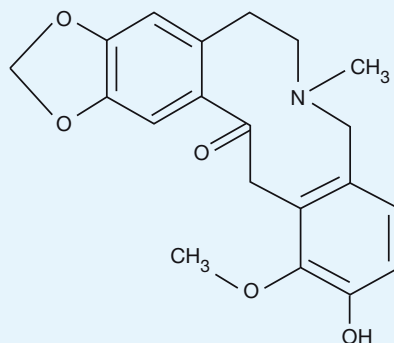
Nome sistematico: 13,13a-dideidro-9,10-dimetossi-2,3-(metilenediossi)- 8-berbinone.

Numero di registro CAS: 549-21-3.

Punto di fusione: 198-200°C.

UVmax: 222, 290, 340 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: protomessicina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{21}NO_5$ (peso molecolare = 355,38).

Nome sistematico: 2-idrossi-1-metossi-6-metil-5,7,8,15-tetraidrobenzo[c][1,3]benzodiossolo[5,6-g]azecin-14(6H)-one.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: 173-175°C.

UVmax: 220, 238, 290 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

L'*Argemone mexicana* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito il fiore, la foglia la radice, il seme e l'olio, dell'*Argemone mexicana* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari ⁽⁷⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Sono state studiate le proprietà terapeutiche dell'*Argemone mexicana* ^(8,9). L'estratto della pianta si è mostrato efficace come ipoglicemizzante ⁽¹⁰⁾, antiossidante ^(11,12), antielmintico ⁽¹³⁾, epatoprotettivo ⁽¹⁴⁾ e come analgesico, ansiolitico e sedativo ⁽¹⁵⁾. Possiede, inoltre, attività antibatterica ⁽¹⁶⁻¹⁹⁾, citotossica ⁽²⁰⁾ e attività anti HIV ⁽²¹⁾.

Sebbene siano stati identificati altri alcaloidi della pianta (deidrocoridalmina, jatrorrizina, columbamina, ossiberberina, protomessicina) ^(3,4), non ci sono studi sulle loro eventuali proprietà farmacologiche in modello animale o umano.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha in corso nello stato del Mali (Africa) uno studio sulla farmacocinetica, farmacodinamica e tollerabilità del decotto di parti aeree dell'*Argemone mexicana* in volontari sani infettati e non con *Plasmodium Falciparum* ⁽²²⁾. L'*Argemone mexicana* infatti è una pianta medicinale utilizzata tradizionalmente da popolazioni africane per l'attività antimalarica ⁽²³⁻²⁵⁾.

Tossicità

Sono riportati in letteratura dati riguardanti la dose letale 50 (DL50) nel topo dell'ossiberberina dopo somministrazione intraperitoneale (240 mg/kg) ⁽⁶⁾ e della coptisina dopo somministrazione orale (852,1 mg/kg di peso corporeo) ⁽²⁶⁾. Sono noti i dati di tossicità acuta dei principali alcaloidi dell'*Argemone mexicana* in modello animale ⁽²⁷⁾.

L'estratto acquoso delle foglie di *Argemone mexicana* non produce nel ratto un effetto avverso osservabile (NOAEL, No Observed Adverse Effect Level) alla dose di 1000 mg/Kg di peso corporeo ⁽²⁸⁾.

Effetti avversi

Segni di avvelenamento con sedazione, inerzia, lentezza, contrazioni addominali ma anche opacità corneale ed edema sono stati segnalati recentemente dopo il consumo di olio commestibile adulterato con olio di *Argemone*⁽⁶⁾. Studi sperimentali e clinici suggeriscono che la pelle, il fegato, i polmoni, i reni ed il cuore siano i siti bersaglio dell'intossicazione da olio di *Argemone*⁽²⁹⁾. Infine studi su modello animale hanno da poco messo in luce il potenziale genotossico e cancerogeno dell'olio di *Argemone* e della sanguinarina se applicati topicamente⁽³⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono note possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

L'uso di *Argemone mexicana* è sconsigliato nelle donne in gravidanza o in allattamento⁽³¹⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi dell'*Argemone mexicana* nei liquidi biologici. Tuttavia, esistono in letteratura, tre diverse metodologie per la determinazione degli alcaloidi presenti nel San-Huang e nella Zoujinwan (miscele di diverse piante tra cui la *Coptis chinensis*) e nella *Chelidonium majus*⁽³²⁻³⁴⁾ in plasma animale. La *Coptis chinensis* e la *Chelidonium majus* contengono alcuni alcaloidi presenti anche nell'*Argemone mexicana*.

Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad un rivelatore in spettrometria di massa⁽³²⁾ utile per isolare ed identificare la berberina e la jatrorrizina nel plasma di coniglio dopo somministrazione orale di decotto di San-Huang. Il secondo e il terzo metodo analitico utilizzano un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione simultanea, in plasma di ratto, della berberina e della jatrorrizina dopo somministrazione orale dell'estratto di Zoujinwan⁽³³⁾ e della protopina, coptisina, sanguinarina e cheleritrina dopo somministrazione intragastrica dell'estratto di *Chelidonium majus* L.⁽³⁴⁾

È stato inoltre messo a punto un metodo d'analisi in gas cromatografia-spettrometria di massa per la determinazione di ventitré diversi alcaloidi estratti da piante del genere *Argemone* e del genere *Eschscholzia*⁽³⁵⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della protopina, coptisina, sanguinarina e cheleritrina in plasma di ratto⁽³⁴⁾

Estrazione del campione

A 50 µl di plasma vengono aggiunti 50 µl di una miscela di alcol metilico/acqua (50:50, v/v) e 50 µl di acido cloridrico 0,12 M. Dopo aver agitato il campione su un vortex per un minuto si aggiungono 1,5 ml di una miscela di acetato d'etile/diclorometano (4:1, v/v). La soluzione viene miscelata per 10 minuti in un agitatore prima di essere centrifugata per 5 minuti a 3500 rpm. La fase organica viene prelevata, portata a secco sotto flusso d'azoto a 37°C e ricostituita con 100 µl di fase mobile (30% acetonitrile e 70% acqua a pH 2,3 con acido formico). Un volume di 20 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Diamonsil C18 (150 x 4.6 mm x 5 µm)

Fase mobile: 30% acetonitrile e 70% acqua a pH 2,3 con acido formico

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 0,4 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa tandem con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del capillare: 270°C

Voltaggio dell'ago: 4,2 kV

Energia di collisione: 32 V per la protopina, 38 V per la coptisina, 39 V per la sanguinarina e 30 V per la cheleritina e la palmatina (standard interno).

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

protopina: 5,51 min

coptisina: 6,43 min

palmatina (standard interno): 7,47 min

sanguinarina: 7,68 min

cheleritina: 11,48 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

protopina: m/z 354,4 → 334,5, 354,4 → 188,3

coptisina: m/z 320,5 → 292,2, 320,5 → 262,3

palmatina (standard interno): m/z 352,0 → 335,9, 352,0 → 307,8

sanguinarina: m/z 332,1 → 274,2, 332,1 → 246,3

cheleritina: m/z 348,0 → 332,5, 348,0 → 304,5

Standard

Gli standard delle sostanze utilizzate nelle analisi sono stati acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione della protopina (range di concentrazioni: 0,197-39,4 ng/ml), della coptisina (range di concentrazioni: 0,361-72,3 ng/ml), della sanguinarina (range di concentrazioni: 1,27-243 ng/ml), della cheleritina (range di concentrazioni: 0,248-49,6 ng/ml) e dei campioni utilizzati per il controllo di qualità della protopina (0,394, 3,94 e 31,5 ng/ml), della coptisina (0,723, 7,23 e 57,8 ng/ml), della sanguinarina (2,25, 22,5 e 180 ng/ml), della cheleritina (0,496, 4,96 e 39,7 ng/ml) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota in campioni di plasma di controllo.

Risultati

L'analisi viene eseguita su campioni di plasma di ratto dopo somministrazione intragastrica di 0,4 g/kg dell'estratto di *Chelidonium majus* L. per studiare le proprietà farmacocinetiche della protopina, della coptisina, della sanguinarina e della cheleritina.

Gli autori riportano che gli alcaloidi analizzati sono rapidamente assorbiti dopo la somministrazione, con un valore di tempo di picco (T_{max}) che varia da 1,17 h a 1,75 ore e che la concentrazione massima (C_{max}) della sanguinarina ($40,6 \pm 9,2$ ng/ml) è dalle 5 alle 8 volte superiore rispetto a quella degli altri alcaloidi (protopina: $6,42 \pm 1,31$ ng/ml; coptisina: $8,11 \pm 3,17$ ng/ml; cheleritina: $5,06 \pm 3,62$ ng/ml).

Bibliografia

1. SCHLOTTERBERCK JO. Does "Argemone mexicana" contain morphine? J Am Chem Soc. 1902; 24: 238-242.
2. DASH GK, MURTHY PN. Evaluation of Argemone mexicana Linn. Leaves for wound healing activity. J Nat Prod Plant Resour. 2011; 1: 46-56.
3. SINGH S, SINGH TD, SINGH VP, PANDEY VB. Quaternary alkaloids of Argemone mexicana. Pharm Biol. 2010; 48: 158-160.
4. SINGH S, PANDEY VB, SINGH TD. Alkaloids and flavonoids of Argemone mexicana. Nat Prod Res. 2012; 26: 16-21.
5. Argemone mexicana in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 26: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. GRYSOVÁ L, DOSTÁL J, MAREK R. Quaternary protoberberine alkaloids. Phytochemistry. 2007; 68: 150-175.

7. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari:http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
8. RAJVAIDHYA S, NAGORI BP, SINGH GK, DUBEY BK, DESAI P, JAIN S. A review on argemone mexicana linn. - an indian medicinal plant. IJPSR, 2012; 3: 2494-2501.
9. PRIYA CL, RAO KVB. Ethanobotanical and current ethanopharmacological aspects of argemone mexicana linn: an overview. IJPSR, 2012; 3: 2143-2148.
10. ROUT SP, KAR DM, MANDAL PK. Hypoglycaemic activity of aerial parts of Argemone mexicana l in experimental rat models. Int J Pharm Pharm Sci. 2011; 3: 533-540.
11. PERUMAL P, SEKAR V, RAJESH V, GANDHIMATHI S, KUMAR RS, NAZIMUDIN KHS. In vitro Antioxidant Activity of Argemone mexicana Roots. Int J ChemTech Res. 2010; 2: 1477-1482
12. SRIVASTAVA N, CHAUHAN AS, SHARMA B. Isolation and characterization of some phytochemicals from Indian traditional plants. Biotechnol Res Int. 2012; Article ID 549850 Biotechnol Res Int. 2012; 549850, Published online 2012 December 11.
13. MAJEED A, TAJU G, NATHIGA NAMBI KS, MENAKA H. Anthelmintic activity of Argemone mexicana leaves extract against Pheretima prosthuma and Ascaridia galli. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2011; 2: 773-777.
14. DAS PK, SETHI R, PANDA P, PANI SR. Hepatoprotective activity of plant Argemone mexicana (linn) against carbon tetrachloride (ccl4) induced hepatotoxicity in rats. Int J Pharm Res Dev. 2009; 8: 1-20.
15. ANARTHE S, CHAUDHARI S. Neuropharmacological study of Argemone mexicana Linn. JAPS 2011; 1: 121-126.
16. ROSAS-PINÓN Y, MEJÍA A, DÍAZ-RUIZ G, AGUILAR MI, SÁNCHEZ-NIETO S, RIVERO-CRUZ JF. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. J Ethnopharmacol. 2012; 141: 860-865.
17. BHATTACHARJEE I, CHATTARJEE SK, CHANDRA G. Isolation and identification of antibacterial components in seed extracts of Argemone mexicana L. (Papaveraceae). Asian Pac J Trop Med. 2010; 3: 547-551.
18. SHAHEDUR RAHMAN MD, FAIZUS SALEHIN MD, PARVIN A, ALAM K: Antibacterial activity of Argemone mexicana L against water borne microbes. J Med Plants Res. 2011; 5: 621-626.
19. SAHUA MC, DEBATAB NK, PADHYA RN. Antibacterial activity of Argemone mexicana L. against multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa, isolated from clinical samples. Asian Pac J Trop Med. 2012; 2: S800-S807.
20. UDDIN SJ, GRICE ID, TIRALONGO E. Cytotoxic effects of bangladeshi medicinal plant extracts. Evid Based Complement Alternat Med. 2011; 578092. Published on line 2011 January 12.
21. SABDE S, BODIWALA HS, KARMASE A, DESHPANDE PJ, KAUR A, AHMED N, CHAUTHE SK, BRAHMBHATT KG, PHADKE RU, MITRA D, BHUTANI KK, SINGH IP. Anti-HIV activity of Indian medicinal plants. J Nat Med. 2011; 65: 662-669.
22. ClinicalTrials.gov: Phase 1b Clinical Trial Using Argemone Mexicana in Healthy Adults Infected or Not Infected With Plasmodium Falciparum in Mali: Pharmacokinetics and Observational Study. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01645254>.
23. WILLCOX ML, GRAZ B, FALQUET J, SIDIBÉ O, FORSTER M, DIALLO D. Argemone mexicana decoction for the treatment of uncomplicated falciparum malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2007; 101: 1190-1198.
24. GRAZ B, WILLCOX ML, DIAKITE C, FALQUET J, DACKUO F, SIDIBE O, GIANI S, DIALLO D. Argemone mexicana decoction versus artesunate-amodiaquine for the management of malaria in Mali: policy and public-health implications. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2010; 104: 33-41.
25. WILLCOX ML, GRAZ B, DIAKITE C, FALQUET J, DACKOUO F, SIDIBE O, GIANI S, DIALLO D. Is parasite clearance clinically important after malaria treatment in a high transmission area? A 3-month follow-up of home-based management with herbal medicine or ACT. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2011; 105: 23-31.
26. YI J, YE X, WANG D, HE K, YANG Y, LIU X, LI X. Safety evaluation of main alkaloids from Rhizoma Coptidis. J Ethnopharmacol. 2013; 145: 303-310.
27. Argemone mexicana in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 28: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
28. BHATNAGAR U, ARORA S, VISHWASE G, TAMBOLI S. Reproductive and developmental toxicity evaluation of desoris (LLL 3348) in Wistar rats. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 2009; 28: 361-370.
29. BABU CK, ANSARI KM, MEHROTRA S, PATEL S, DIKSHIT M, DAS M. Activation of inflammatory response and apoptosis of polymorphonuclear leukocytes in patients with argemone oil poisoning. Chem Biol Interact. 2012; 183: 154-164.
30. ANSARI KM, DAS M. Potentiation of tumour promotion by topical application of argemone oil/isolated sanguinarine alkaloid in a model of mouse skin carcinogenesis. Chem Biol Interact. 2010; 188: 591-597.
31. WAIZEL HAIAT S, WAIZEL BUCAY J. Algunas plantas utilizadas en México para el tratamiento del asma. An Orl Mex. 2009; 54: 145-171.
32. LIU F, LI Z, SHI X, ZHONG M. Determination of berberine, palmatine and jatrorrhizine in rabbit plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. J Pharm Biomed Anal. 2011; 56: 1006-1015.
33. DENG Y, LIAO Q, LI S, BI K, PAN B, XIE Z. Simultaneous determination of berberine, palmatine and jatrorrhizine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in rat plasma and its application in a pharmacokinetic study after oral administration of coptis-evodia herb couple. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2008; 863: 195-205.
34. ZHOU Q, LIU Y, WANG X, DI X. A sensitive and selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of five isoquinoline alkaloids from Chelidonium majus L. in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study. J Mass Spectrom. 2013; 48: 111-118.
35. CAHLÍKOVÁ L, KUCERA R, HOST'ÁLKOVÁ A, KLIMES J, OPLETAL L. Identification of pavinane alkaloids in the genera Argemone and Eschscholzia by GC-MS. Nat Prod Commun. 2012; 7: 1279-1281.

1.6 *Argyreia nervosa* (hawaiian baby woodrose)



Nome: *Argyreia nervosa*, *Argyreia speciosa*

Famiglia: *Convolvulaceae*

Genere: *Argyreia* Lour

Specie: *Argyreia nervosa* (Burm. F. Bojer)

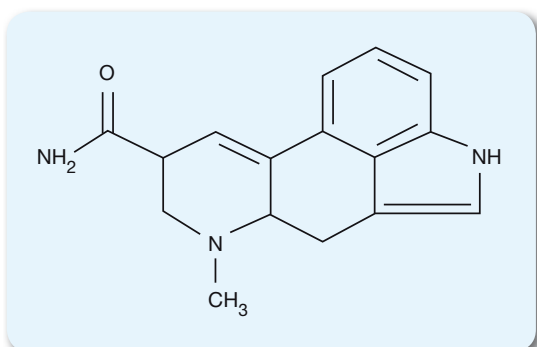
Sinonimi: hawaiian baby woodrose (HBWR), elephant creeper, woolly morning glory, silver morning glory

Provenienza: montagne del Messico meridionale, Guatemala, Indie occidentali, America Subtropicale, Madagascar, Europa

Principi attivi: ergina (o lisergamide o amide dell'acido lisergico), ergometrina, α -idrossietilamide dell'acido lisergico, elimoclavina, cianoclavina

L'*Argyreia nervosa*, un arbusto rampicante con fusto legnoso, contiene triterpenoidi, flavonoidi, steroidi, β -sitosterolo, lipidi e alcaloidi⁽¹⁾. L'ergina (lisergamide o amide dell'acido lisergico, LSA) e l'isoergina (epimero dell'ergina che presenta un'attività molto inferiore) sono i principali alcaloidi psicoattivi (allucinogeni) contenuti nei semi della pianta⁽²⁻⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: ergina (o lisergamide o amide dell'acido lisergico LSA).

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}N_3O$ (peso molecolare = 267,3).

Nome sistematico: 9,10-dideidro-6-metilergolina-8-beta-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 478-94-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Nome: isoergina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}N_3O$ (peso molecolare = 267,3). È l'epimero dell'ergina, quindi possiede la stessa struttura molecolare, ma la distribuzione spaziale dei sostituenti dell'atomo di carbonio 1 è speculare rispetto all'ergina stessa.

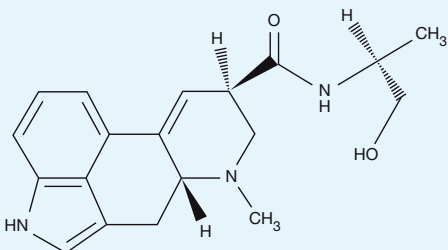
Nome sistematico: 9,10-dideidro-6-metilergolina-8-alfa-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 2889-26-1.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: ergometrina.

Formula Molecolare: $C_{19}H_{23}N_3O_2$ (peso molecolare = 325,5).

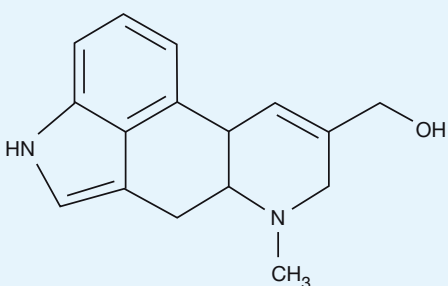
Nome sistematico: 9,10-dideidro-N-(2-idrossi-1-metiletil)-6-metil-8beta-(S)-9-ergolina-8-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 60-79-7.

Punto di fusione: 162°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.



Nome: elimoclavina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{18}N_2O$ (peso molecolare = 254,3).

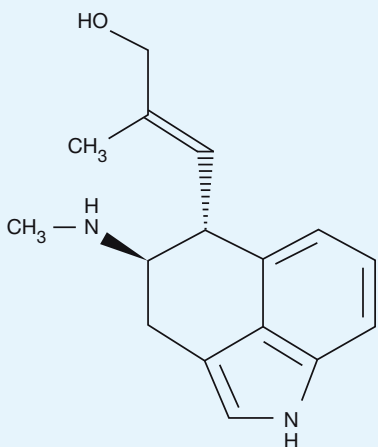
Nome sistematico: 8,9-dideidro-6-metilergolina-8-metanolo.

Numero di registro CAS: 548-43-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: cianoclavina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{20}N_2O$ (peso molecolare = 256,3).

Nome sistematico: propen-1-olo, 2-metil-3-(1,3,4,5-tetraidro-4-(metilamino)benz(cd)indolo-5-il-(4R)-(4alfa,5beta(E)).

Numero di registro CAS: 2390-99-0.

Punto di fusione: 221°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla formula molecolare, al nome sistematico, al numero di registro CAS, al punto di fusione, all'UVmax e alla solubilità dell' α -idrossietilamide dell'acido lisergico.

Legislazione

In Italia i semi di *Argyria nervosa* e l'alcaloide ergina in essi contenuta sono inseriti nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Mentre i semi di *Argyreia nervosa* vengono assunti a scopo ricreazionale per la loro capacità di indurre effetti psicoattivi, nella medicina ayurvedica, diverse parti della pianta (foglie, corteccia, radici) sono utilizzati per un'ampia gamma di attività farmacologiche messe in luce da recenti studi⁽⁶⁻¹⁰⁾. Studi sulle proprietà farmacologiche dell'*Argyreia nervosa*, condotti su modello animale, hanno evidenziato potenziali effetti nootropici⁽¹¹⁾, antimicrobici⁽¹²⁾, antiulcera^(13,14), anticonvulsivanti⁽¹⁵⁾, analgesici ed antinfiammatori⁽¹⁶⁾.

Tossicità

Due revisioni sistematiche pubblicate nell'ultimo biennio riportano sia la quantità di estratto della radice di *Argyreia nervosa* che uccide il 50% dei topi sottoposti a somministrazione intraperitoneale (dose letale 50%, DL50) (630 mg/Kg)⁽⁶⁾ sia la DL50 dopo somministrazione intraperitoneale sia dell'estratto etilico dei semi (500 mg/Kg) che dell'estratto etilico della pianta (825 mg/kg)^(7,8).

Diversamente, la somministrazione orale nel topo di un estratto idroalcolico di radice di *Argyreia nervosa* non ha mostrato alcun segno di tossicità acuta fino a una dose di 5 g/kg⁽⁸⁾.

Sono noti i dati di tossicità acuta dell'ergina sia nel modello animale che nell'uomo⁽¹⁷⁾.

Effetti avversi

Tra gli effetti avversi causati dall'ingestione di semi di *Argyreia nervosa* vengono riportati: alterazione della percezione visiva e dell'umore, sedazione, stati di ansia, nausea, vertigini, ipertensione, tachicardia, tachipnea^(11,18). La nausea può indurre alcuni consumatori di *Argyreia nervosa* ad assumere in combinazione farmaci come il dimenidrinato (antistaminico e anticolinergico utilizzato in caso di nausea e sensazioni di vertigini) e/o a fumare cannabis⁽¹⁹⁾. Nel 2010 si sono verificati in Danimarca due casi d'intossicazione dovuti a un policonsumo di cannabis, alcol e semi di *Argyreia nervosa*, in cui uno dei due consumatori, in preda a reazioni psicotiche e paranoiche, gettandosi nel vuoto è morto a causa delle ferite riportate⁽²⁰⁾. Poiché l'ergina dà generalmente un'esperienza allucinatoria spiacevole, pochi la consumano più di una volta⁽²¹⁾.

Interazioni farmacologiche

L'ergometrina, alcaloide contenuto nei semi di *Argyreia nervosa* in bassa percentuale può causare broncospasma in associazione con l'anestesia generale⁽²²⁾.

Effetti in gravidanza

L'ingestione di semi *Argyreia nervosa* nelle donne in gravidanza è rischiosa in quanto l'ergina, potente induttore delle contrazioni uterine, potrebbe causare aborto spontaneo⁽²³⁾.

Determinazioni Analitiche

Negli ultimi anni sono state pubblicate due metodologie per l'analisi dell'ergina nel sangue e nelle urine di consumatori di semi di *Argyreia nervosa*^(20,24).

Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad uno spettrometro di massa a tempo di volo⁽²⁰⁾ utile per identificare e quantificare l'alcaloide nel sangue e nelle urine di due consumatori di semi di *Argyreia nervosa*. Il secondo metodo analitico utilizza un cromatografo liquido accoppiato ad un rivelatore fluorimetrico per la determinazione e quantificazione dell'ergina in campioni di siero ed urina di quattro volontari sani a cui veniva somministrata per via orale la polvere di quattro semi di *Argyreia nervosa*⁽²⁴⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dell'ergina (o lisergamide o amide dell'acido lisergico) nel sangue e nelle urine ⁽²⁰⁾

Estrazione del campione

500 µl di urina diluiti con 1,5 ml di acqua ed acidificati con 1 ml di tampone acetato 1 M a pH 5,5 vengono idrolizzati mantenendoli a 40°C per 18 h dopo l'aggiunta di 25 µl di β-glucuronidasi/arilsulfatasi. 500 µl di sangue intero vengono diluiti con 2,7 ml di tampone fosfato (KH₂PO₄) 0,1 M a pH 6,0 e sonicati per 10 minuti. Tali campioni vengono successivamente centrifugati per 10 minuti a 3600 rpm e il supernatante viene caricato su colonnine per estrazione in fase solida (Isolute HCX-3, 130 mg) precedentemente condizionate con 1,5 ml di alcol metilico e 1,5 ml di KH₂PO₄ 0,1 M a pH 6,0. Dopo l'estrazione, le colonnine vengono lavate con 1 ml di KH₂PO₄ 0,1 M, 1 ml di acido acetico ed 1 ml di alcol metilico e quindi portate a secco. L'analita viene recuperato con una miscela di idrossido d'ammonio 25% in acqua-acetonitrile-etilacetato (2:10:88, v/v/v). Dopo aver portato a secco l'eluato, il residuo dei campioni di sangue viene ricostituito con 100 µl di una soluzione acquosa al 30% di acetonitrile; il residuo dei campioni di urina viene ricostituito con 500 µl di una soluzione acquosa al 30% di acetonitrile. Un volume di 5 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Acquity HSS T3C₁₈ (2.1 mm x 100 mm, 1.8 µm)

Fase mobile A: acqua contenente 0,05% di acido formico

Fase mobile B: alcol metilico

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile B: 10% nell'intervallo 0,0-0,5 minuti; fino al 50% nell'intervallo 0,51-4,0 minuti; fino al 100% nell'intervallo 4,1-11,1 minuti, mantenuto per 1,9 minuti; fino allo 10% nell'intervallo 13,0-13,1 minuti, mantenuto per 3,9 minuti)

Flusso: 0,3 ml/min

Rivelatore: spettrometria di massa a tempo di volo con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del gas di desolvatazione: 350 °C

Temperatura della sorgente: 120 °C

Voltaggio del capillare: 3000 V

Energia di frammentazione: 10, 45 V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

ergina: 3,0 min

LSD-d₃ (standard interno): 5,8 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

ergina: m/z 268, 223, 208

LSD-d₃ (standard interno): m/z 327, 226, 208

Standard

Lo standard metanolico dell'ergina è stato acquistato presso la ditta THC Pharm (Frankfurt/Main, Germania). Lo standard interno deuterato della dietilammide dell'acido lisergico (LSD) è stato acquistato presso la ditta Cerilliant (Sigma-Aldrich, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione della lisergamide (sangue: 0,5 e 10 µg/l; urine: 0, 10, 100, 500 e 1000 mg/l) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di sangue ed urina di controllo.

Risultati

L'analisi è stata eseguita su campioni di sangue e di urine provenienti da due consumatori di semi di *Argyreia nervosa*. I campioni sono stati raccolti 13 ore dopo l'ingestione nel caso del soggetto deceduto e 9 ore dopo l'ingestione nel caso del soggetto sopravvissuto. La concentrazione dell'ergina nei campioni in esame è riportata nella Tabella 1. Nel campione di urina del soggetto deceduto, gli autori hanno anche identificato un metabolita dell'ergina, la 2-osso-3-idrossi lisergamide.

Tabella 1. Concentrazioni urinarie (mg/l) e nel sangue intero ($\mu\text{g/l}$) dell'ergina nei due soggetti intossicati con i semi di *Argyreia nervosa*.

| | Ergina (mg/l urina) | Ergina ($\mu\text{g/l}$ sangue intero) |
|------------------------|---------------------|---|
| Soggetto deceduto | 1,0 | 4,9 |
| Soggetto sopravvissuto | 0,5 | 1,8 |

Bibliografia

1. ASHUTOSH M, ANUJ KUMAR A, AMIYA RANJAN P. A literature review on *Argyreia nervosa* (Burm. F.) bojer. IJRAP. 2011; 2: 1501-1504.
2. CHAO JM, DER MAERDEROSIAN AH. Ergoline alkaloidal constituents of Hawaiian Baby Wood Rose, *Argyreia nervosa* (Burm.f.) Bojer. J Pharm Sci. 1973; 62: 588-591.
3. ARUNOTAYANUN W, GIBBONS S. Natural product 'legal highs'. Nat. Prod. Rep. 2012; 29: 1304-1316.
4. *Argyreia nervosa* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 30: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
5. *Argyreia nervosa* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 34: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. MODI AJ, KHADABADI SS, FAROOQUI IA, DEORE SL. *Argyreia speciosa* linn. f.: phytochemistry, pharmacognosy and pharmacological studies. Int J of Pharm Sci Rev Res. 2010; 2: 14-21.
7. GALANI VJ, PATEL BG, PATEL NB. *Argyreia speciosa* (Linn. f.) sweet: A comprehensive review. Pharmacogn Rev. 2010; 4: 172-178.
8. GALANI VJ, PATEL BG. Psychotropic activity of *Argyreia speciosa* root in experimental animals. AYU. 2011; 32: 380-384.
9. JOSEPHA A, MATHEW S, SKARIA BP, SHEEJA EC. Medicinal uses and biological activities of *Argyreia speciosa* Sweet (Hawaiian Baby Woodrose) – An overview. IJNPR. 2011; 2: 286-291.
10. KRISHNAVENI A, SANT RANI, T. Phyto-pharmacological review of *argyreia nervosa*. IRJP. 2011; 2: 28-31.
11. JOSHI H, KAUR N, CHAUHAN J. Evaluation of Nootropic effect of *Argyreia speciosa* in mice. J Health Sci. 2007; 53: 382-388.
12. HABBU PV, MAHADEVAN KM, SHASTRY RA, MANJUNATHA H. Antimicrobial activity of flavanoid sulphates and other fractions of *Argyreia speciosa* (Burm.f) Boj. Indian J Exp Biol. 2009; 47: 121-128.
13. MOTAWI TK, HAMED MA, HASHEM RM, SHABANA MH, Ahmed YR. Protective and therapeutic effects of *Argyreia speciosa* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. Z Naturforsch C. 2012; 67: 47-57.
14. JAISWAL SK, RAO CV, SHARMA B, MISHRA P, DAS S, DUBEY MK. Gastroprotective effect of standardized leaf extract from *Argyreia speciosa* on experimental gastric ulcers in rats. J Ethnopharmacol. 2011; 137: 341-344.
15. VYAWAHARE NS, BODHANKAR SL. Anticonvulsant Activity of *Argyreia speciosa* in Mice. Indian J Pharm Sci. 2009; 71: 131-134.
16. BACHHAV RS, GULECHA VS AND UPASNI CD. Analgesic and anti-inflammatory activity of *Argyreia speciosa* root, Indian J Pharmacol, 2009; 41: 158-161.
17. *Argyreia nervosa* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 35: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
18. BORSUTZKY M, PASSIE T, PAETZOLD W, EMRICH HM, SCHNEIDER U. Hawaiian baby woodrose: (Psycho-) pharmacological effects of the seeds of *Argyreia nervosa*. A case-orientated demonstration, Nervenarzt. 2002; 73: 892-896.
19. KREMER C, PAULKE A, WUNDER C, TOENNES SW. Variable adverse effects in subjects after ingestion of equal doses of *Argyreia nervosa* seeds. Forensic Sci. Int. 2012; 241: e6-e8.
20. KLINKE HB, MÜLLER IB, STEFFENRUD S, DAHL-SØRENSEN R. Two cases of lysergamide intoxication by ingestion of seeds from Hawaiian Baby Woodrose. Forensic Sci Int. 2010; 197: e1-e5.
21. SEWELL RA. "Unauthorized Research on Cluster Headache". The Entheogen Review 2008; 16(4): 117-125.
22. NELSON-PIERCY C. Asthma in pregnancy. Thorax 2001; 56: 325-328.
23. *Argyreia nervosa* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 35: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
24. PAULKE A, KREMER C, WUNDER C, TOENNES SW. Analysis of lysergic acid amide in human serum and urine after ingestion of *Argyreia nervosa* seeds. Anal Bioanal Chem. 2012; 404: 531-538.

1.7 Artemisia absinthium (assenzio)



Nome: *Artemisia absinthium*

Famiglia: *Compositae*

Genere: *Artemisia* L.

Specie: *Artemisia absinthium* L.

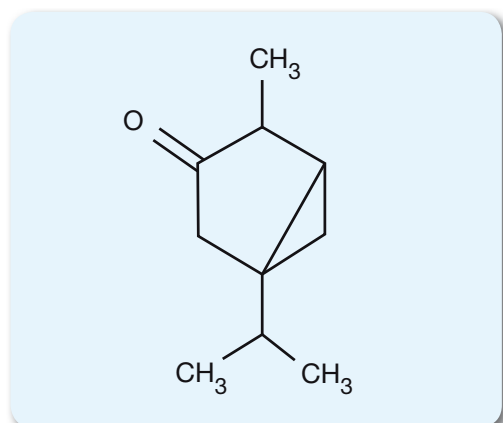
Sinonimi: artemisia maggiore, artemisia romana, alvina, bon maistro, cinz dragon, erba bianca, medeghetto, megu, scienzio

Provenienza: Europa (cresce spontanea particolarmente in Italia)

Principi attivi: α - e β -tujone, absintina, anabsintina, artabsina, anabsina e anabsinina.

L'*Artemisia absinthium* è un piccolo arbusto aromatico originario dell'Europa, del nord dell'America e dell'Asia, comunemente coltivato in zone climatiche temperate⁽¹⁾. Le parti aeree della pianta sono utilizzate in molte preparazioni erboristiche consigliate per disturbi gastrici, e nella preparazione di integratori alimentari e in bevande alcoliche^(2,3). La pianta contiene flavonoidi, steroli, tannini, lattoni sesquiterpenici come l'absintina, principale responsabile del sapore amaro della pianta, l'anabsina, l'anabsintina⁽²⁾ ed infine l' α - ed β -tujone, ritenuto responsabile dell'effetto allucinogeno della pianta⁽⁴⁻⁶⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: tujone (absintolo).

Formula Molecolare: $C_{10}H_{16}O$ (peso molecolare = 152,2).

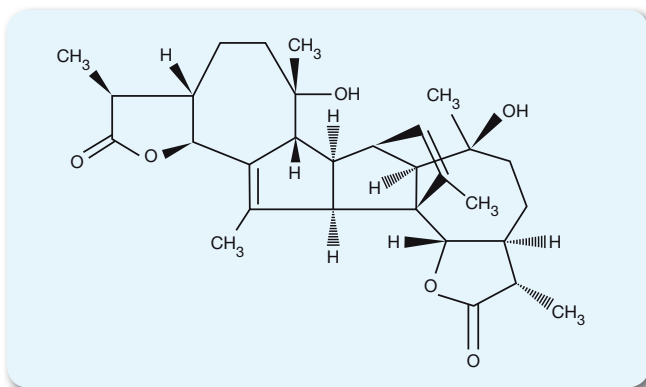
Nome sistematico: 4-metil-1-(1-metiletil)biciclo[3.1.0]-esan-3-one; 3-tujanone.

Numero di registro CAS: 546-80-5.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: in isoottano, 300 nm.

Solubilità: praticamente insolubile in acqua, solubile in alcol e diversi altri solventi organici⁽⁵⁾.



Nome: absintina.

Formula Molecolare: $C_{30}H_{40}O_6$ (peso molecolare = 496,6).

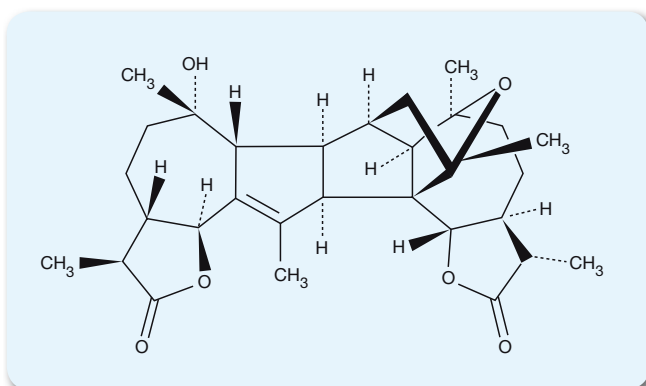
Nome sistematico: (1R,2R,5S,8S,9S,12S,13R,14S,15S,16R,17S,20S,21S,24S)-12,17-diidrossi 3,8,12,17,21,25-esametil -6,23-diossaeptaciclo[13.9.2.0(1,16).0(2,14).0(4,13).0(5,9).0(20,24)] esacosa-3,25-diene-7,22-dione.

Numero di registro CAS: 1362-42-1.

Punto di fusione: 179-180°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: anabsintina.

Formula Molecolare: $C_{30}H_{40}O_6$ (peso molecolare = 496,6).

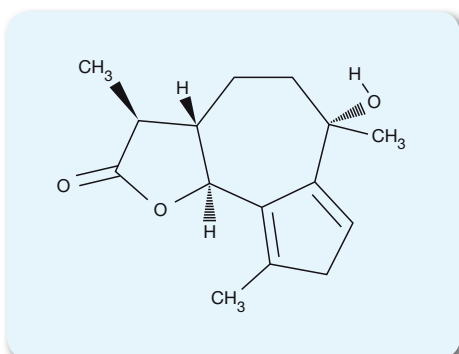
Nome sistematico: 3,3a,4,5,6,6a,6b,7,7a,8,9,10,10a,13a,13c,14b-esadecaidro-3,6,8,11,14,15-esametil-2H-8,15-epossi, 13b-etanopentaleno (1'',2'';6,7;5'',4'';6',7') dicioeptia (1,2-b:1',2'-b')difuran-2,12(11H)-dione.

Numero di registro CAS: 6903-12-4.

Punto di fusione: 267°C (anidro), 210°C (monoidrato).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono in presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: artabsina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{20}O_3$ (peso molecolare = 248,3).

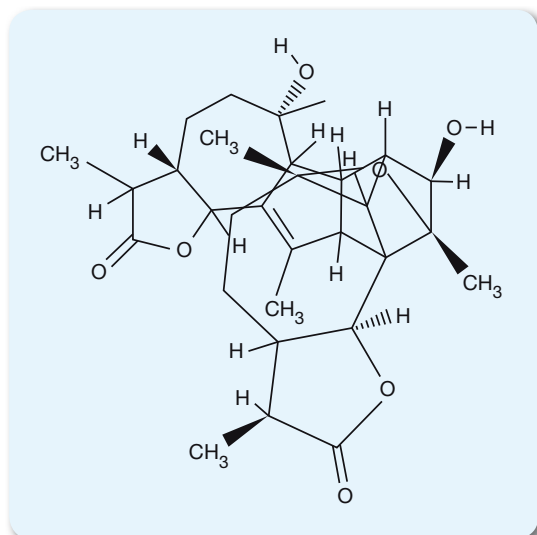
Nome sistematico: (3S,3aS,6S,9bS)-6-idrossi-3,6,9-trimetil-3,3a,4,5,8,9b-esaidroazuleno[4,5-b]furan-2-one.

Numero di registro CAS: 24399-20-0.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono in presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: anabsina.

Formula Molecolare: $C_{30}H_{40}O_7$ (peso molecolare = 512,6).

Nome sistematico: non sono presenti in letteratura dati relativi al nome sistematico.

Numero di registro CAS: 72542-39-3.

Punto di fusione: 276°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: dissolve a caldo in soluzioni diluite di alcali.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla formula molecolare, al nome sistematico, al punto di fusione, all'UVmax e alla solubilità relativi all'anabsinina.

Legislazione

L'*Artemisia absinthium* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

In una recente dichiarazione, l'Agenzia Europea per i Medicinali (European Medicines Agency, EMA) raccomanda di specificare la quantità di tujone nei preparati a base di erbe medicinali⁽⁷⁾. L'EMA, valutando che consumi giornalieri nell'intervallo 3-7 mg di tujone non causano particolari problemi per la salute umana, propone una nuova dose giornaliera consentita di 6 mg tujone per persona⁽⁷⁾. Il Ministero della Salute ha inserito l'olio dell'*Artemisia absinthium* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁸⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La letteratura internazionale degli ultimi anni riporta studi sull'attività farmacologica sia degli estratti che degli oli essenziali dell'*Artemisia absinthium*. Questi studi hanno evidenziato potenziali effetti antielmintici⁽⁹⁾, antimicrobici^(10,11), antiossidanti⁽¹⁰⁻¹³⁾, antiparassitari⁽¹⁴⁾ epatoprotettivi⁽¹⁵⁾, neuroprotettivi⁽¹⁶⁾ e antidepressivi⁽¹⁷⁾.

È stato studiato l'effetto del tujone sulle metastasi al polmone nel modello animale⁽¹⁸⁾. I risultati ottenuti mostrano che la somministrazione intraperitoneale di 1 mg/kg può inibire la crescita di metastasi polmonari nei topi con melanoma. Un altro studio su modello umano ha invece valutato l'effetto di un estratto delle parti aeree dell'*Artemisia absinthium* nell'inibire la proliferazione cellulare e promuovere l'apoptosi in una linea cellulare del carcinoma mammario⁽¹⁹⁾.

Tossicità

La neurotossicità dell' α -tujone, più attivo dell'isomero β -, è stata ampiamente studiata sia in vivo che in vitro⁽²⁰⁾. Gli studi di tossicità a lungo termine condotti nell'ambito del National Toxicology Program (NTP) statunitense mostrano che la somministrazione cronica di α - e β -tujone porta ad un'aumentata incidenza di crisi epilettiche e di lesioni neoplastiche nel cervello e milza di ratti⁽²¹⁾. L'NTP ha inoltre valutato la genotossicità e la carcinogenicità della miscela racemica del tujone ottenendo risultati negativi⁽²¹⁾. Sono noti i dati di tossicità acuta del tujone in modello animale⁽²²⁾.

Effetti avversi

L'uso cronico di assenzio può produrre una sindrome chiamata "absintismo", che è caratterizzata da dipendenza, iperecitalità ed allucinazioni. L'uso prolungato può, inoltre, causare disturbi gastrointestinali, insonnia, tremori, convulsioni, danni cerebrali e la morte⁽²³⁾.

È stato inoltre dimostrato che dosi elevate (15 mg) di tujone hanno effetti negativi sull'attenzione e sull'umore⁽²⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Non si segnalano interazioni farmacologiche clinicamente importanti. Nonostante ciò, in un recente studio sul metabolismo dell' α -tujone in preparati di fegato umano è stata evidenziata la sua capacità di inibire le isoenzimi CYP2A6 e CYP2B6 del citocromo P-450, enzimi che intervengono nel metabolismo di alcuni farmaci⁽²⁴⁾.

Effetti in gravidanza

L'uso dell'*Artemisia absinthium* è sconsigliato nelle donne in gravidanza o in allattamento⁽²⁵⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono segnalate metodologie per l'analisi dei principi attivi dell'*Artemisia absinthium* in matrici biologiche di consumatori della pianta. Tuttavia, recentemente è stata pubblicata una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa per la sola identificazione dell' α -tujone e dei suoi principali metaboliti (7-idrossitujone, 4-idrossitujone, 2-idrossitujone e carvacrolo) in microsomi di fegato umano⁽²⁴⁾.

Sono invece presenti in letteratura recenti metodologie per l'analisi dei principi attivi negli estratti e negli oli essenziali dell'*Artemisia absinthium* e in prodotti commerciali^(2,26,27).

Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad un rivelatore con fotomoltiplicatore a serie di diodi e ad uno spettrometro di massa per la simultanea determinazione e quantificazione dell'anabsina, absintina, anabsintina sia nella pianta dell'*Artemisia absinthium* che in preparazioni commerciali che la contengono⁽²⁾. Il secondo utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia associata alla spettrometria di massa per l'analisi qualitativa della composizione dell'olio essenziale estratto dalle sole foglie dell'*Artemisia absinthium*⁽²⁶⁾. Il terzo infine utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia associata alla spettrometria di massa ed ad un rivelatore a ionizzazione di fiamma per la determinazione dell' α - e del β -tujone in bevande alcoliche a base di estratti di *Artemisia*⁽²⁷⁾. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dell' α - e del β -tujone in bevande alcoliche a base di estratti di *Artemisia*⁽²⁷⁾

Estrazione del campione

I campioni di bevande alcoliche a base di estratti di *Artemisia* vengono diluiti con acqua fino a raggiungere la concentrazione finale di alcol etilico di circa il 40% (v/v). 2 ml di campioni così diluiti vengono caricati su colonnine per estrazione in fase solida (SeptraC18-E, 500 mg) precedentemente condizionate con 5 ml di una miscela di n-esano-acetato di etile (9:1, v/v). Dopo l'estrazione, le colonnine vengono lavate con 1 ml di una miscela di alcol etilico al 20% in acqua e quindi portate a secco. Gli analiti vengono eluiti con 5 ml una miscela di n-esano-acetato di etile (9:1, v/v). Un volume di 1 μ l viene iniettato nel gas cromatografo.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: ZB5-MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m)

Temperatura iniettore: 310°C

Gas: elio

Modalità di iniezione: splitless

Programmata: 50°C per un minuto, 50°C-250°C a 6°C/minuto

Rivelatore: spettrometro di massa ad impatto elettronico per l'analisi qualitativa, rivelatore a ionizzazione di fiamma per l'analisi quantitativa

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

α -tujone: 13,25 min

β -tujone: 13,40 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

α -tujone: m/z 152, 110, 95, 81, 55

β -tujone: m/z 152, 110, 95, 81, 55

Standard

Gli standard dell' α - e del β -tujone sono stati acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione dell' α -tujone (da 5 a 300 mg/l) e del β -tujone (da 0.5 a 30 mg/l) vengono preparati diluendo soluzioni standard a concentrazione nota con una miscela di alcol etilico al 40% in acqua (v/v).

Risultati

L'analisi viene eseguita su cinque diverse bevande alcoliche a base di estratti di *Artemisia absinthium* a diversa gradazione alcolica. La concentrazione dell' α - e del β -tujone nei campioni in esame è riportata nella Tabella 1. Come risulta dalla tabella, le cinque bevande contengono diverse concentrazioni di α - e β -tujone. Queste variazioni sono determinate dalle diverse ricette di preparazione dell'assenzio che includono sia l'utilizzo di diverse erbe che di diverse procedure di estrazione dei principi attivi dalle piante. Come riportato dagli autori, i prodotti analizzati hanno un contenuto di α - e β -tujone al di sotto del valore di 35 mg/l ammesso dalla comunità europea come concentrazione massima nelle bevande alcoliche ⁽²⁵⁾.

Tabella 1. Concentrazione di α -tujone e β -tujone in diversi campioni di assenzio.

| Campione | α -tujone (mg/l) | β -tujone (mg/l) |
|----------|-------------------------|------------------------|
| 1 | 4,03 | 2,54 |
| 2 | 1,04 | 3,43 |
| 3 | 0,89 | 3,51 |
| 4 | 3,26 | 1,39 |
| 5 | 0,12 | 0,2 |

Bibliografia

1. TARIKU Y, HYMETE A, HAILU A, ROHLOFF J. In vitro Evaluation of Antileishmanial Activity and Toxicity of Essential Oils of Artemisia absinthium and Echinops kebericho. *Chem Biodivers*. 2011; 8: 614-623.
2. ABERHAM A, CICEK SS, SCHNEIDER P, STUPPNER H. Analysis of Sesquiterpene Lactones, Lignans, and Flavonoids in Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)-Mass Spectrometry, Reversed Phase HPLC, and HPLC-Solid Phase Extraction-Nuclear Magnetic Resonance. *J Agric Food Chem*. 2010; 58: 10817-10823.
3. BASTAA, TZAKOU O, COULADIS M, PAVLOVIC M. Chemical Composition of *Artemisia absinthium* L. from Greece. *J. Essent. Oil Res*. 2007; 19: 316-318.
4. LACHENMEIER DW. Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) - A curious plant with both neurotoxic and neuroprotective properties? *J Ethnopharmacol*. 2010; 131: 224-227.
5. *Artemisia absinthium* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 40: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
6. *Artemisia absinthium* in "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 40-41: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
7. EMA/HMPC: Public statement on the use of herbal medicinal products containing thujone, EMA/HMPC/732886/2010.
8. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
9. TARIQ KA, CHISHTI MZ, AHMAD F, SHAWL AS. Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes, *Vet. Parasitol*. 2009; 160: 83-88.
10. LOPES-LUTZ D, ALVIANO DS, ALVIANO CS, KOLODZIEJCZYK PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils, *Phytochemistry*, 2008; 69: 1732-1738.
11. TAHERKHANI M, RUSTAIYAN A, RASOOLI I, TAHERKHANI T. Chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant and total phenolic content within the leaves essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing wild in Iran. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2013; 7: 30-36.
12. CRACIUNESCU O, CONSTANTIN D, GASPAR A, TOMA L, UTOIU E, MOLDOVAN L. Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana* L. and *Artemisia absinthium* L. ethanolic extracts. *Chem Cent J*. 2012; 6: 97-103.
13. BORA KS, SHARMA A. Evaluation of antioxidant and free-radical scavenging potential of *Artemisia absinthium*. *Pharm Biol*. 2011; 49: 1216-1223.
14. YILDIZ K, BAŞALAN M, DURU O, GÖKPINAR S. Antiparasitic efficiency of *Artemisia absinthium* on *Toxocara cati* in naturally infected cats. *Turkiye Parazitoloj Derg*. 2011; 35: 10-14.
15. AMAT N, UPUR H, BLAZEKOVIĆ B. In vivo hepatoprotective activity of the aqueous extract of *Artemisia absinthium* L. against chemically and immunologically induced liver injuries in mice. *J Ethnopharmacol*. 2010; 131: 478-484.
16. BORA KS, SHARMA A. Neuroprotective effect of *Artemisia absinthium* L. on focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. *J Ethnopharmacol*. 2010; 129: 403-409.
17. MAHMOUDI M, EBRAHIMZADEH, MA, ANSAROUDI F, NABAVI SF, NABAVI SM. Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *Afr. J. Biotechnol*. 2009; 8: 7170-7175.
18. SIVEEN KS, KUTTAN G. Thujone inhibits lung metastasis induced by B16F-10 melanoma cells in C57BL/6 mice *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 2011; 89: 691-703.
19. SHAFI G, HASAN TN, SYED NA, AL-HAZZANI AA, ALSHATWI AA, JYOTHI A, MUNSHI A. *Artemisia absinthium* (AA): a novel potential complementary and alternative medicine for breast cancer. *Mol Biol Rep*. 2012; 39: 7373-7379.
20. PELKONEN O, ABASS K, WIESNER J. Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2013; 65: 100-107.
21. NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. Toxicology and carcinogenesis studies of alpha,beta-thujone (CAS No. 76231-76-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. 2011; 570: 1-260.
22. *Artemisia absinthium* in "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 42-43: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
23. GHOSH A, T GHOSH T. Herbal drugs of abuse. *Syst Rev Pharm*. 2010; 1: 141-145.
24. ABASS K, REPONEN P, MATTILA S, PELKONEN O. Metabolism of α -thujone in human hepatic preparations in vitro. *Xenobiotica*. 2011; 41: 101-111.
25. WEISBORD SD, SOULE J, KIMMEL PL. Brief Report: Poison on line - acute renal failure caused by oil of wormwood purchased through the internet. *N Engl J Med*. 1997; 337: 825-827.
26. TAHERKHANI M, RUSTAIYAN A, RASOOLI I, TAHERKHANI T. Chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant and total phenolic content within the leaves essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing wild in Iran. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2013; 7: 30-36.
27. DAWIDOWICZ AL, DYBOWSKI MP. Fast determination of α - and β -thujone in alcoholic beverages using solid-phase extraction and gas chromatography. *Food Control*. 2012; 25: 197-201.
28. EEC, 2008. Regulation (ec) no 1334/2008 of european parliament and council on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods. *Official Journal of European Union*, (L354), 34-50.

1.8 Ayahuasca

(*Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*)

Banisteriopsis caapi



Nome: *Banisteriopsis caapi* (Spr. Ex Briesb)

Famiglia: *Malpighiaceae*

Genere: *Banisteriopsis* L

Specie: *Banisteriopsis caapi* (Spr. Ex Griesb)

Sinonimi: daime, yajé, natema

Provenienza: regioni tropicali dell'America Meridionale

Principi attivi: armina, tetraidroarmina, armalina

Psychotria viridis



Nome: *Psychotria viridis*

Famiglia: *Rubiaceae*

Genere: *Psychotria*

Specie: *Psychotria viridis*

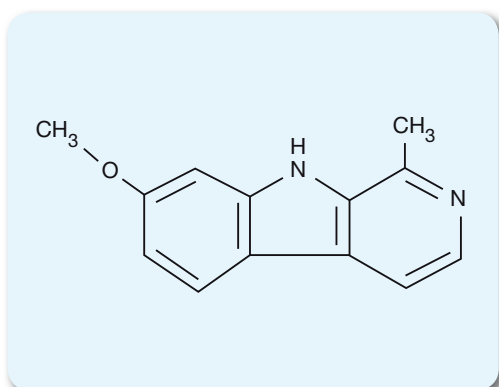
Sinonimi: chacruna

Provenienza: foreste pluviali dell'America Meridionale

Principi attivi: N, N-dimetiltriptamina

L'*Ayahuasca* è una bevanda allucinogena utilizzata per scopi rituali nella regione amazzonica ed è ottenuta dalla miscela di diverse piante originarie di tale regione. Tradizionalmente l'*Ayahuasca* viene prodotta miscelando ad un decotto della corteccia e dello stelo della *Banisteriopsis caapi* le foglie dell'arbusto *Psychotria viridis*⁽¹⁾. Le due piante si distinguono per il contenuto di principi attivi; mentre i principali composti attivi della *Banisteriopsis caapi* sono gli alcaloidi β -carbolinici armina, armalina e tetraidroarmina⁽²⁾, la *Psychotria viridis* contiene una indolalchilamina allucinogena, la N,N-dimetiltriptamina (DMT)^(1,3,4).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: armina.

Formula Molecolare: $C_{13}H_{12}N_2O$ (peso molecolare = 212,2).

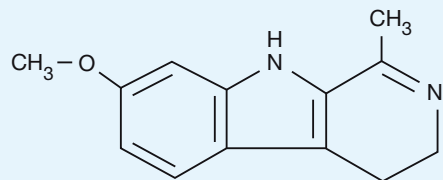
Nome sistematico: 7-metossi-1-metil- 9H-pirido (3,4-b) indolo.

Numero di registro CAS: 442-51-3.

Punto di fusione: 273°C.

UVmax: 241, 301, 336 nm.

Solubilità: acqua calda.



Nome: armalina.

Formula Molecolare: $C_{13}H_{14}N_2O$ (peso molecolare = 214,2).

Nome sistematico: 4,9-diidro-7-metossi-1-metil -3H-pirido-(3,4-b) indolo.

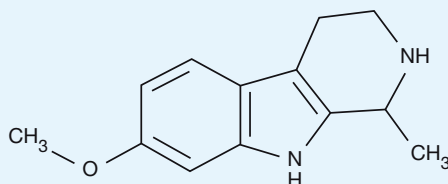
Numero di registro CAS: 304-21-2.

Punto di fusione: 229-231°C.

UVmax: 218, 260, 376 nm.

Solubilità: debolmente solubile in acqua, alcol etilico, etere.

Solubile in alcol etilico caldo.



Nome: tetraidroarmina.

Formula Molecolare: $C_{13}H_{16}N_2O$ (peso molecolare = 216,2)

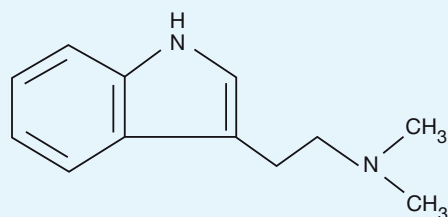
Nome sistematico: 1,2,3,4-tetraidro-7-metossi-9H-pirido-(3,4-b) indolo-1-metil-idrocloruro.

Numero di registro CAS: 17019-01-1.

Punto di fusione: 232-243°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: N,N-dimetiltriptamina (DMT).

Formula Molecolare: $C_{12}H_{16}N_2$ (peso molecolare = 188,2).

Nome sistematico: N-dimetil-1H-indolo-3-etilamina.

Numero di registro CAS: 61-50-7.

Punto di fusione: 44,6-46,8°C.

UVmax: 279-288 nm.

Solubilità: acido acetico.

Legislazione

In Italia, la DMT è inserita nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Diversamente nessuna delle due piante (*Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*) o parti di esse sono inserite in tale o altre Tabelle. La DMT è una sostanza illegale sia in alcuni stati europei che negli Stati Uniti d'America.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'interazione sinergica dei diversi alcaloidi contenuti nella *Banisteriopsis caapi* e nella *Psychotria viridis* è alla base dell'azione psicotropa dell'*Ayahuasca*. La DMT presente nella *Psychotria viridis* è inattiva per via orale poiché viene rapidamente metabolizzata dalle monoaminoossidasi (MAO), enzimi presenti nel fegato e nell'intestino⁽⁵⁾. Tuttavia l'inibizione delle MAO da parte degli alcaloidi β -carbolinici della *Banisteriopsis caapi* blocca il metabolismo della DMT nel flusso sanguigno e favorisce il raggiungimento del sistema nervoso centrale da parte della molecola intatta^(1,5,6).

L'armina presente nella *Banisteriopsis caapi* possiede una varietà di proprietà farmacologiche quali quella antimicrobica, antifungina, antiossidante ed infine antitumorale⁽⁷⁾. È noto che pazienti affetti da cancro si autosomministrano l'*Ayahuasca* senza prescrizione medica⁽⁸⁾. Studi in vitro sull'armina sembrano confermare i benefici dell'*Ayahuasca* in questo campo^(9,10).

L'*Ayahuasca* è stata sperimentata nel trattamento della dipendenza da sostanze d'abuso quali alcol e cocaina^(1,11).

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta della dimetiltriptamina, dell'armina e dell'armalina in modello animale e nell'uomo⁽¹²⁾.

Effetti avversi

I principali effetti avversi riportati a seguito dell'assunzione di *Ayahuasca* includono nausea, vomito, ansietà, alterazione sensoriale e percettiva⁽¹³⁾. L'uso cronico di DMT, di armina e dei loro analoghi genera effetti avversi cardiovascolari più o meno gravi^(1,13).

Interazioni farmacologiche

Recentemente è stato dimostrato che l'armina agisce come un inibitore non competitivo del isoenzima epatico CYP3A4 ed insieme all'armalina come inibitore competitivo dell'isoenzima CYP2D6 del citocromo P-450⁽¹⁴⁾. Queste due isoforme sono coinvolte nel metabolismo di circa l'80% di tutti i farmaci attualmente in uso⁽¹⁴⁾. L'azione inibitoria dell'armina sull'isoforma CYP2D6 porta ad interazioni con farmaci quali la desipramina, il metoprololo, il destrometorfano e la tioridazina⁽¹⁵⁾.

Effetti in gravidanza

Uno studio condotto su modello animale ha dimostrato che l'assunzione materna di *Ayahuasca* e la conseguente esposizione intrauterina sono in grado di produrre tossicità materna dose-dipendente ed effetti teratogeni⁽¹⁶⁾. Nel modello animale l'uso di *Ayahuasca* in gravidanza e durante l'allattamento riduce il senso di ansietà e lo stimolo sociale nei nuovi nati, i quali però una volta adulti hanno maggior rischio di sviluppare crisi epilettiche⁽¹⁷⁾.

Determinazioni Analitiche

È stato pubblicato un metodo in cromatografia liquida accoppiata ad un rivelatore con fotomoltiplicatore a serie di diodi per la determinazione degli alcaloidi contenuti nelle foglie, nei fusti e nei rami della *Banisteriopsis caapi*⁽²⁾, ed un metodo in gas cromatografia-spettrometria di massa a trappola ionica per la determinazione della DMT nella bevanda⁽¹⁸⁾.

Per quanto riguarda la determinazione dei principi attivi nelle matrici biologiche di assuntori della bevanda, esistono metodologie per l'analisi della dimetiltriptamina, dell'armina e dell'armalina nei liquidi biologici di assuntori di *Ayahuasca*⁽¹⁹⁾. Tra le nuove metodologie pubblicate, alcuni metodi utilizzano una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad uno spettrometro di massa tandem per la identificazione e determinazione di tutti gli alcaloidi contenuti nell'*Ayahuasca* nelle urine^(5,20) e nel plasma o sangue^(1,21) di consumatori. Un ultimo metodo determina gli alcaloidi dell'*Ayahuasca* nel sangue di assuntori mediante cromatografia liquida associata ad uno spettrometro di massa a trappola ionica⁽²²⁾.

Bibliografia

1. BRIERLEY DI, DAVIDSON C. Developments in harmine pharmacology-implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 39: 263-272.
2. WANG YH, SAMOYLENKO V, TEKWANI BL, KHAN IA, MILLER LS, CHAURASIYA ND, RAHMAN MM, TRIPATHI LM, KHAN SI, JOSHI VC, WIGGER FT, MUHAMMAD I. Composition, standardization and chemical profiling of *Banisteriopsis caapi*, a plant for the treatment of neurodegenerative disorders relevant to Parkinson's disease. *J Ethnopharmacol*. 2010; 128: 662-671.
3. Ayahuasca in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 47: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. Ayahuasca in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 48: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. RIBA J, MCILHENNY EH, VALLE M, BOUSO JC, BARKER SA. Metabolism and disposition of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. *Drug Test Anal*. 2012; 4: 610-616.
6. HILL SL, THOMAS SH. Clinical toxicology of newer recreational drugs. *Clin Toxicol (Phila)*. 2011; 49: 705-719.
7. PATELA K, GADEWARB M, TRIPATHIC R, PRASADC SK, PATEL DK. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid "Harmine". *Asian Pacific J of Trop Biomed*. 2012; 2: 660-664.
8. SCHMID JT, JUNGABERLE H, VERRES R. Subjective theories about (self-)treatment with ayahuasca. *AOC*. 2010; 21: 188-204.
9. CUNY GD, ULYANOVA NP, PATNAIK, D, LIU JF, LIN X, AUERBACH K, RAY SS, XIAN J, GLICKSMAN MA, STEIN RL, HIGGINS JMG. Structure-activity relationship study of beta-carboline derivatives as haspin kinase inhibitors *Bioorg Med Chem Lett*. 2012; 22: 2015-2019.
10. HAMSA T, KUTTAN G. Studies on anti-metastatic and anti-invasive effects of harmine using highly metastatic murine B16F-10 melanoma cells. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2011; 30: 123-137.
11. BRIERLEY DI; DAVIDSON C. Harmine augments electrically evoked dopamine efflux in the nucleus accumbens shell. *J Psychopharmacol*. 2013; 27: 98-108.
12. Ayahuasca in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 49-50: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
13. ARUNOTAYANUN W, GIBBONS S. Natural products 'legal highs'. *Nat Prod Rep*. 2012; 29: 1304-1316.
14. ZHAO T, HE YQ, WANG J, DING KM, WANG CH, WANG ZT. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes 3A4 and 2D6 by beta-carboline alkaloids, harmine derivatives. *Phytother Res*. 2011; 25: 1671-1677.
15. VANDENBRINK M, FOTI RS, ROCK DA, WIENKERS LC, WAHLSTROM JL. Prediction of CYP2D6 drug interactions from in vitro data: evidence for substrate-dependent inhibition. *Drug Metab Dispos*. 2012; 40: 47-53.
16. OLIVEIRA CDR, MOREIRA CQ, DE SÁ LR, SPINOSA HD, YONAMINE M. Maternal and developmental toxicity of ayahuasca in wistar rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2010; 89: 207-212.
17. OLIVEIRA CDR, YONAMINE M, MOREIRA CQ, SPINOSA HD. Neurobehavioral, reflexological and physical development of wistar rat offspring exposed to ayahuasca during pregnancy and lactation. *Rev. Bras. Farmacogn*. 2011; 21: 1065-1076.
18. GAUJAC A, DEMPSTER N, NAVICKIENE S, BRANDT SD, ANDRADE JBD. Determination of N,N-dimethyltryptamine in beverages consumed in religious practices by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography ion trap mass spectrometry. *Talanta* 2013; 106: 394-8.
19. Ayahuasca in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 50-52: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
20. MCILHENNY EH, RIBA J, BARBANOJ MJ, STRASSMAN R, BARKER SA. Methodology for and the determination of the major constituents and metabolites of the Amazonian botanical medicine ayahuasca in human urine. *Biomed Chromatogr*. 2011; 25: 970-984.
21. OLIVEIRA CD, OKAI GG, DA COSTA JL, DE ALMEIDA RM, OLIVEIRA-SILVA D, YONAMINE M. Determination of dimethyltryptamine and β -carbolines (ayahuasca alkaloids) in plasma samples by LC-MS/MS. *Bioanalysis*. 2012; 4: 1731-1738.
22. MCILHENNY EH, RIBA J, BARBANOJ MJ, STRASSMAN R, BARKER SA. Methodology for determining major constituents of ayahuasca and their metabolites in blood. *Biomed Chromatogr*. 2012; 26: 301-313.

1.9 Brugmansia arborea (angel trumpet)



Nome: *Brugmansia arborea*

Famiglia: *Solanaceae*

Genere: *Brugmansia*

Specie: *Arborea; candida; sanguinea*

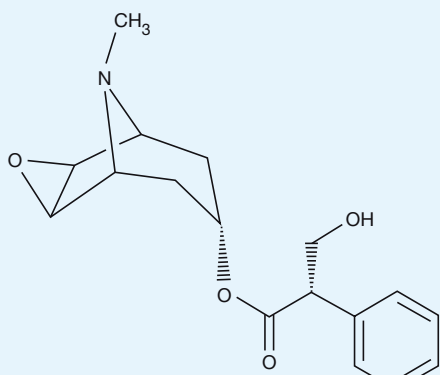
Sinonimi: tree datura, angel's trumpet, floripondio, maikoa

Provenienza: Perù

Principi attivi: aiosciamina, la miscela racemica atropina (d,l-iosciamina), scopolamina

La *Brugmansia arborea* è un arbusto appartenente al gruppo delle Solanacee, nativo del Sud America e ampiamente coltivata in Europa come specie ornamentale. Come altre specie di piante (*Atropa belladonna*, *Hyoscyamus niger*, *Mandragora officinarum*, *Datura stramonium*) appartenenti alla famiglia delle Solanacee, la *Brugmansia arborea* contiene alcaloidi parasimpaticolitici (alcaloidi tropanici) come la scopolamina, la iosciamina e l'atropina⁽¹⁻³⁾. La *Brugmansia arborea* è utilizzata per le sue presunte attività allucinogene^(3,4).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi⁽¹⁾



Nome: scopolamina.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{21}NO_4$ (peso molecolare = 303,4).

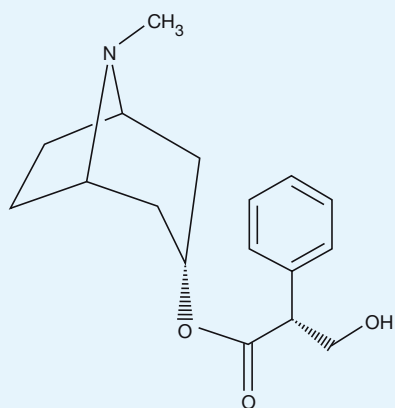
Nome sistematico: acido [7(S)-(1 α ,2 β ,4 β ,5 α ,7 β)]- α -(idrossimetil) benzenacetico 9-metil-3-ossa-9-azatriciclo-[3.3.1.0^{2,4}]non-7-il-estere.

Numero di registro CAS: 51-34-3.

Punto di fusione: 59°C.

UVmax: 246, 252, 258 nm.

Solubilità: solubile in acqua calda, alcol, etere, cloroformio, acetone.



Nome: iosciamina.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{23}NO_3$ (peso molecolare = 289,4).

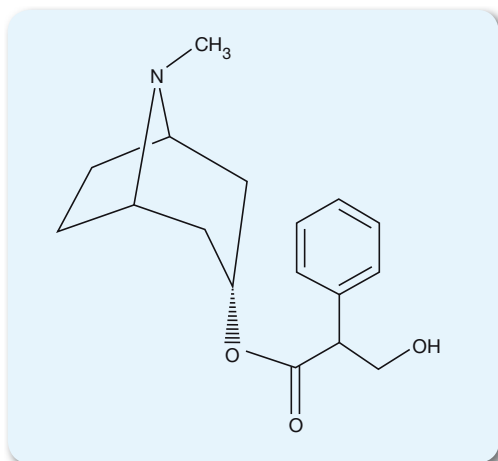
Nome sistematico: α -(idrossimetil)-(3-endo)-8-metil-8-azabicyclo (3.2.1)ott-3-il-estere(α -S)-acido benzenacetico.

Numero di registro CAS: 101-31-5.

Punto di fusione: 108,5°C.

UVmax: 258 nm (alcol metilico).

Solubilità: solubile in alcol e acidi diluiti.



Nome: atropina.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{23}NO_3$ (peso molecolare = 289,3).

Nome sistematico: (R,5S)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il]3-idrossi-2-fenilpropanoato).

Numero di registro CAS: 51-55-8.

Punto di fusione: 108,5°C.

UVmax: 258 nm (alcol metilico).

Solubilità: solubile in alcol ed acidi.

Legislazione

La *Brugmansia arborea* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito la iosciamina e i suoi sali in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi nella composizione dei prodotti cosmetici ⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Gli estratti metanolici ed acquosi della *Brugmansia arborea* hanno dimostrato affinità sia per i recettori serotoninergici (5-HT1A, 5-HT2A, 5-HT2C) che per i recettori dopaminergici (D1, D2) coinvolti nel fenomeno delle dipendenze da droghe ⁽⁶⁾. L'estratto di foglie e fiori della *Brugmansia arborea* riduce l'incidenza dei sintomi di astinenza nei topi morfina-dipendenti ⁽⁶⁾. Sempre nel modello animale, l'estratto metanolico delle parti aeree della *Brugmansia arborea* modifica gli effetti psicotropi e motori della morfina e della cocaina, rendendo tale estratto utile nel trattamento dell'abuso di queste due sostanze ⁽⁷⁾.

Tossicità

La *Brugmansia arborea*, come alcune specie di piante appartenenti alla famiglia delle Solanacee, è altamente tossica e, specialmente se ingerita, può causare anche la morte ^(8,9). Nei casi di grave intossicazione si osservano allucinazioni, ipertermia, convulsioni e paralisi flaccida ⁽⁹⁾.

Sono noti i dati di tossicità acuta della iosciamina, della scopolamina e dell'atropina in modello animale e nell'uomo ⁽¹⁰⁾.

Effetti avversi

Diversi casi di un disturbo oculare chiamato "pupilla del giardiniere" sono descritti in letteratura ^(8,9,11,12). Questo disturbo provoca una midriasi farmacologica, generalmente unilaterale (anisocoria), causata dal contatto accidentale con le piante contenenti alcaloidi tropanici. Possono verificarsi anche effetti collaterali sistemici, come ad esempio la tachicardia, a causa dell'assorbimento degli alcaloidi dal dotto lacrimale. Questi effetti sono comunque più pronunciati in seguito ad ingestione orale di semi, foglie ed altre parti della pianta ⁽¹³⁾.

Recentemente è stato descritto in letteratura un caso di neuropatia assonale motoria acuta tipo sindrome di Guillain-Barré causata dall'ingestione di *Brugmansia suaveolens* ⁽¹⁴⁾. La *Brugmansia suaveolens*, specie del genere *Brugmansia*, differisce dalla *Brugmansia arborea* solo per il diverso colore e conformazione dei fiori.

Interazioni farmacologiche

L'atropina potenzia l'attività anticolinergica degli antidepressivi triciclici. La scopolamina dovrebbe essere usata con attenzione nei pazienti che assumono altri farmaci che agiscono sul sistema nervoso centrale (sedativi, tranquillanti) ed in associazione ai farmaci che possiedono attività anticolinergica, come ad esempio antistaminici, antidepressivi triciclici, rilassanti muscolari ⁽¹⁵⁾.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso della *Brugmansia arborea* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie recenti per l'analisi dei principi attivi della *Brugmansia arborea* né nei liquidi biologici, né nelle diverse porzioni della pianta. Sono noti metodi per l'analisi della scopolamina e della iosciamina nel siero e nelle urine di consumatori della *Datura stramonium*, pianta i cui principi attivi sono comuni a quella della *Brugmansia arborea*⁽¹⁶⁾. Si rimanda alla monografia della *Datura stramonium* per i dettagli analitici della determinazione nei capelli della atropina e della scopolamina, principi attivi comuni delle due piante sopra menzionate, al fine di individuare consumo pregresso di tali principi attivi.

Bibliografia

1. GRIFFIN WJ, LIN GD. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry* 2000; 53: 623-637.
2. ISBISTER GK, OAKLEY P, DAWSON AH, WHYTE IM. Presumed Angel's trumpet (*Brugmansia*) poisoning: Clinical effects and epidemiology. *Emerg Med. (Fremantle)* 2003; 15: 376-382.
3. VAN DER DONCK I, MULLIEZ E, BLANCKAERT J. Angel's trumpet (*Brugmansia arborea*) and mydriasis in a child - a case report. *Bull Soc Belge Ophtal.* 2004, 292: 53-56.
4. *Brugmansia arborea* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 54: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. Elenco delle sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_145_listaFile_itemName_0_file.pdf
6. MATTIOLI L, BRACCI A, TITOMANLIO F, PERFUMI M, DE FEO V. Effects of *Brugmansia arborea* extract and its secondary metabolites on morphine tolerance and dependence in mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012, Article ID 741925, 10 pages.
7. BRACCI A, DAZA-LOSADA M, AGUILAR M, DE FEO V, MIÑARRO J, RODRÍGUEZ-ARIAS M. A methanol extract of *Brugmansia arborea* affects the reinforcing and motor effects of morphine and cocaine in mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013: 482976.
8. MACCHIAIOLO M, VIGNATI E, GONFIANTINI MV, GRANDIN A, ROMANO MT, SALATA M, VALENTINI D, VILLANI A. An unusual case of anisocoria by vegetal intoxication: a case report. *Ital J Pediatr.* 2010; 36: 50-52.
9. VUNDA, A, ALCOBA, G. Mydriasis in the garden. *N Engl J Med.* 2012; 367: 1341.
10. *Brugmansia arborea* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 55: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
11. ANDREOLA B, PIOVAN A, DA DALT L, FILIPPINI R, CAPPELLETTI E. Unilateral mydriasis due to Angel's Trumpet. *Clin Toxicol (Phila).* 2008; 46: 329-331.
12. ERASLAN M. Anisocoria due to the datura plant. *Marmara Med J.* 2012; 25: 93-95.
13. EL OUAZZANI CHAHDI K, BENHARBIT M, MANSOURI I, SAADYA MOUHDI H, KARIM A, BENCHRIF Z, IBRAHIMY W, DAOUDI R. Acute toxic anisocoria. *J Fr Ophtalmol.* 2012; 35: 288.e1-288.e3.
14. SEVKETOGLU E, TATL B, TUĞCU B, DEMIRELLI Y, HATIPOGLU S. An unusual Cause of fulminant guillain-barre' syndrome: angel's trumpet. *Pediatr Neurol.* 2010; 43: 368-370.
15. THOMSON HEALTHCARE INC.; Physicians' Desk Reference 62 ed., Montvale, NJ 2008, p. 2192-2193.
16. *Brugmansia arborea* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 56-57: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.10 *Calea zacatechichi* (hoja de dios)



Nome: *Calea zacatechichi*

Famiglia: *Asteraceae*

Genere: *Calea*

Specie: *Calea zacatechichi* Schl.

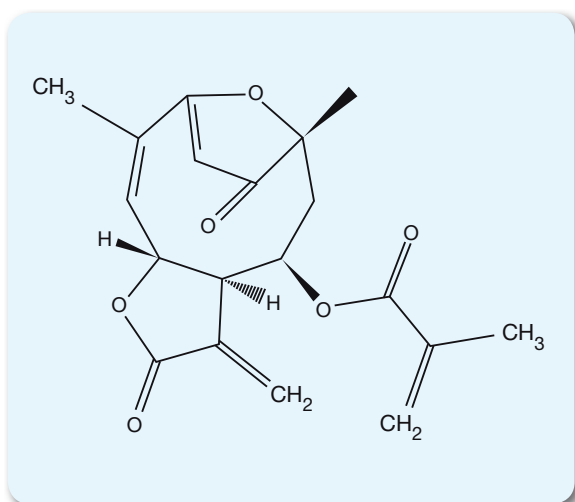
Sinonimi: *Calea ternifolia*, Bitter grass, foglia di Dio

Provenienza: Messico e Costa Rica

Principi attivi: sesquiterpeni (calassina, ciliarina); germacranolidi (1 β -acetossi-zacatechinolide, 1-osso-zacatechinolide)

Il genere *Calea* conta circa 110 specie che sono diffuse nelle regioni tropicali e subtropicali⁽¹⁾. Contiene un gran numero di principi attivi a cui, attualmente, non è ancora possibile ricondurre inequivocabilmente l'effetto onirico/allucinogeno riferito dagli assuntori della pianta^(2,3).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: calassina.

Formula Molecolare: C₁₉H₂₀O₆ (peso molecolare = 344,4).

Nome sistematico: 2-acido propenoico, 2-metil-, estere 2,3,3a, 4,5,6,7,11a-octaidro-6,10-dimetil-3-metilene-2,7-diosso-6,9-epos-sicclodeca(b)furan-4-ile, (3aR-(3aR*,4R*,6R*,10Z,11aR*)).

Numero di registro CAS: 30412-86-3.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla formula molecolare, al nome sistematico, al numero di registro CAS, al punto di fusione, all'UVmax e alla solubilità della ciliarina, all'1 β -acetossi-zacatechinolide e all'1-osso-zacatechinolide.

Legislazione

La *Calea zacatechichi* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La *Calea zacatechichi* è impiegata contro i disturbi gastrointestinali, come stimolante dell'appetito, colagogo, così come rimedio contro la dissenteria e febbrifugo⁽¹⁾. La *Calea zacatechichi* possiede, inoltre, attività antiprotozoaria e antimicrobica⁽⁴⁾.

Tossicità

Sono noti i dati tossicità acuta degli estratti organici di *Calea zacatechichi* in modello animale⁽⁵⁾.

Effetti avversi

L'uso di *Calea zacatechichi*, a dosi elevate causa tachicardia, ipertensione, ansia e irritabilità⁽⁶⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono state riportate possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso della *Calea zacatechichi* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Calea zacatechichi* né in liquidi biologici né nelle diverse porzioni della pianta.

Bibliografia

1. MARCHETTI GM, SILVA KA, SANTOS AN, SOUSA IM, TINTI SV, FIGUEIRA GM, FOGLIO MA, CARVALHO JE. The anticancer activity of dichloromethane crude extract obtained from *Calea pinnatifida*. *J Exp Pharmacol*. 2012; 4: 157-162.
2. *Calea zacatechichi* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, pp. 52-53: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
3. *Calea zacatechichi* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 58-59: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
4. WU H, FRONCZEK FR, BURANDT CL JR, ZJAWIONY JK. Antileishmanial Germacranolides from *Calea zacatechichi*. *Planta Med*. 2011; 77: 749-753.
5. *Calea zacatechichi* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 58-59: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. *Calea zacatechichi* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 60: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.11 Citrus aurantium (arancio amaro)



Nome: *Citrus aurantium*

Famiglia: *Rutaceae*

Genere: *Citrus*

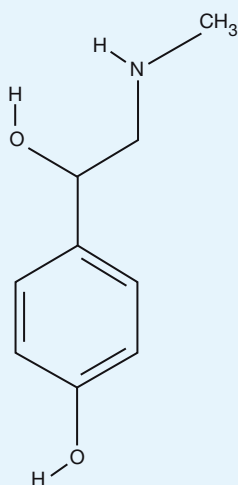
Specie: *Citrus aurantium* L. var. *Amara*

Sinonimi: sour orange, bitter orange, seville orange

Provenienza: sud est asiatico ma ormai presente anche nei paesi a clima temperato. In Europa viene coltivato soprattutto in Spagna e in Italia, nella regione Sicilia

Principi attivi: (\pm)-*p*-sinefrina; (\pm)-*p*-octopamina

Il *Citrus aurantium* contiene un'ampia gamma di costituenti tra cui flavonoidi, limonoidi, furocumarinici, vitamine, carotenoidi, acidi organici ed ammine biogene (sinefrina, octopamina e tiramina), le principali sostanze attive utilizzate per le proprietà dimagranti^(1,2). La principale sostanza farmacologicamente attiva è la *p*-sinefrina, un'ammina adrenergica strutturalmente simile ad altri agonisti adrenergici quali l'epinefrina (adrenalina), la norepinefrina (noradrenalina), l'efedrina, l'amfetamina e la fenilpropanolamina con caratteristiche lipolitiche⁽³⁻⁶⁾.



Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi

Nome: sinefrina (ossedrina).

Formula Molecolare: $C_9H_{13}NO_2$ (peso molecolare = 167,2).

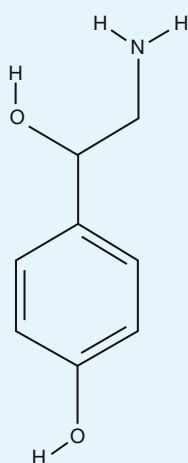
Nome sistematico: 1-(4-idrossifenil)-2-metilaminoetanolo.

Numero di registro CAS: 94-07-5.

Punto di fusione: 184-185°C in forma cristallina, 151-152°C sotto forma di cloridrato. Stabile all'aria ed alla luce⁽⁵⁾.

UVmax: 224 nm. 231, 272 nm in una miscela di tampone acetato pH 4,9: acetonitrile (9:91, v/v).

Solubilità: acqua.



Nome: octopamina.

Formula Molecolare: $C_8H_{11}NO_2$ (peso molecolare = 153,1).

Nome sistematico: 1-(4-idrossifenil)-2-aminoetanolo.

Numero di registro CAS: 104-14-3.

Punto di fusione: 160°C.

UVmax: 224 nm. 231, 272 nm in una miscela di tampone acetato pH 4,9: acetonitrile (9:91, v/v).

Solubilità: acqua. La forma D(-) cristallizza in acqua calda; a 160°C muta in un composto con punto di ebollizione >250°C.

Legislazione

Per quanto riguarda l'octopamina, il decreto del Ministero della Salute del 9 luglio 2012 pubblicato in G.U. Serie Generale n. 169 del 21 luglio 2012 sull'impiego negli integratori alimentari di sostanze e preparati vegetali, recita: "L'apporto massimo di octopamina, come indice della presenza naturale di altre ammine, non deve superare 1/8 di quello della sinefrina"⁽⁷⁾. Non ci sono invece variazioni sull'apporto giornaliero di sinefrina che non deve superare i 30 mg al giorno, corrispondente a circa 800 mg di *Citrus aurantium* con un titolo del 4% di tale sostanza.

L'agenzia mondiale anti doping (World Anti-Doping Agency, WADA) proibisce l'uso di octopamina nelle competizioni sportive, mentre include la sinefrina tra gli stimolanti non proibiti ma da monitorare, solo in competizione, al fine di evitare abusi nello sport⁽⁸⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Recentemente una serie di studi ha evidenziato le proprietà antiossidanti^(9,10), antinfiammatorie^(9,11), antitumorali⁽⁹⁾, ansiolitiche⁽¹²⁾ e antiedematose⁽¹³⁾ dell'estratto di *Citrus aurantium*.

Data la sua similitudine strutturale con l'efedrina, la *p*-sinefrina e l'estratto di *Citrus aurantium* sono da tempo utilizzati negli integratori alimentari per la perdita e/o controllo del peso e come coadiuvanti per migliorare le prestazioni sportive⁽¹⁴⁻¹⁶⁾, nonostante le deboli evidenze a sostegno dell'efficacia di sinefrina come agente termogenico⁽³⁾. In contrasto con queste affermazioni, è stato dimostrato che un integratore alimentare a base di sinefrina associata alla caffeina, alla yohimbina e a metilfenetilamine è capace di aumentare la spesa energetica nei giovani adulti⁽¹⁷⁾.

Tossicità

Nel modello animale sia la *p*-sinefrina che gli estratti di *Citrus aurantium* hanno una bassa tossicità subcronica⁽¹⁸⁾ e dosi fino a 98 mg al giorno di *p*-sinefrina negli esseri umani non causano effetti avversi⁽¹⁹⁾. Sono noti i dati di tossicità acuta della sinefrina e della octopamina in modello animale⁽²⁰⁾.

Effetti avversi

L'uso d'integratori alimentari contenenti estratti di *Citrus aurantium* può causare aumento della frequenza cardiaca, della pressione sanguigna e dell'incidenza d'infarto del miocardio⁽¹⁸⁾. È stato segnalato un caso di infarto del miocardio con prolungamento dell'intervallo QT in un ragazzo di 24 anni⁽²¹⁾ e un episodio di fibrillazione ventricolare in una donna di 37 anni⁽²²⁾.

Gli effetti avversi registrati possono non essere direttamente attribuibili all'assunzione di queste sostanze, ma potrebbero essere correlati all'uso simultaneo di questi prodotti con altre sostanze con azione farmacologica simile (es. caffeina, efedrina, salicina)^(16,23,24). È stato infatti segnalato il caso di una donna di 52 anni che si è presentata al pronto soccorso con tachicardia, aumento della pressione sanguigna, andatura instabile e severa psicosi dovuta al consumo di un integratore alimentare contenente *Citrus aurantium* ed anche caffeina⁽²⁵⁾.

Si ritiene che il consumo di elevate quantità di octopamina possa causare emicrania e ipertensione⁽²⁶⁾.

Interazioni farmacologiche

Recentemente è stato osservato che le bucce essiccate del *Citrus aurantium* determinano un calo della biodisponibilità orale del tacrolimus. Pertanto l'uso di questi prodotti è controindicato per pazienti trapiantati trattati con tacrolimus⁽²⁷⁾.

Effetti in gravidanza

Uno studio condotto su modello animale ha dimostrato che l'assunzione materna e la conseguente esposizione intrauterina di dosi fino a 100 mg/kg di sinefrina (sia da sola che in combinazione con altre sostanze) non producono effetti negativi sulla mortalità embrionale, sul peso fetale e non si sono osservate anomalie macroscopiche viscerali o scheletriche⁽¹⁴⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura diversi metodi analitici per la determinazione dei principi attivi del *Citrus aurantium* sia negli integratori alimentari che in diverse parti della pianta^(2,4,28) che negli oli essenziali di *Citrus*⁽²⁹⁾. Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad un rivelatore con fotomoltiplicatore a serie di diodi e ad uno spettrometro di massa per la simultanea determinazione dell'octopamina e della tiramina in integratori alimentari⁽²⁾. Il secondo utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia associata ad un rivelatore a ionizzazione di fiamma (analisi qualitative) e ad uno spettrometro di massa (analisi quantitative) per la determinazione della *p*-sinefrina negli integratori, nell'estratto e nei frutti immaturi di *Citrus aurantium*⁽⁴⁾. Il terzo metodo utilizza una tecnica separativa in elettrocromatografia capillare associata ad un rivelatore a luce ultravioletta per la determinazione della tiramina, della sinefrina e della octopamina nella buccia del frutto del *Citrus aurantium*⁽²⁸⁾. L'ultimo metodo utilizza una tecnica separativa in gascromatografia-spazio di testa per la separazione ed identificazione degli oli essenziali nelle foglie del *Citrus aurantium*⁽²⁹⁾.

Sono state pubblicate tre nuove metodologie per l'analisi dei principi attivi del *Citrus aurantium* in differenti matrici e fluidi biologici⁽³⁰⁻³²⁾.

Un metodo analitico utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia-spettrometria di massa accoppiata ad un rivelatore in spettrometria di massa a trappola ionica per valutare il riassorbimento della *m*- e *p*-sinefrina in linee cellulari e cardiomiociti di ratto, trattati con tali sostanze⁽³⁰⁾. Un altro utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad uno spettrometro di massa ad alta risoluzione per l'identificazione della sinefrina, dell'octopamina e dei loro prodotti di degradazione fotocatalitica nell'urina di volontari sani e nel sangue di ratto⁽³¹⁾. L'ultimo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione dell'octopamina in campioni di urina di individui che avevano consumato integratori alimentari contenenti sinefrina e octopamina o preparazioni farmaceutiche contenenti le due sostanze⁽³²⁾. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della sinefrina, dell'octopamina nel sangue e nell'urina⁽³¹⁾

Estrazione del campione

100 µl di campione di sangue o di urina vengono idrolizzati a 37°C per una ora con l'aggiunta di 5 µl di β-glucuronidasi. I campioni di sangue vengono successivamente deproteinizzati aggiungendo 100 µl di acido tricloroacetico. Dopo centrifugazione a 4700 rpm, il surnatante del sangue deproteinizzato e i campioni di urina vengono caricati su colonnine per estrazione in fase solida (Oasis MCX, 300 mg) precedentemente condizionate con 1 ml di alcol metilico e 1 ml di acqua. Dopo l'estrazione, le colonnine vengono lavate con 1 ml di acqua e gli analiti eluiti con 500 µl di alcol metilico basificato con ammoniaca (0,64%, v/v). Dopo evaporazione, l'eluato secco viene ricostituito con 200 µl di acido eptatfluorobutanoico 5 mM e 10 µl iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Phenomenex Synergi C18 (150 x 2,0 mm, 3 µm)

Fase mobile A: acido eptatfluorobutanoico 5 mM

Fase mobile B: acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile B: 5%; fino al 100% nell'intervallo 0,01-21,0 minuti)

Flusso: 0,2 ml/min

Rivelatore: spettrometria di massa ad alta risoluzione con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Voltaggio della sorgente: 4,2 kV

Temperatura del capillare: 275°C

Voltaggio del capillare: 7,0 V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

octopamina: 4,33 min

sinefrina: 5,44 min

Frammenti caratteristiche delle sostanze ricercate

octopamina: m/z 154,08; 136,07; 119,04; 91,05

sinefrina: m/z 168,10; 150,09; 119,04; 91,05

Standard

Gli standard di sinefrina e octopamina sono stati acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione della sinefrina e dell'octopamina (range di concentrazione: 0,10-50,0 µg/ml) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di sangue ed urina di controllo.

Risultati

L'analisi viene eseguita su campioni di urina provenienti da tre volontari sani raccolti dopo 3 e 11 ore dalla somministrazione di tre capsule di un integratore alimentare contenente 5 mg di sinefrina e su tre campioni di sangue provenienti da tre ratti prelevati al tempo di somministrazione, dopo 3,5 e 24 ore dalla somministrazione intraperitoneale di 2,4 mg di sinefrina. La concentrazione media della sinefrina e dell'octopamina nei campioni in esame è riportata nella Tabella 1. Nei campioni di urina e di sangue analizzati, gli autori non hanno identificato l'octopamina dimostrando che quest'ultima non si forma per demetilazione della sinefrina in vivo.

Tabella 1. Concentrazioni della sinefrina e dell'octopamina nelle urine dei tre volontari sani dopo somministrazione di un integratore alimentare contenente sinefrina e nel sangue di tre ratti trattati con sinefrina per via intraperitoneale (media + deviazione standard dei tre valori).

| Urine di volontari sani e sangue di ratto | Urine (3 h) (µg/l) | Urine (11 h) (µg/l) | Sangue (3 h) (µg/l) | Sangue (24 h) (µg/l) |
|---|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| sinefrina | 14,3 ± 5,4 | 9,5 ± 5,3 | 101,2 ± 10,7 | 16,4 ± 5,6 |
| octopamina | ND | ND | ND | ND |

ND: non determinata con un limite di rilevabilità di 0,11 µg/l

Bibliografia

1. UCKOO RM, JAYAPRAKASHA GK, NELSON SD, PATIL BS. Rapid simultaneous determination of amines and organic acids in citrus using high-performance liquid chromatography. *Talanta*. 2010; 83: 948-954.
2. GATTI R, LOTTI C, MORIGI R, ANDREANI A. Determination of octopamine and tyramine traces in dietary supplements and phytoextracts by high performance liquid chromatography after derivatization with 2,5-dimethyl-1H-pyrrole-3,4-dicarbaldehyde. *J Chromatogr A*. 2012; 1220: 92-100.
3. ROSSATO LG, COSTA VM, LIMBERGER RP, DE LOURDES BASTOS M, REMÍÃO F. Synephrine: from trace concentrations to massive consumption in weight-loss. *Food Chem Toxicol*. 2011; 49: 8-16.
4. ANDRADE AS, SCHMITT GC, ROSSATO LG, RUSSOWSKY D, LIMBERGER RP. Gas chromatographic method for analysis of p-synephrine in *Citrus aurantium* L. products. *Chromatographia*, 2009; 69: 225-229.
5. *Citrus aurantium* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 56: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
6. *Citrus aurantium* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 63: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
7. MINISTERO DELLA SALUTE. Decreto Ministeriale del 9 luglio 2012 sulla "Disciplina dell'impiego negli integratori alimentari di sostanze e preparati vegetali", che integra il Decreto legislativo 21 maggio 2004, n. 169.
8. http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-Prohibited-list/2013/WADA-Monitoring-Program-2013-EN.pdf
9. KARIMI E, OSKOU EI AN E, HENDRA R, OSKOU EI AN A, JAAFAR HZ. Phenolic Compounds Characterization and Biological Activities of *Citrus aurantium* Bloom. *Molecules*. 2012; 17: 1203-1218.
10. TOUNSI MS, WANNES WA, OUERGHEMMI I, JEGHAM S, BEN NJIMA Y, HAMD AOUI G, ZEMNI H, MARZOUK B. Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian *Citrus* varieties. *J Sci Food Agric* 2011; 91: 142-151.
11. KANG SR, HAN DY, PARK KI, PARK HS, CHO YB, LEE HJ, LEE WS, RYU CH, HA YL, LEE DO H, KIM JA, KIM GS. Suppressive effect on lipopolysaccharide - induced proinflammatory mediators by *Citrus aurantium* in macrophage RAW 264.7 cells via NF- κ B signal pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011. pii: 248592 doi: 10.1155/2011/248592.
12. COSTA CA, CURY TC, CASSETTARI BO, TAKAHIRA RK, FLÓRIO JC, COSTA M. *Citrus aurantium* L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT1A-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. *BMC Complement Altern Med*. 2013; 13: 42-51.
13. MENCHERINI T, CAMPONE L, PICCINELLI AL, GARCÍA MESA M, SÁNCHEZ DM, AQUINO RP, RASTRELLI L. HPLC-PDA-MS and NMR Characterization of a hydroalcoholic extract of *Citrus aurantium* L. var. amara peel with anti-inflammatory activity. *J Agric Food Chem*. 2013; 61: 1686-1693.
14. HANSEN DK, JULIAR BE, WHITE GE, PELLICORE LS. Developmental toxicity of citrus aurantium in rats. *Birth Defects Research (Part B)* 2011; 92: 216-223.
15. STOHS SJ, PREUSS HG, SHARA M. A review of the human clinical studies involving *Citrus aurantium* (bitter orange) extract and its primary protoalkaloid p-synephrine. *Int J Med Sci*. 2012; 9: 527-538.
16. STOHS SJ, PREUSS HG, SHARA M. The safety of *Citrus aurantium* (bitter orange) and its primary protoalkaloid p-synephrine. *Phytother Res*. 2011; 25: 1421-1428.
17. HOFFMAN JR, KANG J, RATAMESS NA, RASHTI SL, TRANCHINA CP, FAIGENBAUM AD. Thermogenic effect of an acute ingestion of a weight loss supplement. *J Int Soc Sports Nutr*. 2009; 6: 1-6.
18. ARBO MD, SCHMITT GC, LIMBERGER MF, CHARAO MF, MORO AM, RIBEIRO GL, DALLEGRAVE E, GARCIA SC, LEAL MB, LIMBERGER RP. Subchronic toxicity of *Citrus aurantium* L. (Rutaceae) extract and p-synephrine in mice. *Regul. Toxicol. Pharmacol*. 2009; 54: 114-117.
19. KAATS GR, MILLER H, PREUSS HG, STOHS SJ. A 60day double-blind, placebo-controlled safety study involving *Citrus aurantium* (bitter orange) extract. *Food Chem Toxicol*. 2013; 55: 358-362.
20. *Citrus aurantium* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 65: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
21. THOMAS JE, MUNIR JA, MCINTYRE PZ, FERGUSON MA. 2009. STEMI in a 24-yearsold man after use of a synephrine-containing dietary supplement: a case report and review of the literature. *Text Heart Inst. J*. 2009; 36: 586-590.
22. STEPHENSEN TA, SARLEY RJ. Ventricular fibrillation associated with use of synephrine containing dietary supplement. *Mil Med*. 2009; 174: 1313-1319.
23. ROSSATO LG, COSTA VM, DE PINHO PG, CARVALHO F, DE LOURDES BASTOS M, REMÍÃO F. Structural isomerization of synephrine influences its uptake and ensuing glutathione depletion in rat isolated cardiomyocytes. *Arch Toxicol*. 2011; 85: 929-939.
24. SCHMITT GC, ARBO MD, LORENSI AL, MACIEL ES, KRAHN CL, MARIOTTI KC, DALLEGRAVE E, LEAL MB, LIMBERGER RP. Toxicological effects of a mixture used in weight loss products: p-synephrine associated with ephedrine, salicin, and caffeine. *Int J Toxicol*. 2012; 31: 184-191.
25. RETAMERO C, RIVERA T, MURPHY K. "Ephedra-free" diet pill-induced psychosis. *Psychosomatics*. 2011; 52: 579-582.
26. PEREIRA V, PONTES M, CÂMARA JS, MARQUES JC. Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure. *J. Chromatogr. A* 2008; 1189: 435-443.
27. LIN SP, WU PP, HOU YC, TSAI SY, WANG MJ, FANG SH, CHAO PD. Different influences on tacrolimus pharmacokinetics by coadministrations of Zhi Ke and Zhi Shi in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 751671. doi: 10.1155/2011/751671.
28. CHIZZALI E, NISCHANG I, GANZERA M. Separation of adrenergic amines in *Citrus aurantium* L. var. amara by capillary electrochromatography using a novel monolithic stationary phase. *J Sep Sci*. 2011; 34: 2301-2304.
29. GHOLIVAND MB, PIRYAEI M, ABOLGHASEMI MM. Analysis of volatile oil composition of *Citrus aurantium* L. by microwave-assisted extraction coupled to headspace solid-phase microextraction with nanoporous based fibers. *J Sep Sci*. 2013; 36: 872-877.
30. ROSSATO LG, DE PINHO PG, SILVA R, CARMO H, CARVALHO F, BASTOS MDE L, COSTA VM, REMÍÃO F. Development and validation of a GC/IT-MS method for simultaneous quantitation of para and meta-synephrine in biological samples. *J Pharm Biomed Anal*. 2010; 52: 721-726.
31. MEDANA C, CALZA P, GIANCOTTI V, DAL BELLO F, ARAGNO M, BAI OCCHI C. Study of the photocatalytic transformation of synephrine: a biogenic amine relevant in anti-doping analysis. *Anal Bioanal Chem*. 2013; 405: 1105-1113.
32. THEVIS M, KOCH A, SIGMUND G, THOMAS A, SCHÄNZER W. Analysis of octopamine in human doping control samples. *Biomed Chromatogr*. 2012; 26: 610-615.

1.12 *Datura stramonium* (erba del diavolo)



Nome: *Datura stramonium*

Famiglia: *Solanaceae*

Genere: *Datura* L.

Specie: *Datura stramonium* L.

Sinonimi: erba del diavolo, erba delle streghe

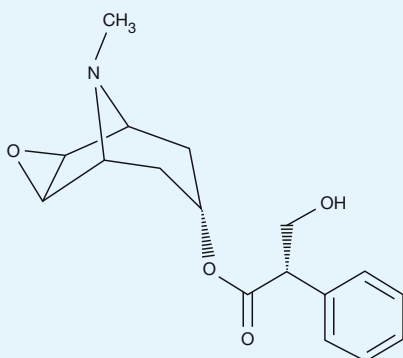
Provenienza: lo stramonio cresce nelle regioni sub-tropicali e nei climi temperati. In Italia, questa specie si trova naturalizzata in tutte le regioni e cresce sporadica nei terreni incolti e nei margini delle strade

Principi attivi: *l*-iosciamina, la miscela racemica atropina (*d,l*-iosciamina), scopolamina

La *Datura stramonium* è una pianta annuale che contiene, in comune con le altre specie della famiglia delle Solanacee (ad esempio la *Brugmansia arborea*), alcaloidi parasimpaticolitici (alcaloidi tropanici) come la scopolamina, la iosciamina e l'atropina⁽¹⁾.

I semi di *Datura stramonium* hanno un alto contenuto di alcaloidi tropanici (2,71 mg/g di atropina e 0,66 mg/g di scopolamina) mentre le foglie ne contengono circa un decimo della quantità totale contenuta nei semi⁽²⁾. La *Datura stramonium* viene utilizzata a scopo voluttuario per le sue presunte proprietà allucinogene da attribuire, così come per le sue proprietà farmacologiche, alla miscela di alcaloidi tropanici anticolinergici che la pianta contiene⁽³⁻⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: scopolamina.

Formula Molecolare: C₁₇H₂₁NO₄ (peso molecolare = 303,3).

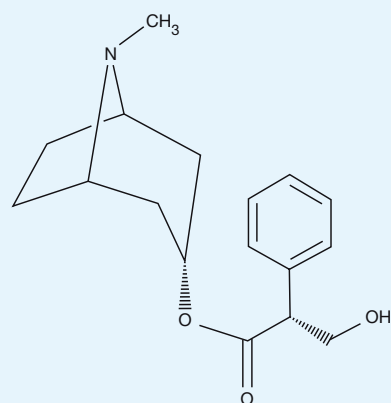
Nome sistematico: acido [7(S)-(1 α ,2 β ,4 β ,5 α ,7 β)]- α -(idrossimetil) benzenacetico 9-metil-3-ossa-9-azatriciclo-[3.3.1.0^{2,4}]non-7-il-estere.

Numero di registro CAS: 51-34-3.

Punto di fusione: 59°C.

UVmax: 246, 252, 258 nm.

Solubilità: solubile in acqua calda, alcol, etere, cloroformio, acetone.



Nome: iosciamina.

Formula Molecolare: C₁₇H₂₃NO₃ (peso molecolare = 289,4).

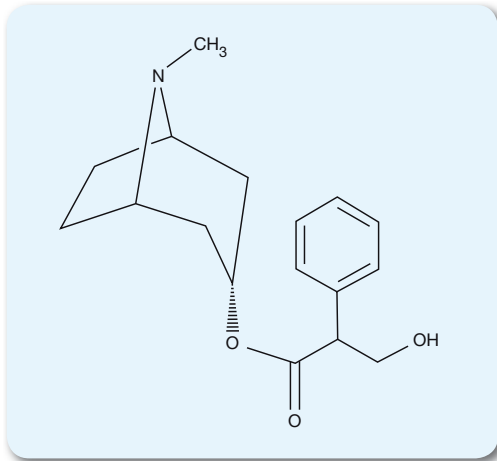
Nome sistematico: α -(idrossimetil)-, (3-endo)-8-metil-8-azabicyclo (3.2.1)ott-3-il, estere, (α S)-acido benzenacetico.

Numero di registro CAS: 101-31-5.

Punto di fusione: 108,5°C.

UVmax: 258 nm (alcol metilico).

Solubilità: solubile in alcol e acidi diluiti.



Nome: atropina.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{23}NO_3$ (peso molecolare = 289,4).

Nome sistematico: (1R,5S)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il] 3-idrossi-2-fenilpropanoato).

Numero di registro CAS: 51-55-8.

Punto di fusione: 108,5°C.

UVmax: 258 nm (alcol metilico).

Solubilità: solubile in alcol ed acidi.

Legislazione

La *Datura stramonium* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito le foglie, i semi e le sommità della *Datura stramonium* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁶⁾. E la pianta, i suoi preparati, la iosciamina e i suoi sali in un elenco di sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici⁽⁷⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Sono stati evidenziati potenziali effetti antinfiammatori⁽⁸⁾, antimicrobici⁽⁹⁾ larvicidi e repellenti^(10,11) della *Datura stramonium*. I semi, che contengono una alta concentrazione di alcaloidi, potrebbero essere potenzialmente utili come alternativa all'atropina per il trattamento dei sintomi muscarinici da organofosfati, degli effetti anticolinergici centrali⁽¹⁾ e trovano utilizzo, così come le foglie, nella fitomedicina come sedativo nei pazienti isterici e psicotici e nel trattamento dell'insonnia⁽¹²⁾.

Tossicità

Tutte le parti della *Datura stramonium* sono tossiche, anche se la percentuale maggiore degli alcaloidi è contenuta nei semi⁽⁹⁾. Studi di tossicità acuta e cronica su modello animale hanno dimostrato che la singola somministrazione di 100 mg/kg di alcaloidi totali non ha provocato nessun decesso nei ratti, né segni di tossicità mentre nel caso della somministrazione ripetuta fino a quattro settimane di dosi di 4,2 mg/kg/die di atropina e di 1,6 mg/kg/die di scopolamina si osservano diarrea, ipoattività e riduzione del peso del fegato⁽¹³⁾.

Sono noti i dati di tossicità acuta della scopolamina, della iosciamina e dell'atropina in modello animale e nell'uomo⁽¹⁴⁾.

Effetti avversi

Secondo la quantità consumata, gli alcaloidi contenuti nella *Datura stramonium* possono avere effetti avversi sinergici che determinano perdita di memoria, stupor, amnesia, euforia, stimolazione del sistema nervoso centrale seguita da depressione e in rari casi anche da convulsioni, allucinazioni, coma^(15,16). È stata riportata in letteratura una morte per insufficienza cardiaca dopo l'ingestione di 125 semi e diversi casi d'intossicazione acuta^(1,2,4,13,17-19). A basse dosi (0,5-1 mg), l'atropina porta ad eccitazione mite, mentre la scopolamina porta a sonnolenza e affaticamento⁽¹³⁾.

Interazioni farmacologiche

Sono note interazioni farmacologiche della scopolamina e della iosciamina⁽²⁰⁾.

Effetti in gravidanza

L'uso in gravidanza di *Datura stramonium* causa un rilascio continuo di acetilcolina, con conseguente desensibilizzazione dei recettori nicotinici, che possono provocare danni permanenti al feto⁽²¹⁾.

Determinazioni Analitiche

È presente in letteratura un metodo analitico che utilizza un cromatografo liquido accoppiato alla spettrometria di massa per la determinazione dell'atropina e della scopolamina nello stelo, nelle foglie, nei fiori e nei semi della *Datura stramonium*⁽²²⁾.

Negli ultimi anni sono state pubblicate metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Datura stramonium* nei liquidi biologici^(19,23-25).

Di questi metodi analitici, tre utilizzano una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione dell'atropina^(19,24) e della scopolamina^(19,23,24) in campioni di capelli^(19,23) di sospetti intossicati da *Datura stramonium* e nel plasma per studiarne la stabilità⁽²⁴⁾. Il quarto metodo utilizza un'elettroforesi capillare accoppiata ad uno spettrometro di massa a tempo di volo per la determinazione dell'atropina e della scopolamina in plasma e urina⁽²⁵⁾. Poiché è nota la metodologia di analisi degli alcaloidi tropanici nei liquidi biologici convenzionali quali sangue e urina⁽²⁶⁾, si riporta una metodologia di analisi di tali alcaloidi in matrice cheratinica per una eventuale individuazione dell'uso pregresso di questa pianta⁽¹⁹⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dell'atropina e della scopolamina nei capelli⁽¹⁹⁾

Estrazione del campione

Prima di segmentare il campione e di eseguire l'estrazione degli alcaloidi, i capelli vengono decontaminati con cloruro di metilene (immersione per 2 minuti) e lavati con acqua tiepida (immersione per 2 minuti). Ciascun segmento viene successivamente polverizzato con un mulino a sfere. Circa 20 mg di ciascun segmento vengono incubati per 10 minuti a temperatura ambiente con 1 ml di tampone fosfato a pH 5,0. Dopo l'aggiunta di 2 ml di tampone carbonato a pH 9,7 si effettua un'estrazione liquido-liquido con 4 ml di una miscela di esano/acetato di etile (1/1, v/v). Il residuo viene risospeso in 80 µl di fase mobile (20% acetonitrile e 80% tampone formiato, 0,1% 2 mM in acqua). Un volume di 10 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Hypersil GOLD PFP (100 x 2,1 mm x 1,9 µm)

Fase mobile A: 0,1% tampone formiato 2 mM in acqua

Fase mobile B: acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile B: dal 20% al 90% tra 0,0-10,0 minuti; al 20% tra 10,0-10,01; mantenuto al 20% tra 10,01-12,0 minuti)

Flusso: 0,3 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa tandem con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del capillare: 350°C

Voltaggio del capillare: 3,5 kV

Energia di collisione: 23 V per l'atropina, 20 V per la scopolamina, 29 V per la chetamina-δ4 (standard interno).

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

atropina: 2,93 min

scopolamina: 2,29 min

ketamina-d₄ (standard interno): 2,99 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

atropina: m/z 290,17 → 124,1; 290,17 → 93,1

scopolamina: m/z 304,16 → 138,1; 304,16 → 103,02

ketamina-d₄ (standard interno): m/z 242,1 → 224,2; 242,1 → 129,1

Standard

Gli standard di atropina e scopolamina sono reperibili presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Lo standard di Chetamina- δ_4 è reperibile presso la ditta LGC Standards (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione (range di concentrazione: 1,0-1000,0 pg/mg) e i controlli di qualità (1,5, 30, 75 e 750 pg/mg) dell'atropina e della scopolamina vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di capelli di controllo.

Risultati

L'analisi viene eseguita su un campione di capelli provenienti da un soggetto intossicato dopo aver bevuto un infuso di semi di *Datura stramonium*. Il campione è stato raccolto 15 giorni dopo l'ingestione presso l'ospedale dove il soggetto è stato ricoverato. La concentrazione dell'atropina (8,4-15,0 pg/mg) e della scopolamina (1,0-1,3 pg/mg) nei segmenti del campione in esame è riportata nella Tabella 1.

Tabella 1. Concentrazioni dell'atropina e della scopolamina nei segmenti di capelli (pg/mg).

| Segmento (cm) | Atropina (pg/mg) | Scopolamina (pg/mg) |
|---------------|------------------|---------------------|
| 0,0 - 1,5 | 15,0 | 1,0 |
| 1,5 - 3,5 | 9,9 | 1,2 |
| 3,5 - 5,5 | 8,4 | 1,2 |
| 5,5 - 8,0 | 11,4 | 1,3 |

Bibliografia

1. SONI P, SIDDIQUI AA, DWIVEDI J, SONI V, SAHU RK. Pharmacological properties of *Datura stramonium* L. as a potential medicinal tree: An overview. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012; 2: 1002-1008.
2. MACCHIAIOLO M, VIGNATI E, GONFIANTINI MV, GRANDIN A, ROMANO MT, SALATA M, VALENTINI D, VILLANI A. An unusual case of anisocoria by vegetal intoxication: a case report. *Ital J Pediatr.* 2010; 36: 50-52.
3. ADEGOKE SA, ALO LA. *Datura stramonium* poisoning in children. *Niger J Clin Pract.* 2013; 16: 116-118.
4. DEVI MR, BAWARI M, PAUL SB, SHARMA GD. Neurotoxic and Medicinal Properties of *Datura stramonium* L. – Review. *Biol Environ Sci.* 2011; 7: 139-144.
5. *Datura stramonium* in: “Smart Drugs” Seconda Edizione 2010, p. 70: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
7. Elenco delle sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_145_listaFile_itemName_0_file.pdf
8. GUPTA S, RAGHUVANSHI M, JAIN D. Comparative studies on anti-inflammatory activity of *Coriandrum Sativum*, *Datura stramonium* and *Azadirachta Indica*. *Asian J Exp Biol Sci.* 2010; 1: 151-154.
9. SHAGAL MH, MODIBBO UU, LIMAN AB. Pharmacological justification for the ethnomedical use of *Datura stramonium* stem-bark extract in treatment of diseases caused by some pathogenic bacteria. *Int Res Pharm Pharmacol.* 2012; 2: 16-19.
10. KURNAL NA, ÇOBANOĞLU S, YALCIN C. Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). *J Pest Sci.* 2010; 83: 173-180.
11. SWATHI S, MURUGANANTHAN G, GHOSH SK, PRADEEP AS. Larvicidal and repellent activities of ethanolic extract of *Datura stramonium* leaves against mosquitoes. *Inter J Pharmacogn Phytochem Res.* 2012; 4: 25-27.
12. PANDEY M, DEBNATH M, GUPTA M, CHIKARA SK. Phytomedicine: An ancient approach turning into future potential source of therapeutics. *J Pharmacogn Phytother* 2011; 3: 27-37.
13. STELLA L, VITELLI MR, PALAZZO E, OLIVA P, DE NOVELLIS V, CAPUANO A, SCAFURO MA, BERRINO L, ROSSI F, MAIONE S. *Datura Stramonium* Intake: A Report on Three Cases. *J Psychoactive Drugs.* 2010; 42: 507-512.
14. *Datura stramonium* in: “Smart Drugs” Seconda Edizione 2010, p. 72: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
15. BOUZIDIA, MAHDEB N, KARA N. Toxicity studies of alkaloids of seeds of *Datura stramonium* and synthesis alkaloids in male rats. *J Med Plants Res.* 2011; 5: 3421-3431.
16. KRENZELOK EP. Aspects of *Datura* poisoning and treatment. *Clin Toxicol.* 2010; 48: 104-110.
17. KARADAŞ S, SELVI Y, ŞAHİN M, SELVI F, ÖNCÜ R, ÖZGÖKÇE F. *Datura Stramonium* Intoxication: Report of a Case with Psychiatric Symptoms. *J Psychiat Neurol Sci.* 2011; 24: 152-154.
18. RAKOTOMAVO F, ANDRIAMASY C, RASAMOELINA N, RAVELOSON N. *Datura stramonium* intoxication in two children. *Pediatr Int.* 2014; 56: e14-16.
19. RICARD F, ABE E, DUVERNEUIL-MAYER C, CHARLIER P, DE LA GRANDMAISON G, ALVAREZ JC. Measurement of atropine and scopolamine in hair by LC–MS/MS after *Datura stramonium* chronic exposure. *Forensic Sci Int.* 2012; 223: 256-260.
20. *Datura stramonium* in: “Smart Drugs” Seconda Edizione 2010, p. 73: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
21. GAIRE BP, SUBEDI L. A review on the pharmacological and toxicological aspects of *Datura stramonium* L. *J Integr Med.* 2013; 11: 73-79.
22. JAKABOVÁ S, VINCZE L, FARKAS A, KILÁR F, BOROS B, FELINGER A. Determination of tropane alkaloids atropine and scopolamine by liquid chromatography-mass spectrometry in plant organs of *Datura* species. *J Chromatogr A.* 2012; 1232: 295-301.
23. CASTRO A, LENDOIRO E, QUINTELA O, CONCEIRO M, LO´ PEZ-RIVADULLA M, CRUZ A. Hair analysis interpretation of an unusual case of alleged scopolamine-facilitated sexual assault. *Forensic Toxicol.* 2012; 30: 193-198.
24. JOHN H, BINDER T, HÖCHSTETTER H, THIERMANN H. LC-ESI MS/MS quantification of atropine and six other antimuscarinic tropane alkaloids in plasma. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 396: 751-763.
25. YU Z, WU Z, GONG F, WONG R, LIANG C, ZHANG Y, YU Y. Simultaneous determination of six toxic alkaloids in human plasma and urine using capillary zone electrophoresis coupled to time-of-flight mass spectrometry. *J Sep Sci.* 2012; 35: 2773-2780.
26. *Brugmansia arborea* in: “Smart Drugs” Seconda Edizione 2010, pp. 56-57: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.13 Ephedra sinica (ma huang)



Nome: *Ephedra sinica*

Famiglia: *Ephedraceae*

Genere: *Ephedra* L.

Specie: *Ephedra sinica* Stapf.

Sinonimi: mao, ma-huang

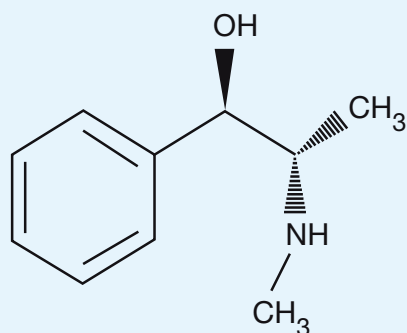
Provenienza: Asia (Cina, Corea, Giappone)

Principi attivi: efedrina, *d*-pseudoefedrina, N-metilefedrina, N-metilpseudoefedrina, norpseudoefedrina, norefedrina (fenilpropanolamina)

L'*Ephedra sinica* (ma-huang) è un arbusto di origine cinese conosciuto da oltre 5000 anni. Ci sono circa 45 specie di *Ephedra* distribuite in tutto il mondo e con un contenuto variabile di alcaloidi. Alcune, come le specie americane e cilene, hanno un contenuto di principi attivi scarso o quasi nullo così come l'unica specie comune in Europa (*Ephedra distachya*). Al contrario, le specie cinesi e indiane hanno un alto contenuto di alcaloidi efedrinici^(1,2).

Gli alcaloidi dell'*Ephedra* hanno effetti simpaticomimetici e stimolano il rilascio di catecolamine endogene (es. noradrenalina), che agiscono come agonisti per i recettori α - e β -adrenergici del sistema nervoso centrale⁽³⁾. Attualmente l'*Ephedra sinica* e in particolare il principale alcaloide, l'efedrina, sono utilizzate come sostituto o adulterante nei prodotti venduti su internet come sostanze "da sbalzo legale", stimolanti ed anche come estratti vegetali per perdere peso⁽⁴⁻⁶⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: efedrina.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{15}NO$ (peso molecolare = 165,2).

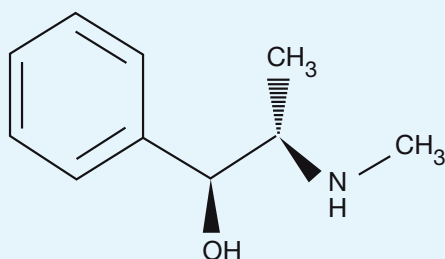
Nome sistematico: (1R,2S)-2-metilammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 299-42-3.

Punto di fusione: 38°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: acqua, alcol, cloroformio, etere, glicerolo, paraffina liquida.



Nome: pseudoefedrina.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{15}NO$ (peso molecolare = 165,2).

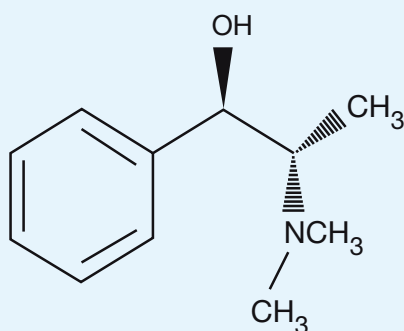
Nome sistematico: (1S,2S)-2-metilammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 90-82-4.

Punto di fusione: 116-119°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: alcol etilico, etere. Parzialmente solubile in acqua.



Nome: metilefedrina.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{17}NO$ (peso molecolare = 179,3).

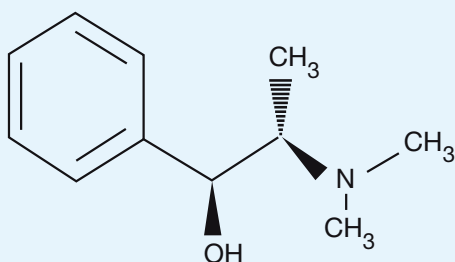
Nome sistematico: (1R,2S)-2-dimetilammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 17605-71-9.

Punto di fusione: 190°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: cloroformio, etere.



Nome: metilpseudoefedrina.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{17}NO$ (peso molecolare = 179,3).

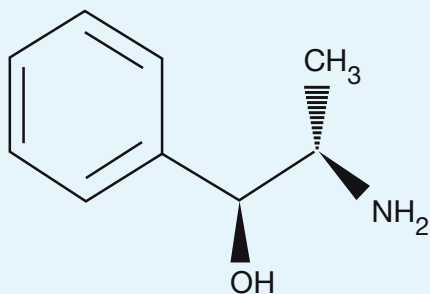
Nome sistematico: (1S,2S)-2-dimetilammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 51018-28-1.

Punto di fusione: 190°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: cloroformio, etere.



Nome: norpseudoefedrina (catina).

Formula Molecolare: $C_9H_{13}NO$ (peso molecolare = 151,2).

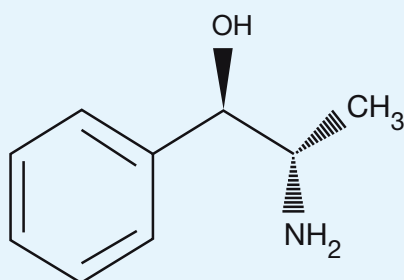
Nome sistematico: (1S,2S)-2-ammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 36393-56-3.

Punto di fusione: 75-78°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: cloroformio, etere.



Nome: norefedrina (fenilpropanolamina).

Formula Molecolare: $C_9H_{13}NO$ (peso molecolare = 151,2).

Nome sistematico: (1R,2S)-2-ammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 14838-15-4.

Punto di fusione: 101°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: alcol, cloroformio, etere.

Legislazione

In Italia, la norpseudoefedrina (o catina) è inserita nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Diversamente né la pianta o parti di essa sono inseriti in tale o altre Tabelle del suddetto articolo. L'efedrina è compresa nella lista dei farmaci, delle sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e delle pratiche mediche, il cui impiego è considerato doping, ai sensi della legge 14 dicembre 2000, n. 376 (Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping)⁽⁷⁾. Il Ministero della Salute ha inserito gli steli e la pianta erbacea dell'*Ephedra sinica* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁸⁾ e l'efedrina e i suoi sali in un elenco di sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici⁽⁹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Gli effetti farmacologici dell'*Ephedra sinica* sono da attribuire agli alcaloidi che essa contiene. L'assunzione sia acuta che cronica di un estratto di *Ephedra* agisce a livello del sistema nervoso autonomo spostando il sistema simpato-vagale verso un aumento dell'attività simpatica, compromettendo l'attività parasimpatica e aumentando i rischi cardiovascolari⁽¹⁰⁾. Gli alcaloidi dell'*Ephedra* possono infatti causare un'accelerazione e/o un battito cardiaco irregolare⁽¹¹⁾.

Sono stati evidenziati potenziali effetti antimicrobici dell'*Ephedra sinica*⁽¹²⁾ e la possibilità di utilizzo nel trattamento dell'obesità e dell'iperglicemia⁽¹³⁾.

La pseudoefedrina rimane un utile decongestionante, sebbene la possibilità di una sua conversione chimica in una sostanza illecita come la metamfetamina ne limita la vendita e la disponibilità in molti paesi⁽¹⁴⁾.

Tossicità

La somministrazione di 350 e 400 mg/kg di una miscela utilizzata per perdere peso (*p*-sinefrina associata a efedrina, salicina e caffeina) in modello murino provoca la morte degli animali a causa di emorragie cardiopolmonari⁽¹⁵⁾. Sono noti i dati di tossicità acuta dell'efedrina, pseudoefedrina e norefedrina in modello animale e nell'uomo⁽¹⁶⁾.

Effetti avversi

I più comuni effetti avversi associati all'uso di *Ephedra* sono: tachicardia, ipertensione, diaforesi, broncodilatazione, agitazione e midriasi⁽¹⁰⁾. A livello cardiovascolare, l'uso cronico di *Ephedra* può portare a ischemia del miocardio, ictus, cardiomiopatie e disritmie^(10,17,18).

In letteratura sono riportati due casi di rabdomiolisi legati all'uso d'integratori contenenti efedrina che hanno richiesto in un caso emofiltrazione⁽¹⁶⁾ e nell'altro trapianto di fegato⁽¹⁹⁾.

L'associazione di diversi simpaticomimetici presenti negli integratori a base di *Ephedra* può produrre cardiotossicità aggravata, inoltre, dalla presenza di nicotina⁽²⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Sono note possibili interazioni farmacologiche dei prodotti a base di *Ephedra sinica*⁽²¹⁾.

Effetti in gravidanza

L'efedrina è in grado di passare nel latte materno e di attraversare la placenta. L'ingestione della sostanza durante la gravidanza può causare nel feto iperattività, irritabilità e tachicardia⁽²²⁾.

Determinazioni Analitiche

Per la determinazione degli alcaloidi dell'*Ephedra* negli estratti della pianta, nei prodotti della medicina tradizionale cinese, nei decotti e negli infusi sono presenti in letteratura due metodi analitici che utilizzano un cromatografo liquido accoppiato alla spettrometria di massa a fascio di particelle (particle beam)⁽²³⁾ e ad un rivelatore a luce ultravioletta⁽²⁴⁾ ed un metodo gas cromatografico accoppiato alla spettrometria di massa⁽²⁵⁾.

Sono disponibili anche metodiche per l'analisi dei principi attivi dell'*Ephedra sinica* nei liquidi biologici di modelli animali e nell'uomo⁽²⁶⁻²⁹⁾.

Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in elettroforesi capillare accoppiata ad un rivelatore a luce ultravioletta per la determinazione dell'efedrina e della pseudoefedrina nel plasma di topo⁽²⁶⁾, mentre il secondo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem per la determinazione dell'efedrina nel plasma di ratto⁽²⁷⁾.

Il terzo e il quarto metodo utilizzano: uno l'elettroforesi capillare su microchip accoppiata ad un rivelatore a fluorescenza⁽²⁸⁾, l'altro l'elettroforesi capillare accoppiata ad un rivelatore ad elettrochemiluminescenza⁽²⁹⁾ per la determinazione degli alcaloidi dell'*Ephedra* nell'urina e nei prodotti della medicina tradizionale cinese.

È nota una metodologia di analisi degli alcaloidi dell'*Ephedra sinica* nel plasma di assuntori⁽³⁰⁾.

Bibliografia

1. LEE MR. The history of Ephedra (ma-huang). *J R Coll Physicians Edinb.* 2011; 41: 78-84.
2. KRIZEVSKI R, BAR E, SHALIT O, SITRIT Y, BEN-SHABAT S, LEWINSOHN E. Composition and stereochemistry of ephedrine alkaloids accumulation in *Ephedra sinica* Stapf. *Phytochemistry.* 2010; 71: 895-903.
3. BROWN CE, TRAUTH SE, GRIPPO RS, GURLEY BJ, GRIPPO AA. Combined Effects of Ephedrine-containing dietary supplements, caffeine, and nicotine on morphology and ultrastructure of rat hearts. *Journal of Caffeine Research.* September 2012; 2: 123-132.
4. DAVIES S, WOOD DM, SMITH G, BUTTON J, RAMSEY J, ARCHER R, HOLT DW, DARGAN PI. Purchasing 'legal highs' on the Internet-is there consistency in what you get? *QJM.* 2010; 103: 489-493.
5. *Ephedra sinica* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, pp. 64-65: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
6. *Ephedra sinica* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 77: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
7. Lista di dei farmaci, delle sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e delle pratiche mediche, il cui impiego è considerato doping, ai sensi della legge 14 dicembre 2000, n. 376. <http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2013/07/10/13A05816/sg%20>
8. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari:http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
9. Elenco delle sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_145_listaFile_itemName_0_file.pdf
10. CHEN WL, TSAI TH, YANG CC, KUO TB. Effects of ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *J Ethnopharmacol.* 2010; 130: 563-568.
11. GHOSH A, GHOSH T. Herbal drugs of abuse. *Syst Rev Pharm.* 2010; 1: 141-145.
12. ZANG X, SHANG M, XU F, LIANG J, WANG X, MIKAGE M, CAI S. A-Type Proanthocyanidins from the stems of *ephedra sinica* (Ephedraceae) and their antimicrobial activities. *Molecules.* 2013; 18: 5172-5178.
13. SONG MK, UM JY, JANG HJ, LEE BC. Beneficial effect of dietary *Ephedra sinica* on obesity and glucose intolerance in high-fat diet-fed mice. *Exp Ther Med.* 2012; 3: 707-712.
14. DAWSON P, MOFFATT JD. Cardiovascular toxicity of novel psychoactive drugs: lessons from the past. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012; 39: 244-252.
15. SCHMITT GC, ARBO MD, LORENSI AL, MACIEL ES, KRAHN CL, MARIOTTI KC, DALLEGRAVE E, LEAL MB, LIMBERGER RP. Toxicological effects of a mixture used in weight loss products: p-synephrine associated with ephedrine, salicin, and caffeine. *Int J Toxicol.* 2012; 31: 184-191.
16. *Ephedra sinica* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 79-80: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
17. BHARATULAA, NEW PW. Cough mixture dependence and stroke: implications for pseudoephedrine regulation. *Med J Aust.* 2011; 194: 427.
18. RHIDIAN R. Running a risk? Sport supplement toxicity with ephedrine in an amateur marathon runner, with subsequent rhabdomyolysis. *BMJ Case Rep.* 2011; doi:10.1136/bcr.11.2011.5093.
19. GANDHI M, YAQUB M. Energy enhancement to severe toxicity requiring a transplant - A case of *Ephedra* toxicity. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55: B56.
20. BROWN CE, TRAUTH SE, GRIPPO RS, GURLEY BJ, GRIPPO AA. Combined Effects of Ephedrine-containing dietary supplements, caffeine, and nicotine on morphology and ultrastructure of rat hearts. *J Caff Research.* 2012; 2: 123-132.
21. *Ephedra sinica* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 80-81: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
22. *Ephedra sinica* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 81: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
23. CASTRO J, KRISHNA MV, MARCUS RK. Liquid chromatography-particle beam electron ionization mass spectrometry Method for Analysis of Botanical Extracts: Evaluation of Ephedrine Alkaloids in Standard Reference Materials. *J AOAC Int.* 2010; 93: 1788-1797.
24. CHENI Y, LI X, CHENI F, ZHU1 Q, LUO J. Simultaneous determination of ephedra alkaloids in traditional chinese medicines by high-performance liquid chromatography. *Acta Chromatographica* 2012; 24: 475-487.
25. MASCHERINI V, GORI L, FIRENZUOLI F, VANNACCI A, GALLO E. Qualitative and quantitative gas-chromatography-mass-spectrometry analysis of ephedrine on traditional Chinese medicine based *Ephedra sinica* (Ma Huang) preparations containing versus ephedra decoction and infuse. *J Soc Integr Oncol.* 2010; 8: 201-202.
26. ZHANG C, GUO H, GUAN L, ZHANG W, WEN O, CHEN C. Simultaneous determination of ephedrine and pseudoephedrine in mice plasma by capillary zone electrophoresis. *Int J Chem.* 2011; 3: 202-206.
27. ZHENG Z, YAN T, CHEN W, YE L, TANG L, LIU Z. Pharmacokinetic determination of ephedrine in *Herba Ephedrae* and *Wu Tou Tang* decoctions in rats using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Xenobiotica.* 2012; 42: 775-783.
28. BELDER D, TOLBA K, NAGL S. Rapid quantitative determination of ephedra alkaloids in tablet formulations and human urine by microchip electrophoresis. *Electrophoresis* 2011; 32: 440-447.
29. LIU YM, LI J, YANG Y, DU J, MEI L. Separation and determination of ephedra alkaloids in traditional Chinese medicine and human urines by capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence detection. *Can J Chem.* 2012; 90: 180-185.
30. *Ephedra sinica* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 81-83: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.14 *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali)



Nome: *Eurycoma longifolia*

Famiglia: *Simaroubaceae*

Genere: *Eurycoma*

Specie: *Longifolia*

Sinonimi: tongkat ali, pasak bumi ginseng della Malesia

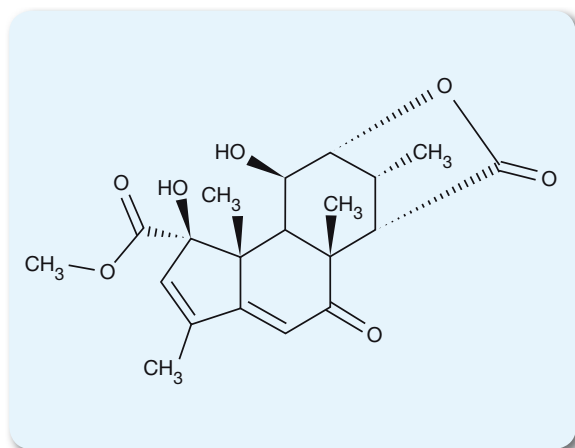
Provenienza: Indonesia, Malesia

Principi attivi: quassinoidi (euricolattoni e derivati), derivati del cantin-6-one, β -carbolina-1-acido propanoico e 7-idrossi- β -carbolina-1-acido propanoico

L'*Eurycoma longifolia*, nota come Tongkat Ali, è una delle piante tropicali più popolari nei paesi del Sud-Est asiatico, soprattutto in Indonesia e Malesia⁽¹⁾. È comunemente utilizzata per migliorare la libido maschile e aumentare i livelli di testosterone⁽¹⁾.

Una vasta gamma di composti chimici sono stati isolati dalle radici di *Eurycoma longifolia*^(1,2). Tra questi, gli alcaloidi del gruppo del cantin-6-one i quassinoidi (Euricolattone A-E, Euricomalattone, Euricomandone, Euricomandolo, Lauricolattone A-B) e i derivati della β -carbolina rappresentano la percentuale maggiore^(1,2).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: Euricolattone A.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{24}O_7$ (peso molecolare = 376,2).

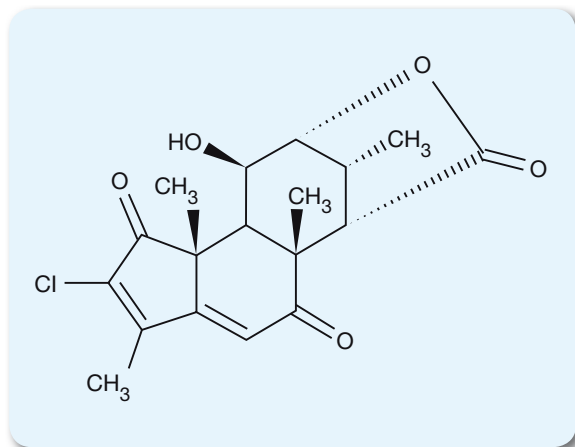
Nome sistematico: non sono presenti in letteratura dati relativi al nome sistematico.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricolattone B.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{19}ClO_5$ (peso molecolare = 350,0).

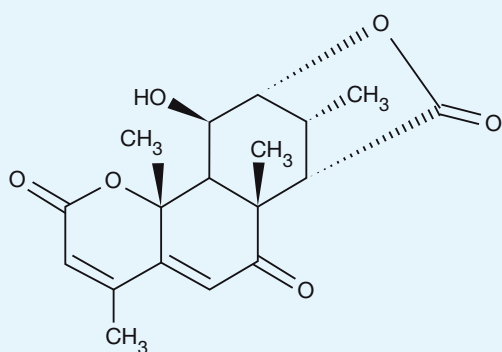
Nome sistematico: (1R,2R,5S,5aR,10aR,10bS,11R)-9-cloro-5,5a,10a,10b-tetraidro-1-idrossi-5a,8,10a,11-tetrametil-2,5-metano-2H-indeno(4,5-d)ossepin-4,6,10(1H)-trione.

Numero di registro CAS: 301644-47-3.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricolattone C.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{20}O_6$ (peso molecolare = 332,1).

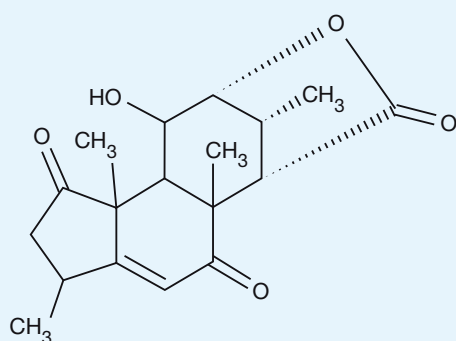
Nome sistematico: non sono presenti in letteratura dati relativi al nome sistematico.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricolattone D.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{22}O_5$ (peso molecolare = 318,1).

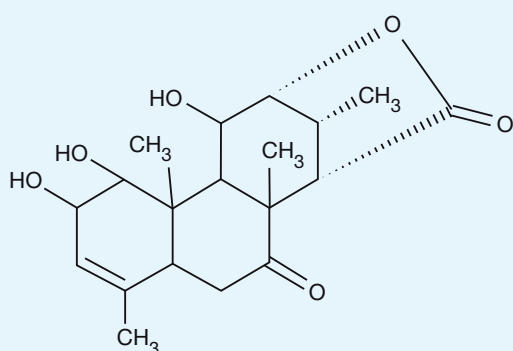
Nome sistematico: (1R,2R,5S,5aR,8R,10aR,10bS,11R)-5,5a,8,9,10a,10b-esaidro-1-idrossi-5a,8,10a,11-tetrametil-2,5-metano-2H-indeno(4,5-d)ossepin-4,6,10(1H)-trione.

Numero di registro CAS: 441334-12-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricolattone E.

Formula Molecolare: $C_{19}H_{26}O_6$ (peso molecolare = 350,1).

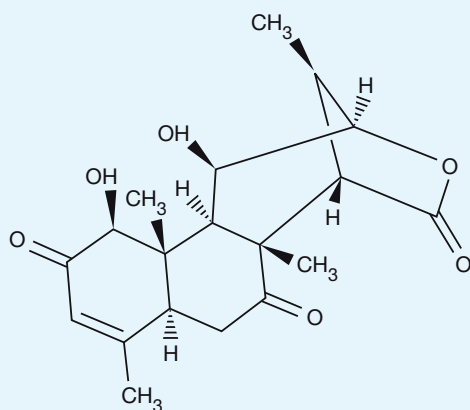
Nome sistematico: (1R,2R,5S,5aR,7aS,10S,11S,11aS,11bR,12R)-1,10,11-triidrossi-5a,8,11a,12-tetrametil-1,2,5,5a,7,7a,10,11,11a,11b-decaidro-2,5-metanonaft(1,2-d)ossepin-4,6-dione.

Numero di registro CAS: 441334-14-1.

Punto di fusione: 223,7°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricomalattone.

Formula Molecolare: $C_{19}H_{24}O_6$ (peso molecolare = 348,3).

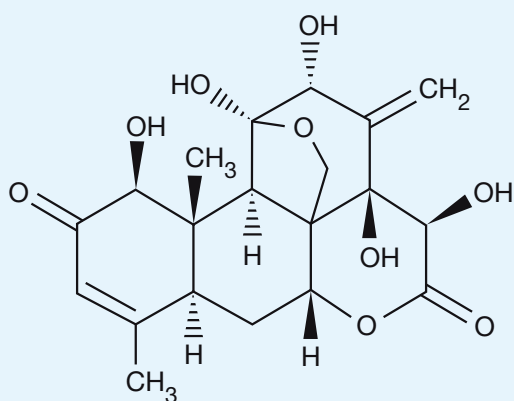
Nome sistematico: (1S,2R,5S,9S,10S,11R,12R,13R,16R)-9,12-Diidrossi-2,6,10,16-tetrametil-14-ossatetraciclo[11.2.1.0.2,11.0.5,10]esadec-6-ene-3,8,15-trione.

Numero di registro CAS: 23062-24-0.

Punto di fusione: 222,0°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricomanoone.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{25}O_9$ (peso molecolare = 409,1).

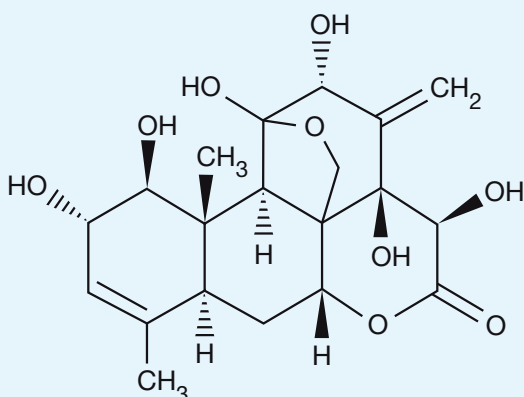
Nome sistematico: (1 β ,11 β ,12 α ,15 β)-1,11,12,14,15-Penta-idrossi-11,20-epossipicrasa-3,13(21)-diene-2,16-dione.

Numero di registro CAS: 84633-29-4.

Punto di fusione: 252-254°C.

UVmax: 239 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Euricomano.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{26}O_9$ (peso molecolare = 410,1).

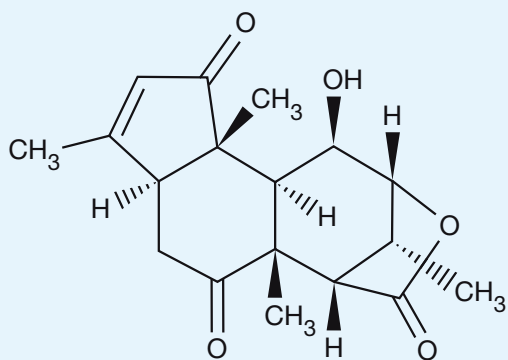
Nome sistematico: (1 β ,2 α ,11 β ,12 α ,15 β)-11,20-epossi-1,2,11,12,14,15-esaidrossipicrasa-3,13(21)-diene-16-one.

Numero di registro CAS: 84633-28-3.

Punto di fusione: 272-274°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Lauricolattone A.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{22}O_5$ (peso molecolare = 318,1).

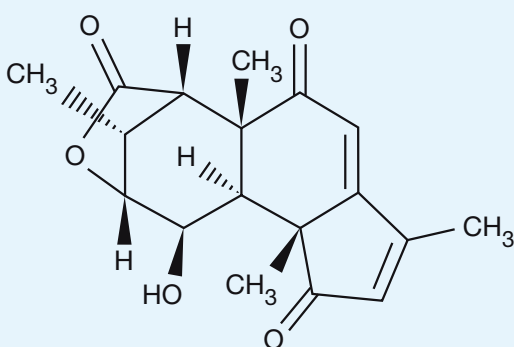
Nome sistematico: (1R,2R,5S,5aR,7aS,10aS,10bS,11R)-5,5a,7,7a,10a,10b-esaidro-1-idrossi-5a,8,10a,11-tetrametil-2,5-Metano-2H-indeno(4,5-d)ossepin-4,6,10(1H)-trione.

Numero di registro CAS: 85643-76-1.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Lauricolattone B.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{20}O_5$ (peso molecolare = 316,1).

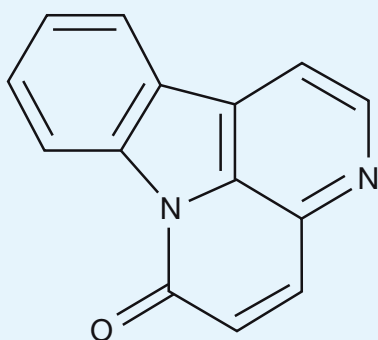
Nome sistematico: (1R,2R,5S,5aR,10aR,10bS,11R)-5,5a,10a,10b-tetraidro-1-idrossi-5a,8,10a,11-tetrametil-2,5-Metano-2H-indeno(4,5-d)ossepin-4,6,10(1H)-trione.

Numero di registro CAS: 85643-77-2.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: Cantin-6-one.

Formula Molecolare: $C_{14}H_8N_2O$ (peso molecolare = 220,0).

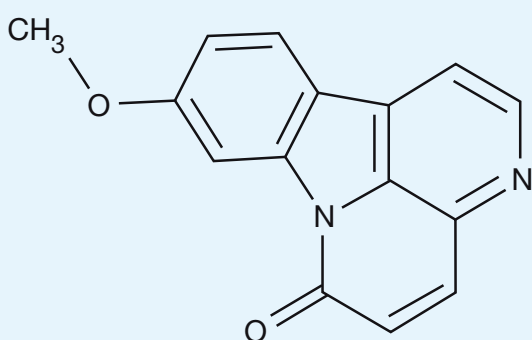
Nome sistematico: H-Indolo(3,2,1-de)(1,5)naftiridin-6-one.

Numero di registro CAS: 479-43-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 9-metossicantin-6-one.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{10}N_2O_2$ (peso molecolare = 250,2).

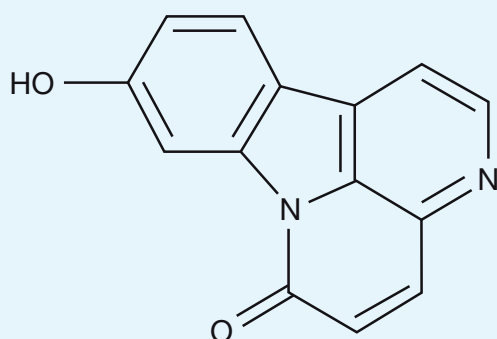
Nome sistematico: 9-metossi-6H-indolo(3,2,1-de)(1,5)naftiridin-6-one.

Numero di registro CAS: 74991-91-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 9-idrossicantin-6-one.

Formula Molecolare: $C_{14}H_8N_2O_2$ (peso molecolare = 236,2).

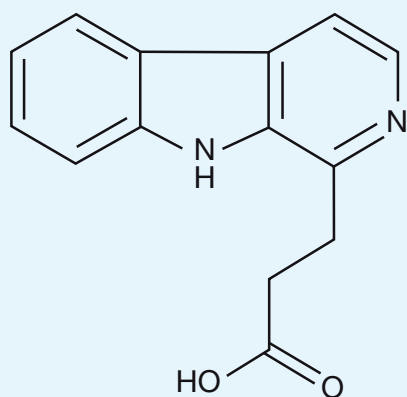
Nome sistematico: 9-idrossi-6H-indolo(3,2,1-de)(1,5)naftiridin-6-one.

Numero di registro CAS: 138544-91-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: β -carbolina-1-acido propanoico.

Formula Molecolare: $C_{14}H_{12}N_2O_2$ (peso molecolare = 240,3).

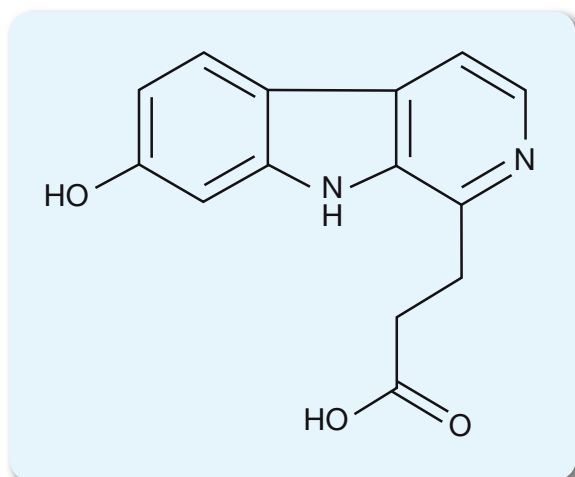
Nome sistematico: 3-(9H- β -Carbolin-1-il) acido propanoico.

Numero di registro CAS: 89915-39-9.

Punto di fusione: 179,6°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 7-idrossi- β -carbolina-1-acido propanoico.

Formula Molecolare: $C_{14}H_{12}N_2O_3$ (peso molecolare = 256,3).

Nome sistematico: 7-idrossi-3-(9H- β -Carbolin-1-il) acido propanoico.

Numero di registro CAS: 215934-15-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso storico

Decotti a base di radice di *Eurycoma longifolia* sono stati utilizzati per secoli in Malesia e nel Sud-Est asiatico come afrodisiaci, per migliorare il desiderio sessuale maschile, nonché per trattare una serie di disturbi tra cui la depressione post-partum, la malaria, la pressione alta e lo stress psicofisico⁽³⁾. Il Tongkat ali è stato denominato il “Viagra fatto in casa” della Malesia e il governo malese ha finanziato in prima persona ricerche volte ad evidenziare eventuali potenziali benefici per la salute della *Eurycoma longifolia*⁽⁴⁾.

Uso attuale

Preparazioni a base del solo estratto di *Eurycoma longifolia*, sono in vendita su siti telematici italiani e stranieri come integratori alimentari destinati a migliorare la libido, ripristinare l'equilibrio ormonale (livelli di testosterone) e migliorare sia le prestazioni sportive che la perdita di peso⁽³⁾.

Legislazione

L'*Eurycoma longifolia* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Tuttavia, l'*Eurycoma longifolia* in Italia è inserita nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁵⁾. Nonostante questo divieto, l'estratto della pianta è venduto su siti telematici come integratore.

I prodotti a base di *Eurycoma longifolia* sono venduti come medicina tradizionale in Malesia⁽⁶⁾.

Dal 2006 ad oggi vari prodotti, come ad esempio “Libidus” e “Maxidus”, che dichiaravano di usare *Eurycoma longifolia* come ingrediente principale, sono stati vietati negli Stati Uniti d'America, in Canada e a Singapore a causa della mancanza di informazioni sulla sua sicurezza ma soprattutto per la presenza di farmaci non dichiarati come l'acetisildenafil analogo del sildenafil⁽⁷⁻⁹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Sono stati condotti diversi studi di supplementazione nell'uomo per valutare i potenziali benefici di Tongkat ali per la funzione sessuale, la performance fisica, la perdita di peso, e il vigore mentale⁽¹⁰⁻¹²⁾.

L'estratto acquoso di *Eurycoma longifolia* è in grado di migliorare la fertilità maschile (con riferimento ai maggiori volumi di sperma, al conteggio degli spermatozoi e motilità) sia nei roditori^(13,14) sia nell'uomo⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Questi studi hanno messo in evidenza come l'efficacia dell'*Eurycoma longifolia* sia dovuta all'aumento dei livelli di testosterone attraverso la stimolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi⁽¹⁴⁾. L'Euricomano, uno dei principali quassinoidi presenti nell'*Eurycoma longifolia*, aumenta la steroidogenesi del testosterone nelle cellule di Leydig inibendo la conversione, da parte dell'aromatasi, del testosterone in estrogeni⁽¹⁸⁾. Inoltre, sempre l'estratto acquoso dell'*Eurycoma longifolia* attiva la 17 α -idrossilasi (l'enzima CYP17), innescando la biosintesi del deidroepiandrosterone che può agire sui recettori degli androgeni per avviare la conversione di androstenedione in testosterone^(11,15). Pertanto, l'utilizzo di prodotti a base di *Eurycoma longifolia* potrebbe essere una alternativa nella terapia sostitutiva con testosterone⁽¹⁹⁾, nel trattamento

dell'osteoporosi⁽²⁰⁻²³⁾ e nel trattamento dello stress⁽³⁾.

Studi farmacologici hanno inoltre dimostrato che sia gli alcaloidi che i quassinoidi mostrano attività antimalarica^(24,25), antidiabetica⁽²⁶⁾ e antineoplastica^(27,28).

Sono stati recentemente studiati gli effetti dell'*Eurycoma longifolia* sulla resistenza, in bicicletta e durante la corsa, di alcuni atleti amatoriali. Non è stato evidenziato nessun miglioramento significativo⁽²⁹⁾.

Tossicità

È stato dimostrato che la polvere della radice di *Eurycoma longifolia* non è genotossica e che la dose letale 50 (DL50) dopo somministrazione orale è più di 6 g/kg di peso corporeo⁽³⁰⁾, mentre la DL50 di un estratto di *Eurycoma longifolia* è di 2 g/kg di peso corporeo e il livello senza effetti avversi osservati (NOAEL) è superiore a 1 g/kg di peso corporeo⁽³¹⁻³³⁾. Infine, una dose giornaliera per os di 270-350 mg/kg è risultata essere piuttosto sicura⁽¹⁾.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla tossicità acuta dei principi attivi dell'*Eurycoma longifolia*.

Effetti avversi

Il consumo a lungo termine di estratto di radice di *Eurycoma longifolia* è stato associato ad apnea notturna, rossore al viso, pressione nei testicoli e aggressività. Tuttavia, non è stata trovata alcuna evidenza scientifica a sostegno di questi effetti collaterali durante l'uso dell'estratto di Tongkat ali^(1,30).

Interazioni farmacologiche

Un recente studio, condotto su volontari sani, sottoposti alla somministrazione concomitante di propranololo ed *Eurycoma longifolia*, ha dimostrato che gli estratti della pianta sono in grado di ridurre sensibilmente l'assorbimento e la biodisponibilità del farmaco beta-bloccante, con un meccanismo non ancora noto, ma verosimilmente riconducibile all'induzione della glicoproteina-P o alla formazione di complessi insolubili con alcuni componenti chimici della pianta⁽³⁴⁾.

Effetti in gravidanza

Non sono riportate in letteratura dati sull'uso della pianta in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura metodi analitici^(2,35-37) per la determinazione dei principi attivi della *Eurycoma longifolia* sia nella radice della pianta che in prodotti contenenti l'estratto.

Di questi metodi analitici, il primo utilizza una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione dei quassinoidi e degli alcaloidi del gruppo del cantin-6-one nell'estratto acquoso della radice di *Eurycoma longifolia*⁽²⁾. Un cromatografo liquido accoppiato a spettrofotometro UV-visibile a serie di diodi viene invece utilizzato per la determinazione simultanea dei quassinoidi⁽³⁵⁾ e degli alcaloidi cantinone-simili⁽³⁶⁾. Infine un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrometro di massa viene utilizzato per la determinazione simultanea dei quassinoidi in prodotti contenenti *Eurycoma longifolia* utilizzati come antimalarici⁽³⁷⁾.

È presente nella letteratura scientifica una metodologia per l'analisi del 9-metossicantin-6-one nel plasma di ratto mediante un cromatografo liquido accoppiato a uno spettrofotometro a luce fluorescente⁽³⁸⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del 9-metossicantin-6-one nel plasma di ratto⁽³⁸⁾

Estrazione del campione

100 µl di plasma vengono deproteinizzati ed estratti con 100 µl di acetonitrile. Dopo aver miscelato la soluzione mediante vortex per 30 minuti e averla centrifugata, viene prelevata la fase organica ed un volume di 20 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Metaphase crestrpak C18S (150 mm × 4.6 mm)

Fase mobile: acetonitrile-acqua, 55:45, v/v

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 1,0 ml/min

Temperatura colonna: 25°C

Rivelatore: spettrofotometro a fluorescenza (lunghezza d'onda di eccitazione: 371 nm; lunghezza d'onda di emissione: 504 nm)

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

9-metossicantinn-6-one: 5,0 min

Standard

Lo standard del 9-metossicantinn-6-one è stato sintetizzato presso il laboratorio che ha svolto lo studio.

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione del 9-metossicantinn-6-one (range di concentrazioni: 1,6-1600,0 ng/ml) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di plasma di controllo.

Risultati

L'analisi eseguita su campioni di plasma di ratto dopo somministrazione sia intravenosa di 1,1 mg/Kg sia orale di 5,6 mg/Kg dell'estratto di *Eurycoma longifolia* per studiare le proprietà farmacocinetiche e di biodisponibilità del 9-metossicantinn-6-one ha evidenziato che l'assorbimento per via orale del 9-metossicantinn-6-one era meno dell'1% della dose somministrata.

Bibliografia

1. BHAT R, KARIM AA. "Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack): a review on its ethnobotany and pharmacological importance". *Fitoterapia*. 2010; 81: 669-679.
2. CHUA LS, AMIN NA, NEO JC, LEE TH, LEE CT, SARMIDI MR, AZIZ RA. LC-MS/MS-based metabolites of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) in Malaysia (Perak and Pahang). *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011; 879: 3909-3919.
3. TALBOTT SM, TALBOTT JA, GEORGE A, PUGH M. Effect of Tongkat Ali on stress hormones and psychological mood state in moderately stressed subjects. *J Int Soc Sports Nutr*. 2013; 10: 28-34.
4. AZMI MMI, FAUZI A, NORINI H. Economic analysis of *E. longifolia* (Tongkat Ali) harvesting. in *Peninsular Malaysia: New Dimensions in Complementary Health Care*; 2004: 91-99.
5. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
6. NPCB: List of Registered Products, National pharmaceutical control bureau, Ministry of Health, Malaysia. Consultabile all'indirizzo: <http://www.pharmacy.gov.my/v2/ms/maklumat/semakan-pendaftaran-produk.html>
7. Food and drug Administration: FDA Warns Consumers About Dangerous Ingredients in "Dietary Supplements" Promoted for Sexual Enhancement. Consultabile all'indirizzo: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2006/ucm108690.htm>
8. Food and drug Administration: WARNING LETTER. Consultabile all'indirizzo: <http://www.fda.gov/ICECI/EnforcementActions/WarningLetters/2005/ucm075981.htm>
9. Food and drug Administration: Hidden Risks of Erectile Dysfunction "Treatments" Sold Online. Consultabile all'indirizzo: <http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm048386.htm>
10. HENKEL RR, WANG R, BASSETT SH, CHEN T, LIU N, ZHU Y, TAMB MI. Tongkat Ali as a potential herbal supplement for physically active male and female seniors - a pilot study. *Phytother Res*. 2014: 544-550.
11. TAMB MI, IMRAN MK, HENKEL RR. Standardised water-soluble extract of *Eurycoma longifolia*, Tongkat ali, as testosterone booster for managing men with late-onset hypogonadism? *Andrologia*. 2012; 44: 226-230.
12. UDANI JK, GEORGE AA, MUSTHAPA M, PAKDAMAN MN, ABAS A. Effects of a proprietary freeze-dried water extract of *Eurycoma longifolia* (Physta) and *polygonum minus* on sexual performance and well-being in men: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014. 179529. doi: 10.1155/2014/179529.

13. WAHAB NA, MOKHTAR NM, HALIM WN, DAS S. The effect of Eurycoma longifolia Jack on spermatogenesis in estrogen-treated rats. *Clinics*. 2010; 65: 93-98.
14. LOW BS, DAS PK, CHAN KL. Standardized quassinoid-rich Eurycoma longifolia extract improved spermatogenesis and fertility in male rats via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Ethnopharmacol*. 2013; 145: 706-714.
15. TAMBI MI, IMRAN MK. Eurycoma longifolia Jack in managing idiopathic male infertility. *Asian J Androl*. 2010; 12: 376-380.
16. ERASMUS N, SOLOMON MC, FORTUIN KA, HENKEL RR. Effect of Eurycoma longifolia Jack (Tongkat ali) extract on human spermatozoa in vitro. *Andrologia*. 2012; 44: 308-314.
17. ISMAIL SB, WAN MOHAMMAD WM, GEORGE A, NIK HUSSAIN NH, MUSTHAPA KAMAL ZM, LISKE E. Randomized clinical trial on the use of PHYSTA freeze-dried water extract of Eurycoma longifolia for the improvement of quality of life and sexual well-being in men. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. 429268. doi:10.1155/2012/429268.
18. LOW BS, CHOI SB, ABDUL WAHAB H, DAS PK, CHAN KL. Eurycomanone, the major quassinoid in Eurycoma longifolia root extract increases spermatogenesis by inhibiting the activity of phosphodiesterase and aromatase in steroidogenesis. *J Ethnopharmacol*. 2013; 149: 201-207.
19. GEORGE A, HENKEL R. Phytoandrogenic properties of Eurycoma longifolia as natural alternative to testosterone replacement therapy. *Andrologia*. 2014. doi: 10.1111/and.12214.
20. RAMLI R, KHAMIS MF, SHUID AN. Bone Micro-CT Assessments in an orchidectomised rat model supplemented with Eurycoma longifolia. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. 501858. doi: 10.1155/2012/501858.
21. TAJUL ARIFF AS, SOELAIMAN IN, PRAMANIK J, SHUID AN. Effects of Eurycoma longifolia on Testosterone Level and Bone Structure in an Aged Orchidectomised Rat Model. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. 818072. doi: 10.1155/2012/818072.
22. MOHD EFFENDY N, MOHAMED N, MUHAMMAD N, NAINA MOHAMAD I, SHUID AN. Eurycoma longifolia: medicinal plant in the prevention and treatment of male osteoporosis due to androgen deficiency. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. 125761. doi: 10.1155/2012/125761.
23. SHUID AN, ABU BAKAR MF, ABDUL SHUKOR TA, MUHAMMAD N, MOHAMED N, SOELAIMAN IN. The anti-osteoporotic effect of Eurycoma longifolia in aged orchidectomised rat model. *Aging Male*. 2011; 14: 150-154.
24. KUO PC, DAMU AG, LEE KH, WU TS. Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of Eurycoma longifolia. *Bioorg Med Chem*. 2004; 12: 537-544.
25. LOW BS, TEH CH, YUEN KH, CHAN KL. Physico-chemical effects of the major quassinoids in a standardized Eurycoma longifolia extract (Fr 2) on the bioavailability and pharmacokinetic properties, and their implications for oral antimalarial activity. *Nat Prod Commun*. 2011; 6: 337-341.
26. HUSEN R, PIHIE AHL, NALLAPPAN M. Screening for antihyperglycaemic activity in several local herbs of Malaysia. *J Ethnopharmacol*. 2004; 95: 205-208.
27. WONG PF, CHEONG WF, SHU MH, TEH CH, CHAN KL, ABUBAKAR S. Eurycomanone suppresses expression of lung cancer cell tumor markers, prohibitin, annexin 1 and endoplasmic reticulum protein 28. *Phytomedicine*. 2012; 19: 138-144.
28. AL-SALAH I, JI D, MAJID AM, KIT-LAM C, ABDULLAH WZ, ZAKI A, JAMAL DIN SK, YUSOFF NM, MAJID AS. Anti-Tumor Activity of Eurycoma longifolia Root Extracts against K-562 Cell Line: In Vitro and In Vivo Study. *PLoS One*. 2014; 9: e83818.
29. MUHAMAD AS, KEONG CC, KIEW OF, ABDULLAH MR, LAM CK. Effects of Eurycoma longifolia Jack supplementation on recreational athletes' endurance running capacity and physiological responses in the heat. *Int J Appl Sports Sci*. 2010; 22: 1-19.
30. LI CH, LIAO JW, LIAO PL, HUANG WK, TSE LS, LIN CH, KANG JJ, CHENG YW. Evaluation of Acute 13-Week Subchronic Toxicity and Genotoxicity of the Powdered Root of Tongkat Ali (Eurycoma longifolia Jack). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013:102987. doi: 10.1155/2013/102987.
31. SHUID AN, SIANG LK, CHIN TG, MUHAMMAD N, MOHAMED N, SOELAIMAN IN. Acute and subacute toxicity studies of Eurycoma longifolia in male rats. *Int J Pharm*. 2011; 7: 641-646.
32. CHOUDHARY, YOGENDRA K.; BOMMU, PRAVEEN; MING, YEE K.; ZULKAWI, NORAISSAH B. acute, sub acute and subchronic 90-days toxicity of eurycoma longifolia aqueous extract (physta) in wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012; 4: 232-238.
33. LOW BS, DAS PK, CHAN KL. Acute, Reproductive toxicity and two-generation teratology studies of a standardized quassinoid-rich extract of Eurycoma longifolia Jack in sprague-dawley rats. *Phytother Res*. 2014; 28: 1022-1029.
34. SALMAN SA, AMRAH S, WAHAB MS, ISMAIL Z, ISMAIL R, YUEN KH, GAN SH. Modification of propranolol's bioavailability by Eurycoma longifolia water-based extract. *J Clin Pharm Ther*. 2010; 35: 691-696.
35. CHAN KL, CHOO CY, MORITA H, ITOKAWA H. High performance liquid chromatography in phytochemical analysis of Eurycoma longifolia. *Planta Med*. 1998; 64: 741-745.
36. CHOO CY, CHAN KL. High performance liquid chromatography analysis of canthinone alkaloids from Eurycoma longifolia. *Planta Med*. 2002; 68: 382-384.
37. TEH CH, MURUGAIYAH V, CHAN KL. Developing a validated liquid chromatography-mass spectrometric method for the simultaneous analysis of five bioactive quassinoid markers for the standardization of manufactured batches of Eurycoma longifolia Jack extract as antimalarial medications. *J Chromatogr A*. 2011; 1218: 1861-1877.
38. TAN S, YUEN KH, CHAN KL. HPLC analysis of plasma 9-methoxycanthin-6-one from Eurycoma longifolia and its application in a bioavailability/pharmacokinetic study. *Planta Med*. 2002; 68: 355-358.

1.15 *Heimia salicifolia* (sinicuichi)



Nome: *Heimia salicifolia*

Famiglia: *Lythraceae*

Genere: *Heimia*

Specie: *Salicifolia*

Sinonimi: sinicuichi; Sun Opener; Shrubby Yellowcrest

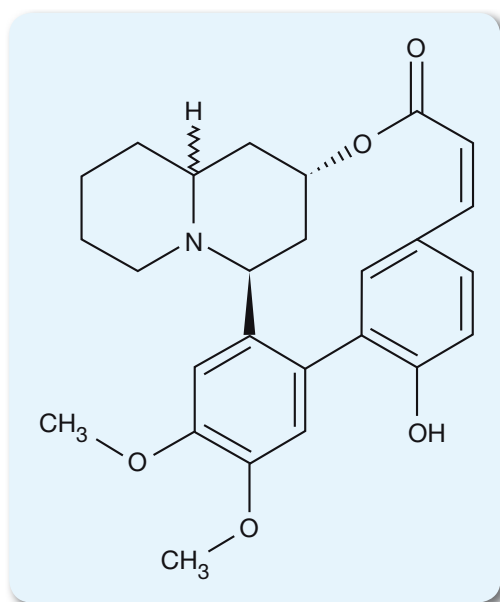
Provenienza: Messico

Principi attivi: vertina o criogenina, eimidina, litrina, nesodina, litridina, lifolina e deidrodecodina

L'*Heimia salicifolia* è un arbusto che cresce spontaneamente nell'America del Sud dal Messico all'Argentina. In Messico questa pianta è comunemente nota come "sinicuichi" ed è utilizzata nella medicina popolare per diversi scopi medici e per la sua attività psicotomimetica^(1,2). Gli indigeni attribuiscono al sinicuichi proprietà sacre e soprannaturali, affermando che la pianta li aiuta a ricordare gli eventi che hanno avuto luogo molti anni prima, come se fossero accaduti ieri, finanche gli eventi prenatali⁽³⁾.

L'analisi chimica delle foglie di *Heimia salicifolia* ha mostrato la presenza di diversi alcaloidi chinolizidinici (es. vertina, eimidina, litrina, nesodina, lifolina, deidrodecodina)^(1,2,4) la cui concentrazione è piuttosto varia. Nel caso della vertina o criogenina: 2,0-8,6 mg/g di peso secco delle parti aeree, lifolina: 1,8-6,6 mg/g, litrina: 0,55-0,66 mg/g e nesodina: 0,09-0,55 mg/g⁽¹⁾. La vertina o criogenina, l'alcaloide con la più alta concentrazione nella pianta, è considerata la fonte primaria degli effetti farmacologici della pianta⁽⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: vertina o criogenina.

Formula Molecolare: $C_{26}H_{29}NO_5$ (peso molecolare = 435,5).

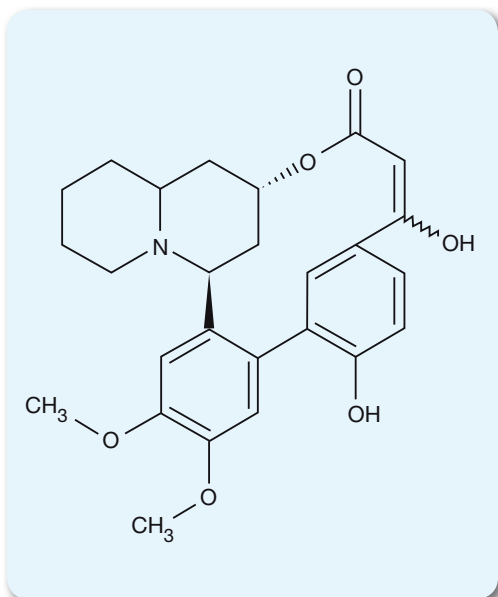
Nome sistematico: (10 α)-2'-idrossi-4",5"-dimetosso-litran-12-one.

Numero di registro CAS: 10308-13-1.

Punto di fusione: 245-247°C.

UVmax: 285,0 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio, cloruro di metilene, benzene e metanolo. Insolubile in acqua.



Nome: eimidina.

Formula Molecolare: $C_{26}H_{31}NO_6$ (peso molecolare = 453,5).

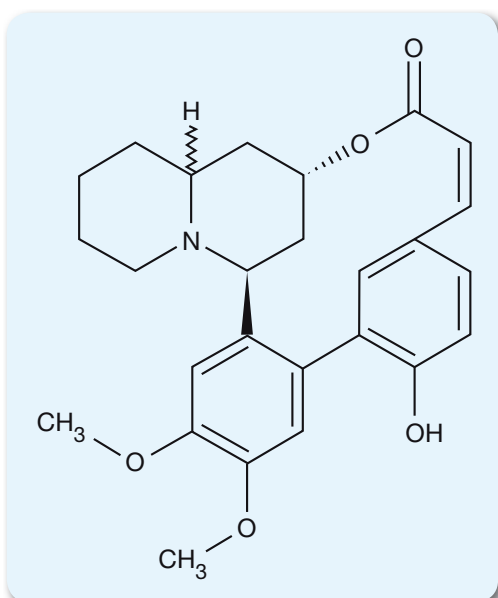
Nome sistematico: (10 α)-13,14-diidro-2',14-diidrossi-4'',5''-dimetossi-litran-12-one.

Numero di registro CAS: 36531-11-0.

Punto di fusione: 221-223°C.

UVmax: 292,0 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: litrina.

Formula Molecolare: $C_{26}H_{29}NO_5$ (peso molecolare = 435,5).

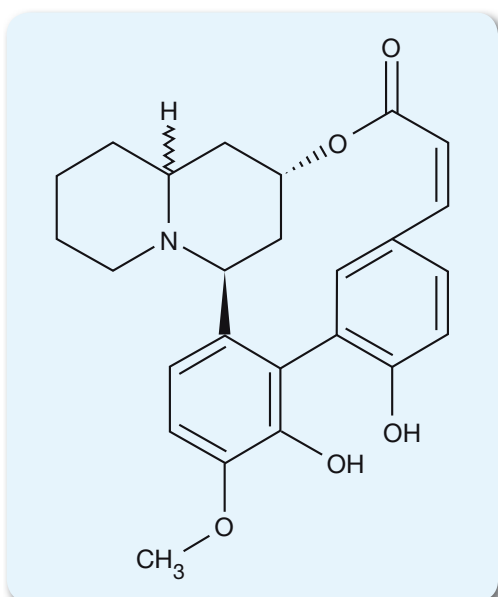
Nome sistematico: (10 β)-2'-idrossi-4'',5''-dimetossi-litran-12-one.

Numero di registro CAS: 5286-10-2.

Punto di fusione: 241-242°C.

UVmax: 280,0 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: nesodina.

Formula Molecolare: $C_{26}H_{29}NO_5$ (peso molecolare = 435,5).

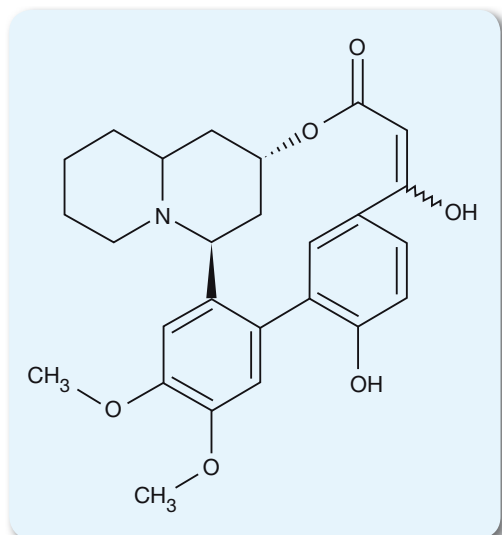
Nome sistematico: (10 β)-2'-idrossi-5'',6''-dimetossi-litran-12-one.

Numero di registro CAS: 34628-60-9.

Punto di fusione: 257,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: litridina.

Formula Molecolare: $C_{26}H_{31}NO_6$ (peso molecolare = 453,5).

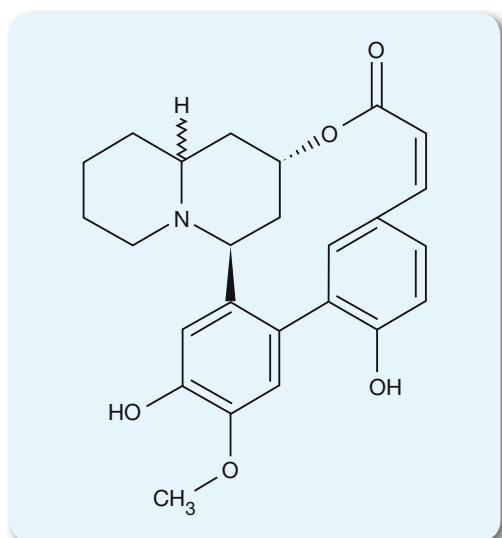
Nome sistematico: (10 β)-13,14-diidro-2',14-diidrossi-4'',5''-dimetossi-litran-12-one.

Numero di registro CAS: 15299-77-1.

Punto di fusione: 218-219°C.

UVmax: 280,0 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: lifolina.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{27}NO_5$ (peso molecolare = 421,4).

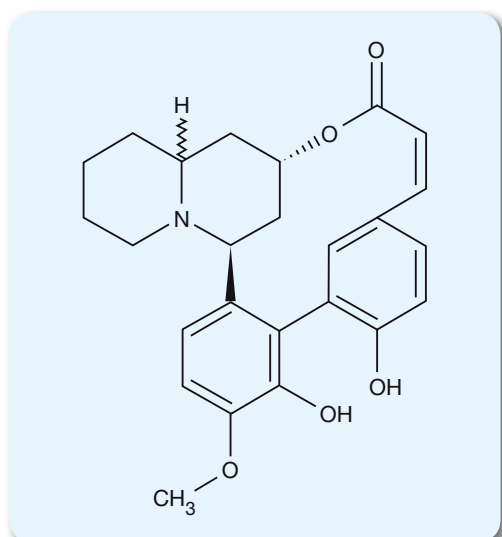
Nome sistematico: (10 β)-2',4''-didrossi-5''-metossi-litran-12-one.

Numero di registro CAS: 30356-01-5.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 281,0 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: deidrodecodina.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{27}NO_5$ (peso molecolare = 421,4).

Nome sistematico: (10 β)-2',6''-didrossi-5''-metossi-litran-12-one.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 285,0 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso storico

Secondo alcune fonti consultabili in siti telematici⁽⁶⁾, l'uso dell'*Heimia salicifolia* si lega al culto di Xochipilli, il dio azteco della primavera e del desiderio. Si presume che gli elementi naturalistici che appaiono sulla leggendaria statua azteca di Xochipilli possano essere i fiori dell'*Heimia salicifolia*. Anche se non è disponibile nessuna prova documentata per quanto

riguarda il suo uso rituale, prove aneddotiche mostrano che la pianta è stata utilizzata nelle cerimonie di fertilità, così come in rituali di purificazione spirituale per liberarsi del male e allontanare gli spiriti oscuri⁽⁷⁾. Documentazione certa dell'uso dell'*Heimia salicifolia* può essere fatta risalire alla fine del 1800, quando gli indiani indigeni in tutto il Messico usavano un decotto di fiori, foglie, rami e radici della pianta per trattare i sintomi della sifilide e di altre malattie⁽⁶⁾. Il botanico Calderón fu il primo che riportò, nel 1896, gli effetti allucinogeni della pianta indagando sui rimedi naturali utilizzati in Messico⁽⁸⁾. Egli descrive di “una azione fisiologica curiosa e unica... la pianta produce una piacevole ebbrezza... tutti gli oggetti appaiono di colore giallo e il suono delle campane, le voci umane... raggiungono le orecchie come se provenissero da una lunga distanza”^(1,8). Calderón ingerì personalmente dei decotti preparati portando ad ebollizione in acqua 5, 10 e 15 g di foglie di *Heimia salicifolia*, ma non osservò nessun effetto visivo o uditivo. Egli concluse che, per avere effetti psicomimetici, erano necessarie dosi più elevate⁽¹⁾.

Successivamente, nel 1926 Victor Reko descrisse, in uno studio osservazionale, gli effetti del sinicuichi come: “aumento dell'energie, della gioia, un risveglio dello spirito. Gli oggetti sono molto ben visibili... Gli individui si sentono come se camminassero su un soffice tappeto. Non c'è nulla di spiacevole, gli oggetti hanno una lucentezza giallo-blu o viola. Chi la usa dichiara che è il rimedio per garantire la felicità”^(1,9). Successivamente nel 1938, Reko pubblicò un libro dove descriveva il sinicuichi come “una bevanda magica che causa l'oblio” generando il mito e spingendo la comunità scientifica a classificare, sia la pianta che la bevanda, come psicodislettici induttori di trances allucinatorie^(1,10).

Uso attuale

La bevanda e le foglie dell'*Heimia salicifolia* sono utilizzate dai nativi del centro e del Sud America per le proprietà antisifilitiche, antipiretiche, emetiche, emostatiche, toniche, lassative, diuretiche, antinfiammatorie e digestive^(1,6,11).

Nonostante non ci siano dati sperimentali e/o clinici che l'*Heimia salicifolia* abbia effetti psicomimetici o psicodislettici, la pianta rientra tra i trenta prodotti più utilizzati a scopo ricreazionale in una ricerca condotta sui principali siti telematici di utilizzatori di sostanze psicotrope in Europa⁽¹²⁾. I siti web che commercializzano le “Smart Drugs” inseriscono la pianta sia nella categoria dei prodotti di orticoltura da non utilizzare per il consumo umano, sia negli estratti di erbe aromatiche e psichedeliche⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Legislazione

L'*Heimia salicifolia* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Esiste un solo studio osservazionale nell'uomo riguardante le proprietà farmaco-tossicologiche dell'*Heimia salicifolia*. In tale studio, un singolo soggetto assumeva 310 mg di vertina e dopo un intervallo di 48 ore, 310 mg di litrina⁽¹⁾. La vertina ha mostrato un effetto ipotermico e sedativo, mentre la litrina ha mostrato solo un effetto diuretico. In entrambi i casi, non è stato osservato nessun effetto psicodislettico. Gli autori dello studio ipotizzano quindi, che il presunto effetto psicodislettico della pianta sia dovuto all'alcol etilico con cui si prepara la bevanda⁽¹⁾.

Uno studio condotto su modello animale, ha evidenziato gli effetti antipertensivi degli alcaloidi isolati dall'*Heimia salicifolia*⁽¹⁶⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'*Heimia salicifolia*.

Dati relativi alla tossicità acuta della vertina o criogenina⁽¹⁷⁾

Nel ratto - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 55 mg/kg

Nel ratto - DL50 dopo somministrazione orale: 1000 mg/kg

Non sono noti dati di tossicità acuta relativi all'eimidina, alla litrina, alla litridina, alla nesodina, alla lifolina e alla deidro-decodina.

Effetti avversi

È stato riportato in letteratura un caso d'intossicazione acuta dopo l'ingestione di una quantità non nota di tè a base di *Heimia salicifolia*⁽⁵⁾. I sintomi riportati dall'intossicato erano: dolore muscolare delle estremità e della lingua ed un leggero aumento della temperatura. Si sono inoltre riscontrati nausea, mal di testa e vomito⁽⁵⁾. Forum di discussione sul web segnalano che la *Heimia salicifolia* può provocare sensazioni esilaranti e un'alterazione della coscienza accompagnata da bradicardia, rilassamento dei muscoli e una piacevole debolezza⁽¹⁸⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della pianta.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati in letteratura dati sull'uso della pianta in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

È presente in letteratura un metodo analitico per la determinazione ed identificazione, mediante un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrofotometro a luce ultravioletta ed ad uno spettrometro di massa, dei principi attivi presenti negli estratti di *Heimia salicifolia*⁽¹⁹⁾.

Inoltre è stata pubblicata una metodologia per l'analisi, mediante un cromatografo liquido accoppiato a uno spettrometro di massa tandem, degli alcaloidi dell'*Heimia salicifolia* nel siero di un soggetto intossicato dal consumo dell'estratto della pianta⁽⁵⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione degli alcaloidi dell'*Heimia salicifolia* nel siero⁽⁵⁾

Estrazione del campione

Ad 1 ml di siero vengono aggiunti 0,5 ml di tampone borato pH 9,0 e 1,5 ml di 1-clorobutano. Dopo aver miscelato la soluzione mediante vortex per tre minuti e averla centrifugata, la fase organica viene prelevata, portata a secco sotto flusso d'azoto e ricostituita con 100 µl di fase mobile (fase mobile A - fase mobile B: 95:5, v/v). Un volume di 20 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Sinergy polar-RP (50 x 2 mm x 4 µm)

Fase mobile A: acido formico 0,1% in ammonio formiato 1mM

Fase mobile B: acetonitrile- acido formico 0,1 % in ammonio formiato 1mM, 95:5, v/v.

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile B: 5% nell'intervallo 0,0-0,5 minuti; fino al 95% nell'intervallo 0,5-10,0 minuti, mantenuto per due minuti; fino al 5% nell'intervallo 12,0-12,5 minuti, mantenuto per 2,5 minuti)

Flusso: 0,25 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa tandem con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Energia di collisione: 20 e 35 V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

Non sono riportati i tempi di ritenzione delle sostanze.

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

lifolina: m/z 422 → 422, 422 → 84

vertina o criogenina: m/z 436 → 436, 436 → 84

nesodina: m/z 436 → 436, 436 → 84

litrina: m/z 436 → 436, 436 → 84

eimidina: m/z 454 → 454, 454 → 84

litridina: m/z 454 → 454, 454 → 84

Standard

Lo standard di sinicuichi è stato acquistato in due diversi siti telematici di vendita di “Smart drugs” che mettevano in vendita il prodotto come “farmaco a base di erbe”.

Curva di calibrazione

Trattandosi di un’analisi di tipo qualitativo, non viene descritta la creazione della curva di calibrazione.

Risultati

L’analisi viene eseguita su un campione di siero proveniente da un consumatore di té a base di *Heimia salicifolia*.

Il campione è stato raccolto subito dopo il ricovero in ospedale.

Tutti i diversi tipi di alcaloidi dell’*Heimia salicifolia* sono stati identificati nel siero confermando l’ingestione della pianta, anche se i sintomi del paziente (dolori muscolari, febbre) non erano coerenti con i risultati clinici attesi (l’*Heimia salicifolia* dovrebbe avere effetti sedativi e spasmolitici in dosi terapeutiche). Gli autori riportano inoltre che l’analisi di tre campioni di sinicuichi (due ottenuti dai siti telematici e quello assunto dal consumatore) ha mostrato un contenuto molto variabile di alcaloidi.

Bibliografia

- MALONE MH, ROTHER A. *Heimia salicifolia*: a phytochemical and phytopharmacologic review. *J Ethnopharmacol.* 1994; 42: 135-159.
- RUMALLA CS, JADHAV AN, SMILLIE T, FRONCZEK FR, KHAN IA. Alkaloids from *Heimia salicifolia*. *Phytochemistry.* 2008; 69: 1756-1762.
- SCHULTES RE. The plant kingdom and hallucinogens (part III). *Bull Narcotics.* 1970; 22: 25-53.
- KAPLAN HR, MALONE MH. A pharmacology study of nesodine, crygonine and other alkaloids of *Heimia salicifolia*. *Lloydia* 1966; 29: 348-359.
- KEMPF J, STEDTLER U, NEUSÜSS C, WEINMANN W, AUWÄRTER V. Identification of sinicuichi alkaloids in human serum after intoxication caused by oral intake of a *Heimia salicifolia* extract. *Forensic Sci Int.* 2008; 179: e57-e61.
- EDLEY K. *Heimia salicifolia* – Sinicuichi (Sinicuiche). Consultabile sul sito: <http://entheology.com/plants/heimia-salicifolia-sinicuichi-sinicuiche>.
- WASSON RG. The Role of ‘Flowers’ in Nahuatl Culture. *J Psychedelic Drugs.* 1974; 3: 351-360.
- CALDERÓN JB. Estudio Sobre El Arbusto Llamado Sinicuichi. *Anales Del Instituto Medico Nacional.* 1896; 2: 36-42.
- REKO V. Sinicuichi. *La Revista Médica De Yucatán.* 1926; 14: 22-27.
- REKO VA. Magische Gifte: Rausch- und Betäubungsmittel der Neuen Welt, 3rd Edn. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. 1949, pp. 109-116.
- TRILLO C, TOLEDO BA, GALETTO L, COLANTONIO S. Persistence of the Use of Medicinal Plants in Rural Communities of the Western Arid Chaco [Córdoba, Argentina]. *The Open Comp Med J.* 2010; 2: 80-89.
- DELUCA P, DAVEY Z, CORAZZA O, DI FURIA L, FARRE M, FLESLAND LH, MANNONEN M, MAJAVA A, PELTONIEMI T, PASINETTI M, PEZZOLESI C, SCHERBAUM N, SIEMANN H, SKUTLE A, TORRENS M, VAN DER KREEFT P, IVERSEN E, SCHIFANO F. Identifying emerging trends in recreational drug use; outcomes from the Psychonaut Web Mapping Project. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012; 39: 221-226.
- http://it.azarius.net/smartshop/psychedelics/psychedelic_herbs/sinicuichi/
- http://visionaryherbs.com/sinicuichi_sun_opener_heimia_salicifolia.htm
- <http://psychoactiveherbs.com/catalog/index.php?cPath=86&osCsid=5dd841f901c2066cbe8dc099253b4ad4>.
- GUZMAN HE, SEGURA-COBOS D, DE HARO R, VAZQUEZ-CRUZ B. Antihypertensive effect of *Heimia salicifolia* (h.b.k.) alkaloids. *Pharmacology online* 2006; 3: 817-823.
- <http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html>
- <http://www.psychonaut.com/piante/47587-heimia-salicifolia.html>
- WANG YH, AVULA B, RUMALLA CS, SMILLIE TJ, KHAN IA. Simultaneous determination of quinolizidine alkaloid and biphenylquinolizidine lactones from *Heimia salicifolia* by HPLC-UV and LC-MS methods. *Planta Med.* 2010; 76: P30.

1.16 Hydrangea (ortensia)

Hydrangea macrophylla



Nome: *Hydrangea macrophylla*

Famiglia: *Hydrangeaceae*

Genere: *Hydrangea* L.

Specie: *Macrophylla*

Sinonimi: *Hydrangea hortensis* Sm.; *Hydrangea opuloides* K. Koch

Provenienza: Cina, Giappone

Principi attivi: idrangina, tassifillina, idracianoside A

Hydrangea paniculata



Nome: *Hydrangea paniculata*

Famiglia: *Hydrangeaceae*

Genere: *Hydrangea* L.

Specie: *Paniculata*

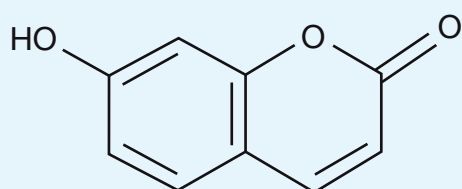
Sinonimi: non conosciuto

Provenienza: America e Asia orientale

Principi attivi: umbelliferone glucoside (Skimmin), idrangina, tassifillina, idranitri-
loside A₁, idranitri-loside A₂, idranitri-loside B₁, idranitri-loside B₂

Il genere *Hydrangea*, originario di Cina e Giappone, comprende numerosissime specie tra cui la più conosciuta e diffusa nei nostri giardini è l'*Hydrangea macrophylla*. L'*Hydrangea paniculata* è però la specie più frequentemente utilizzata dai consumatori, come riportato sui siti telematici⁽¹⁻³⁾. Nelle piante del genere *Hydrangea*, in particolare nei fiori e nelle foglie, sono presenti diversi componenti biologicamente attivi quali le diidroisocumarine e i loro glicosidi, i glicosidi iridoidi, i glicosidi secoiridoidi, i glicosidi flavonoidi, i cianoglicosidi (responsabili degli effetti allucinogeni e tossici della pianta) e i cianoglicosidi non cianogenetici^(1,2). Il contenuto totale dei cianoglicosidi è di circa 0,1% nelle parti aeree della pianta⁽¹⁾ tra cui l'idracianoside A è il più abbondante^(1,4). Lo Skimmin o umbelliferone glucoside, presente in diverse specie ed in particolare nell'*Hydrangea paniculata*, rappresenta circa il 55% dei costituenti totali dell'estratto acquoso dei rami e degli steli⁽⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: idrangina.

Formula Molecolare: $C_9H_6O_3$ (peso molecolare = 162,1).

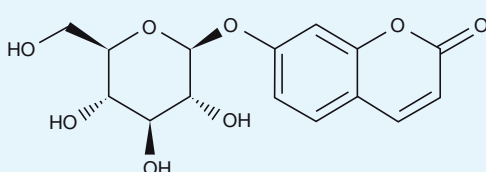
Nome sistematico: 7-idrossicumarina.

Numero di registro CAS: 93-35-6.

Punto di fusione: 230,5°C.

UVmax: 300, 305, 325 nm.

Solubilità: solubile in acqua.



Nome: umbelliferone glucoside.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{16}O_8$ (peso molecolare = 324,2).

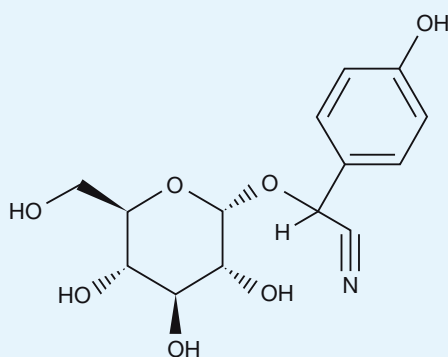
Nome sistematico: 7-idrossicumarin-7-glucoside.

Numero di registro CAS: 93-39-0.

Punto di fusione: 221-222°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: tassicifillina.

Formula Molecolare: $C_{14}H_{17}NO_7$ (peso molecolare = 311,3).

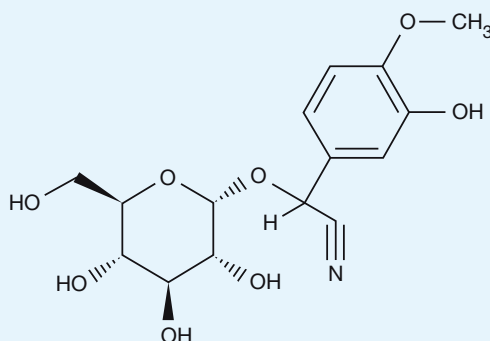
Nome sistematico: (2R)-(β-D-glucopiranosilossi)-4-idrossifenil-acetonitrile.

Numero di registro CAS: 21401-21-8.

Punto di fusione: 200°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: idracianoside A.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{19}NO_8$ (peso molecolare = 341,3).

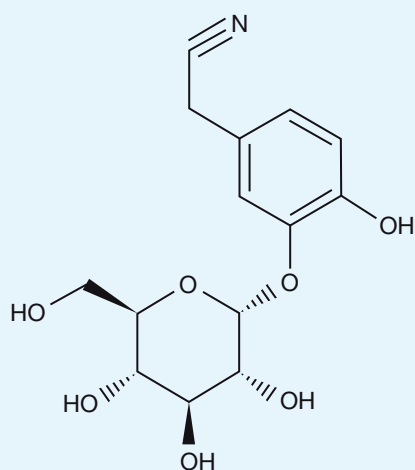
Nome sistematico: (2R)-(β-D-glucopiranosilossi)-3-idrossi-4-metossifenil-acetonitrile.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 282, 237, 209 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: idranitroside A₁.

Formula Molecolare: C₁₄H₁₇NO₇ (peso molecolare = 311,3).

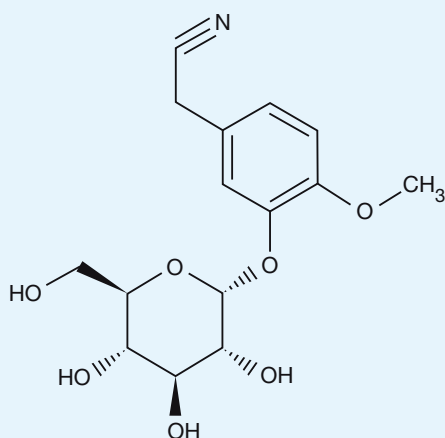
Nome sistematico: 3-(β-D-glucopiranosilossi)-4-idrossifenil-acetonitrile.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 204, 224, 279 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: idranitroside A₂.

Formula Molecolare: C₁₅H₁₉NO₇ (peso molecolare = 325,3).

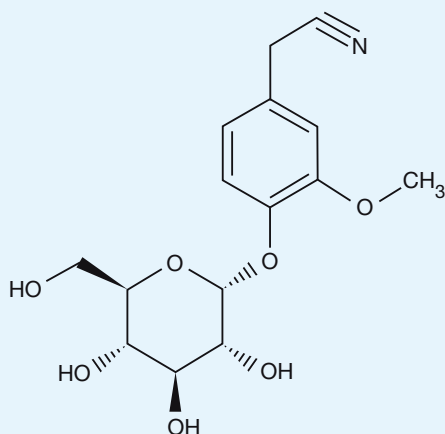
Nome sistematico: 3-(β-D-glucopiranosilossi)-4-metossifenil-acetonitrile.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 205, 227, 278 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: idranitroside B₁.

Formula Molecolare: C₁₅H₁₉NO₇ (peso molecolare = 325,3).

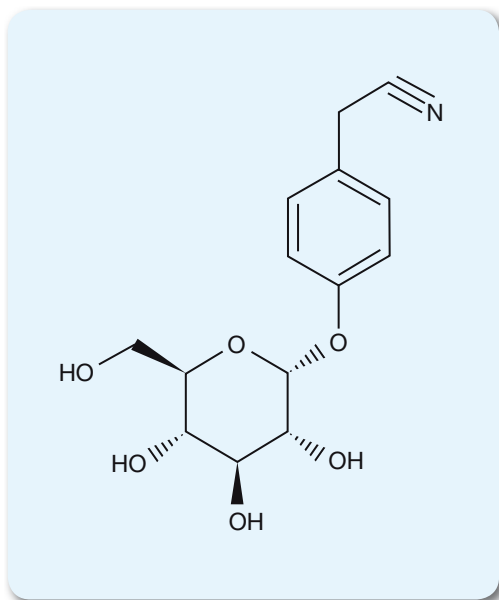
Nome sistematico: 4-(β-D-glucopiranosilossi)-3-metossifenil-acetonitrile.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 205, 227, 278 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: idranitriloside B₂.

Formula Molecolare: C₁₄H₁₇NO₆ (peso molecolare = 295,3).

Nome sistematico: 4-(β-D-glucopiranosilossi)-fenil-acetonitrile.

Numero di registro CAS: 908577-08-2.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso storico

La medicina tradizionale cinese attribuisce agli estratti acquosi di *Hydrangea paniculata* la funzione di protezione renale. La pianta veniva anche utilizzata per abbassare la febbre, curare la malaria e per il trattamento della gola infiammata^(6,7). Con le foglie giovani di *Hydrangea thunbergii*, cotte a vapore e arrotolate a mano, i giapponesi preparano dall'antichità una bevanda chiamata Ama-tsia (tè celeste) con la quale un tempo si usava lavare la statua del Buddha il giorno del suo compleanno⁽⁸⁾.

Uso attuale

In Europa le varie specie di ortensie hanno un valore solo ornamentale, ma nell'America settentrionale il rizoma essiccato di *Hydrangea arborescens* serve per preparare polveri e preparazioni diaforetiche catartiche e diuretiche⁽⁹⁾. In Giappone si utilizzano i fusti di *Hydrangea paniculata* per ricavarne bastoni da passeggio, pipe, manici di ombrelli e chiodi di legno; la corteccia viene inoltre adoperata nella fabbricazione della carta. Le foglie della varietà "Serrata" dell'*Hydrangea macrophylla* vengono utilizzate per preparare delle tisane chiamate rispettivamente Amacha (tè dolce) e Sugukcha, che contengono fillodulcina, un glicoside con un potere addolcente da 400 a 800 volte maggiore del comune zucchero da tavola (saccarosio)⁽¹⁰⁾. Le foglie dell'*Hydrangea Dulcis Folium*, sono attualmente utilizzate nella medicina naturale per l'igiene orale e come dolcificante per i pazienti diabetici⁽¹¹⁾.

Recentemente, la pianta viene ricercata a scopo ricreazionale per ottenere blande allucinazioni che secondo gli utilizzatori sono simili a quelle che si hanno fumando la marijuana⁽¹²⁾. Non è noto al momento quale dei principi della pianta dia l'effetto simil-marijuana. Si suppone però che la formazione di acido cianidrico dai cianoglicosidi presenti nella pianta, responsabile degli effetti tossici, sia anche responsabile degli effetti psicoattivi⁽¹²⁾.

Legislazione

Le piante del genere *Hydrangea* possono essere legalmente comprate, vendute e possedute in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Studi farmacologici hanno dimostrato che le diverse sostanze presenti nelle piante del genere *Hydrangea* possiedono proprietà neuroprotettive⁽⁷⁾, antidiabetiche^(13,14), antimalariche⁽¹⁵⁻¹⁸⁾, antinfiammatorie⁽¹⁹⁾, anti-allergiche⁽²⁰⁻²⁴⁾ ed antimicrobiche^(20,21).

Un recente studio ha evidenziato come il trattamento con skimmin può migliorare significativamente sia la funzione renale che le lesioni glomerulari in un modello di ratto con glomerulonefrite membranosa⁽⁵⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica nelle piante del genere *Hydrangea*.

Dati relativi alla tossicità acuta dell'idranguina ⁽²⁵⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intravenosa: 450 mg/kg

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla tossicità acuta dell'umbelliferone glucoside, della tassifillina, dell'idrocianoside A, degli idranitrilosidi A₁, A₂, B₁ e B₂.

Effetti avversi

I cianoglicosidi presenti nelle piante del genere *Hydrangea* hanno una funzione protettiva per la pianta, evitandone l'ingestione da parte degli animali. Nell'uomo, in seguito ad ingestione della pianta, si può verificare una sintomatologia di entità variabile che comprende crampi addominali, nausea, diarrea, vomito e nei casi più severi confusione mentale, convulsioni, cianosi e morte ⁽²⁶⁾.

Il potenziale tossico della pianta è legato alla presenza dei cianoglicosidi che andando incontro a degradazione enzimatica portano alla formazione di acido cianidrico. La dose mortale in seguito ad ingestione di acido cianidrico è di circa 1-2 milligrammi per chilogrammo di peso corporeo, mentre una dose più alta conduce a morte pressoché istantanea ⁽²⁶⁾. L'acido cianidrico è stato utilizzato, con il nome commerciale di Zyklon B, per gli stermini di massa nei campi di concentramento tedeschi durante la seconda guerra mondiale.

Forum di discussione sul web segnalano che le piante del genere *Hydrangea* possono provocare un rilassamento del corpo e della mente ^(28,29), leggera paranoia e distorsione dei pensieri che diventano confusi, leggeri disturbi alla vista che diventa sfocata, difficoltà nel formulare frasi e nell'esprimersi, leggera distorsione della realtà, aumento della temperatura e secchezza delle mucose, forti giramenti di testa, prurito irrefrenabile, gravi spasmi muscolari, senso di nausea e conseguente vomito ⁽²⁹⁾.

Interazioni farmacologiche

I cianoglicosidi non cianogenetici sembrano migliorare l'attività antibiotica della rifampicina, della tetraciclina e dell'ampicillina e favorire l'assorbimento di farmaci, vitamine e sostanze nutritive attraverso la membrana gastrointestinale aumentandone la loro biodisponibilità ⁽²⁾. Poiché le diidroisocoumarine e i loro glicosidi possono ridurre la glicemia, i prodotti a base di piante del genere *Hydrangea* sono controindicati nei pazienti che utilizzano farmaci antidiabetici orali ⁽²⁹⁾.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso delle piante del genere *Hydrangea* in gravidanza o durante l'allattamento. Dato il rischio di assumere composti contenenti cianuro, se ne sconsiglia l'uso in gravidanza e durante l'allattamento ⁽²⁹⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi nelle piante del genere *Hydrangea* né in liquidi biologici né nelle diverse porzioni della pianta.

Bibliografia

1. MI. YANG CJ, WANG ZB, ZHU DL, YU Y, LEI YT, LIU Y. Two new cyanogenic glucosides from the leaves of *Hydrangea macrophylla*. *Molecules*. 2012; 17: 5396-5403.
2. WANG ZB, GAO HY, YANG CJ, SUN Z, WU LJ. Novel cyanoglucosides from leaves of *hydrangea macrophylla*. *Helv Chim Acta*. 2011; 94: 847-852.
3. <http://www.panorama.it/scienza/salute/droga-ecco-il-nuovo-sballo-fumare-le-ortensie>
4. SEIKOU N, WANG ZB, XU FM, HISASHI M, WU LJ, MASAYUKI Y. The absolute stereostructures of cyanogenic glycosides, hydrocyanosides A, B and C, from leaves and stems of *Hydrangea macrophylla*. *Tetrahedron Lett*. 2009; 50: 4639-4642.
5. ZHANG S, XIN H, LI Y, ZHANG D, SHI J, YANG J, CHEN X. Skimmin, a Coumarin from *Hydrangea paniculata*, Slows down the progression of membranous glomerulonephritis by Anti-Inflammatory effects and Inhibiting Immune Complex Deposition. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013. doi: 10.1155/2013/819296.
6. Chinese Herbal Medicine Company. Chinese traditional medicine resource records. Beijing: Science Publishing House; 1994: 480.
7. SHI J, LI CJ, YANG JZ, YUAN YH, CHEN NH, ZHANG DM. Coumarin glycosides and iridoid glucosides with neuroprotective effects from *Hydrangea paniculata*. *Planta Med*. 2012; 78: 1844-1850.
8. PIZZETTI I, COCKER H. *Il libro dei fiori*. Ed. Garzanti, 1968.
9. <http://fitonews.wordpress.com/2012/06/15/a-proposito-di-ortensie>
10. TOMASIK P. *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides.*, CRC Press, Boca Raton, 2003.
11. LIU J, NAKAMURA S, ZHUANG Y, YOSHIKAWA M, HUSSEIN GM, MATSUO K, MATSUDA H. Medicinal Flowers. XXXX. Structures of dihydroisocoumarin glycosides and inhibitory effects on aldose reductase from the flowers of *hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*. *Chem. Pharm. Bull*. 2013; 61: 655-661.
12. <http://www.erowid.org/herbs/hydrangea/hydrangea.shtml>.
13. ZHANG HL, HISASHI M, AKRIA K, YUKI I, SEIKOU N, MASAYUKI Y. New type of anti-diabetic compounds from the processed leaves of *Hydrangeae macrophylla* seringe var. *thunbergii* (*Hydrangeae dulcis* Folium.). *Bioorg Med Chem Lett*. 2007; 17: 4972-4976.
14. ZHANG S, YANG J, LI H, LI Y, LIU Y, ZHANG D, ZHANG F, ZHOU W, CHEN X. Skimmin, a coumarin, suppresses the streptozotocin-induced diabetic nephropathy in wistar rats. *Eur J Pharmacol*. 2012; 692: 78-83.
15. KAMEI K, MATSUOKA H, FURUHATA SI, FUJISAKI RI, KAWAKAMI T, MOGI S, YOSHIHARA H, AOKI N, ISHII A, SHIBUYA T. Antimalarial activity of leaf-extract of *hydrangea macrophylla*, a common Japanese plant. *Acta Med Okayama*. 2000; 54: 227-232.
16. ISHII A, IKEYA C, YANO H, TAKEZOE H, MIYASE T, TERADA M. A potent antimalarial activity of *Hydrangea macrophylla* var. *Otaksa* leaf extract against *Plasmodium yoelii* 17XL in mice. *Parasitol Int*. 2001; 50: 33-39.
17. MURAKAMI N, MOSTAQUL HM, TAMURA S, ITAGAKI S, HORII T, KOBAYASHI M. New anti-malarial flavonol glycoside from *Hydrangeae dulcis* Folium. *Bioorg Med Chem Lett*. 2001; 11: 2445-2447.
18. ISHII A, MIYASE T, TERADA M. Comparison of antimalarial activity of the alkaloidal fraction of *Hydrangea macrophylla* var. *Otaksa* leaves with the hot-water extract in ICR mice infected with *Plasmodium yoelii* 17 XL. *Phytother Res*. 2003; 17: 633-639.
19. DILSHARA MG, JAYASOORIYA RG, LEE S, JEONG JB, SEO YT, CHOI YH, JEONG JW, JANG YP, JEONG YK, KIM GY. Water extract of processed *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. leaf attenuates the expression of pro-inflammatory mediators by suppressing Akt-mediated NF- κ B activation. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2013; 35: 311-319.
20. YOSHIKAWA M, HARADA E, NAITOH Y, INOUE K, MATSUDA H, SHIMODA H, YAMAHARA J, MURAKAMI N. Development of bioactive functions in *hydrangeae dulcis* folium. III. On the antiallergic and antimicrobial principles of *hydrangeae dulcis* folium. (1). *Thunberginols* A, B, and F. *Chem Pharm Bull*. 1994; 42: 2225-2230.
21. YOSHIKAWA M, MATSUDA H, SHIMODA H, SHIMADA H, HARADA E, NAITOH Y, MIKI A, YAMAHARA J, MURAKAMI N. Development of bioactive functions in *hydrangeae dulcis* folium. V. On the antiallergic and antimicrobial principles of *hydrangeae dulcis* folium. (2). *Thunberginols* C, D, and E, *thunberginol* G 3'-O-glucoside, (-)-*hydrangenol* 4'-o-glucoside, and (+)-*hydrangenol* 4'-O-glucoside. *Chem Pharm Bull*. 1996; 44: 1440-1447.
22. MATSUDA H, SHIMODA H, UEMURA T, UEDA T, YAMAHARA J, YOSHIKAWA M. Chemical constituents from the leaves of *Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii* (III): Absolute stereostructures of hydramacrosides A and B, secoiridoid glucoside complexes with inhibitory activity on histamine release. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1999; 47: 1753-1758.
23. WANG Q, MATSUDA H, MATSUHIRA K, NAKAMURA S, YUAN D, YOSHIKAWA M. Inhibitory effects of *thunberginols* A, B, and F on degranulations and releases of TNF- α and IL-4 in RBL-2H3 cells. *Biol Pharm Bull*. 2007; 30: 388-392.
24. MATSUDA H, WANG Q, MATSUHIRA K, NAKAMURA S, YUAN D, YOSHIKAWA M. Inhibitory effects of *thunberginols* A and B isolated from *Hydrangeae Dulcis* Folium on mRNA expression of cytokines and on activation of activator protein-1 in RBL-2H3 cells. *Phytomedicine*. 2008; 15: 177-184.
25. TOXNET: <http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html>.
26. SIMEONOVA FP, FISHBEIN L. Hydrogen cyanide and cyanides: Human health aspects. Concise International Chemical Assessment Document 61. Geneva: World Health Organization 2004. Consultabile presso: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad61.pdf>.
27. <http://www.gamesvillage.it/forum/showthread.php?949243-Esperimento-in-diretta-con-l-ortensia>.
28. <http://psiconautica.forumfree.it/?t=66272816>.
29. http://www.erbeofficiali.org/dati/q_scheda_res.php?nv_erba=ORTENSIA%20ARBOREA

1.17 Ipomoea violacea (morning glory)



Nome: *Ipomoea violacea*

Famiglia: *Convolvulaceae*

Genere: *Ipomoea* L.

Specie: *Ipomoea violacea* L.

Sinonimi: morning glory, heavenly blue, pearly gates, flying saucers, blue star, wedding bells, summer skies, badoh negro. I semi vengono chiamati tlilitzin o ololiuhqui

Provenienza: Messico

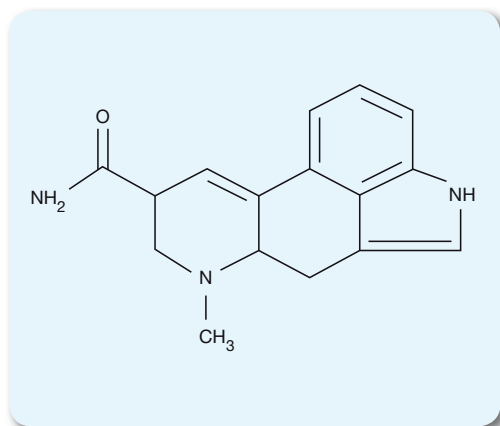
Principi attivi: ergina (o lisergamide o amide dell'acido lisergico LSA), isoergina, ergometrina, cianoclavina, lisergolo

L'*Ipomoea violacea* è una pianta rampicante da ornamento esterno i cui semi contengono due alcaloidi psicoattivi: ergina e isoergina, presenti anche nei semi di altre due piante rampicanti ornamentali delle Convolvulaceae: la *Argyreia nervosa* e la *Rivea corymbosa*.

Il consumo di questi semi produce effetti psichedelici ed allucinatori.

Il contenuto totale di alcaloidi nei semi di *Ipomoea violacea* è circa cinque volte maggiore di quello che si ritrova nei semi di *Rivea corymbosa*⁽¹⁾ e dieci volte inferiore a quello che si ritrova nei semi di *Argyreia nervosa*⁽²⁾. I semi di *Ipomoea violacea* vengono spesso confusi con quelli dell'*Argyreia nervosa*, ma la quantità di semi da consumare per avere un effetto psicoattivo si aggira intorno ai 100-300 semi rispetto ai 5-10 dell'*Argyreia nervosa*⁽²⁻⁴⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: ergina (o Lisergamide o amide dell'acido lisergico LSA).

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}N_3O$ (peso molecolare = 267,3).

Nome sistematico: 9,10-dideidro-6-metilergolina-8- β -carbossiamide.

Numero di registro CAS: 478-94-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Nome: isoergina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}N_3O$ (peso molecolare = 267,3). È l'epimero dell'ergina, quindi possiede la stessa struttura molecolare, ma la distribuzione spaziale dei sostituenti dell'atomo di carbonio 1 è speculare rispetto all'ergina stessa.

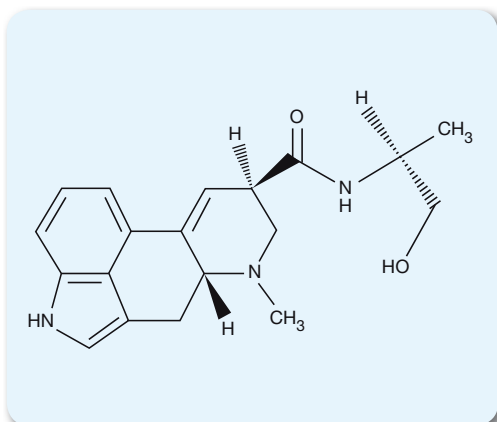
Nome sistematico: 9,10-dideidro-6-metilergolina-8- α -carbossiamide.

Numero di registro CAS: 2889-26-1.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: ergometrina.

Formula Molecolare: $C_{19}H_{23}N_3O_2$ (peso molecolare = 325,4).

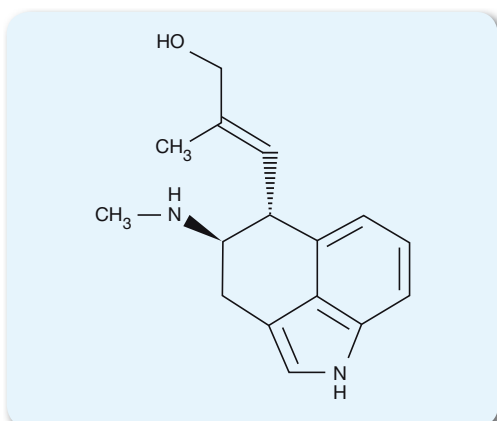
Nome sistematico: 9,10-dideidro-N-(2-idrossi-1-metiletil)-6-metil-8beta-(S)-9-ergolina-8-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 60-79-7.

Punto di fusione: 162°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.



Nome: cianoclavina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{20}N_2O$ (peso molecolare = 256,3).

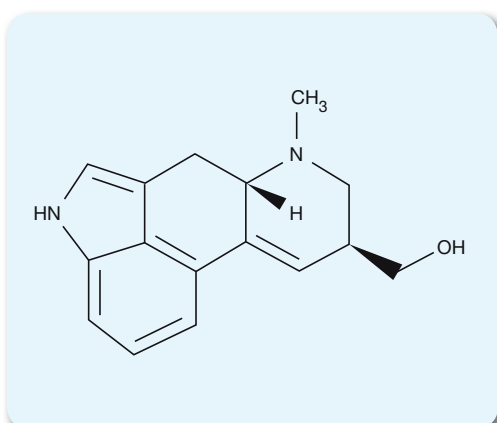
Nome sistematico: Propen-1-olo, 2-metil-3-(1,3,4,5-tetraidro-4-(metilamino)benz(cd)indolo-5-il-(4R-(4alfa,5beta(E)).

Numero di registro CAS: 2390-99-0.

Punto di fusione: 221°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: lisergolo.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{18}N_2O$ (peso molecolare = 254,3).

Nome sistematico: 9,10-dideidro-8-idrossimetil-6-metilergolina.

Numero di registro CAS: 602-85-7.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

In Italia i semi di *Ipomoea violacea* e l'alcaloide ergina in essi contenuta sono inseriti nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Il Ministero della Salute ha inserito i semi dell'*Ipomoea violacea* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari ⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I semi di *Ipomoea violacea* vengono ricercati esclusivamente a scopo ricreazionale per la loro capacità di indurre effetti psicoattivi ⁽⁶⁾. Non sono riportati in letteratura studi su altre proprietà farmacologiche della pianta.

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta dell'ergina nel modello animale e nell'uomo⁽⁷⁾.

Effetti avversi

Dopo l'ingestione di semi di *Ipomoea violacea*, vengono riportati effetti avversi quali: nausea, dolore addominale e vomito⁽⁴⁾. I consumatori di semi di *Ipomoea violacea* e di semi di altre piante che contengono LSA (ad es. *Argyrea nervosa*), spesso riferiscono l'utilizzo di cannabis come antiemetico per contrastare questo effetto secondario dei semi di *Ipomea*⁽⁴⁾. L'estratto etanologico dei semi di *Ipomoea violacea*, a differenza del suo estratto acquoso è, molto probabilmente, responsabile della nefrotossicità causata dall'utilizzo di farmaci di medicina tradizionale cinese per edema, obesità e polmonite a base di questa erba⁽⁸⁾.

Interazioni farmacologiche

Il lisergolo, un principio attivo estratto dall'*Ipomoea violacea* e da altre piante ad essa correlate (es. *Rivea corymbosa*), è in grado di migliorare la biodisponibilità di diversi antibiotici, come la rifampicina, la tetraciclina e l'ampicillina⁽⁹⁾.

L'ergometrina, alcaloide contenuto nei semi di *Ipomoea violacea*, può causare broncospasmo se associato all'anestesia generale⁽¹⁰⁾.

Effetti in gravidanza

L'ingestione di semi di *Ipomea violacea* nelle donne in gravidanza è rischiosa in quanto l'ergina, potente induttore delle contrazioni uterine, potrebbe causare aborto spontaneo⁽¹¹⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie specifiche per l'analisi dei principi attivi dell'*Ipomoea violacea* nei liquidi biologici dopo ingestione di semi della pianta, né metodologie per l'analisi dei semi stessi. Tuttavia, esistono in letteratura metodologie per l'analisi dell'ergina (dell'amide dell'acido lisergico, LSA), principio attivo contenuto sia nei semi dell'*Argyrea nervosa* che in quelli dell'*Ipomoea violacea* e della *Rivea corymbosa*, nel sangue e nelle urine di consumatori di semi di *Argyrea nervosa*, come riportato nella monografia di tale pianta⁽¹²⁾.

Bibliografia

1. MEIRA M, PEREIRA DA SILVA E, DAVID JM, DAVID JP. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. *Rev Bras Farmacogn*. 2012; 22: 682-713.
2. ARUNOTAYANUN W, GIBBONS S. Natural product 'legal highs'. *Nat Prod Rep*. 2012; 29: 1304-1316.
3. *Ipomea violacea* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 74: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. *Ipomea violacea* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 86-87: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
6. JUSZCZAK GR, SWIERGIEL AH. Recreational use of D-lysergamide from the seeds of *Argyrea nervosa*, *Ipomoea tricolor*, *Ipomoea violacea*, and *Ipomoea purpurea* in Poland. *J Psychoactive Drugs*. 2013; 45: 79-93.
7. *Ipomea violacea* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 87: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
8. MA C, BI K, ZHANG M, SU D, FAN X, JI W, WANG C, CHEN X. Metabonomic study of biochemical changes in the urine of morning glory seed treated rat. *J Pharm Biomed Anal*. 2010; 53: 559-566.
9. DUDHATRA GB, MODY SK, AWALE MM, PATEL HB, MODI CM, KUMAR A, KAMANI DR, CHAUHAN BN. A Comprehensive review on pharmacotherapeutics of herbal bioenhancers. *Scientific World Journal*. 2012; 2012: 637953. doi: 10.1100/2012/637953.
10. NELSON-PIERCY C. Asthma in pregnancy. *Thorax* 2001; 56: 325-328.
11. *Ipomea violacea* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 88: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
12. KLINKE HB, MÜLLER IB, STEFFENRUD S, DAHL-SØRENSEN R. Two cases of lysergamide intoxication by ingestion of seeds from Hawaiian Baby Woodrose. *Forensic Sci Int*. 2010; 197: e1-e5.

1.18 *Lactuca virosa* (lattuga amara)



Nome: *Lactuca virosa*

Famiglia: *Asteraceae*

Genere: *Lactuca*

Specie: *Lactuca virosa* L.

Sinonimi: lattuga amara, lattuga velenosa, lattuga selvatica

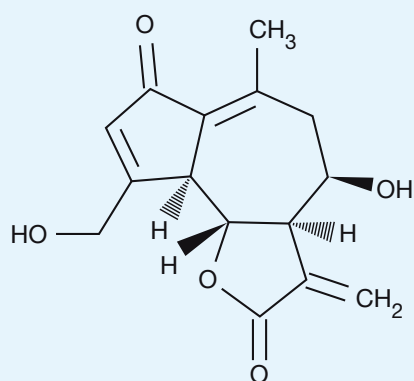
Provenienza: ubiquitaria nell'Europa centro-meridionale, cresce lungo le strade ed i canali su terreni sassosi e basici

Principi attivi: lattucina, lattucopicrina (intibina), N-metil-β-fenetilammina, iosciamina

La *Lactuca virosa* è una pianta erbacea ricca di un succo lattiginoso dal sapore amaro e odore pernicioso. Dopo l'essiccazione, il succo si indurisce, diventa marrone, ed è noto come lattucario⁽¹⁾. Il lattucario è stato usato per secoli in Europa e in Asia meridionale come analgesico. I suoi effetti sono stati valutati come paragonabili a quelli dell'ibuprofene⁽²⁾.

La *Lactuca virosa* è nota per i suoi effetti psicotropi, specificatamente ipnotico-sedativi, dovuti principalmente alla presenza dei lattoni sesquiterpenici lattucina e lattucopicrina e della iosciamina^(1,4).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: lattucina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{16}O_5$ (peso molecolare = 276,3).

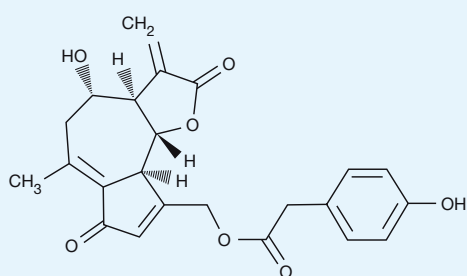
Nome sistematico: (3aR,4R,5,9aS,9bR)-4-idrossi-9-(idrossimetil)-6-metil-3-metilidene-4,5,9a,9b tetraidro 3aH azulene [4,5-b] furan-2,7-dione.

Numero di registro CAS: 1891-29-8.

Punto di fusione: 228-233°C.

UVmax: 257 nm.

Solubilità: acqua, alcol etilico, alcol metilico, acetato d'etile, diossano e anisolo.



Nome: intibina (lattucopicrina).

Formula Molecolare: $C_{23}H_{22}O_7$ (peso molecolare = 410,4).

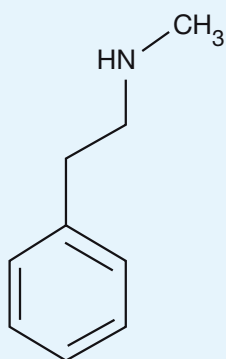
Nome sistematico: (3aR,4S,5,9aS,9bR) 9-idrossimetil-6-metil-3-metilidene-2,7 diossio 4,5,9a,9b tetraidro 3aH azulene [4,5-b] furan-4 il]2- (4 idrossifenil)acetato.

Numero di registro CAS: 6466-74-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: N-metil-β-fenetilammina.

Formula Molecolare: $C_9H_{13}N$ (peso molecolare = 135,2).

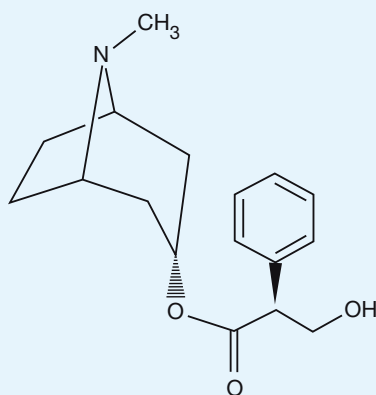
Nome sistematico: N-metil-benzenetanammina.

Numero di registro CAS: 589-08-2.

Punto di fusione: 165-166°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: molto solubile in acqua.



Nome: iosciamina.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{23}NO_3$ (peso molecolare = 289,4).

Nome sistematico: α-(idrossimetil)-(3-endo)-8-metil-8-azabicyclo (3.2.1)ott-3-il-estere (α-S)-acido benzeneacetico.

Numero di registro CAS: 101-31-5.

Punto di fusione: 108,5°C.

UVmax: 252, 258, 264 nm.

Solubilità: alcol e acidi diluiti.

Legislazione

La *Lactuca virosa*, può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

In fitoterapia il lattucario e l'intera pianta di *Lactuca virosa* sono utilizzati per le presunte proprietà analgesiche, sedative, ipnotiche, antitussive, lassative, e sono indicati nei casi di gastralgie e insonnia^(1,2,5).

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta dell' N-metil-β-fenetilammina e della iosciamina nel modello animale e nell'uomo⁽⁶⁾.

Effetti avversi

Sono stati osservati una serie di effetti avversi e gravi intossicazioni in soggetti che avevano consumato *Lactuca virosa* per errore confondendola con la lattuga normale o consapevolmente per gli effetti fitoterapici o per quelli psicotropi. Nei soggetti intossicati si osserva midriasi, fotofobia, sudorazione, disturbi della visione (allucinazioni visive), tachicardia e respirazione difficoltosa causate da disritmia⁽¹⁾. I casi di intossicazione si risolvono generalmente in quarantotto ore sebbene la letteratura riporta un caso in cui è stato necessario un ricovero in terapia intensiva a causa del prolungamento dello stato di incoscienza⁽¹⁾.

Interazioni farmacologiche

Sono note interazioni farmacologiche della iosciamina⁽⁷⁾.

Effetti in gravidanza

Dati aneddotici sconsigliano l'uso di *Lactuca virosa* in gravidanza⁽⁸⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Lactuca virosa* nei liquidi biologici. È invece descritto un metodo analitico per la determinazione di lattucina e lattucopicrina nel lattice della pianta⁽²⁾.

Bibliografia

1. BESHARAT S, BESHARAT M, JABBARI A. Wild lettuce (*Lactuca virosa*) toxicity. *BMJ Case Rep.* 2009; bcr06.2008.0134. doi: 10.1136/bcr.06.2008.0134.
2. CHADWICK M, TREWIN H, GAWTHROP F, WAGSTAFF C. Sesquiterpenoids lactones: benefits to plants and people. *Int. J Mol Sci.* 2013; 14: 12780-12805.
3. *Lactuca virosa* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 78: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. *Lactuca virosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 90: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. STOJAKOWSKA A, MALARZ J, SZEWCZYK A, KISIEL W. Caffeic acid derivatives from a hairy root culture of *Lactuca virosa*. *Acta Physiol Plant.* 2012; 34: 291-298.
6. *Lactuca virosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 92: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
7. *Datura stramonium* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 73: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
8. <https://www.beneficialbotanicals.com/tincture-information/wild-lettuce.html>
9. *Lactuca virosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 92-93: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.19 Mimosa hostilis (jurema)



Mimosa hostilis

Leguminosae

Mimosa

Mimosa hostilis

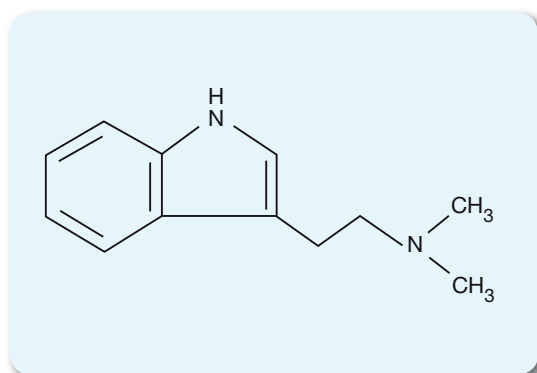
mimosa tenuiflora (Willd.) Poir., tepescohuite

Messico, centro e Sud America (Honduras, Colombia, Guatemala, Brasile)

N,N-dimetiltriptamina (DMT)

La *Mimosa hostilis* o *Mimosa tenuiflora* (jurema-preta) è un piccolo albero la cui corteccia è utilizzata, insieme ai semi di *Peganum harmala*, come ingrediente nel vino di Jurema⁽¹⁻³⁾. Il vino di Jurema è una bevanda allucinogena utilizzata per scopi rituali nelle tradizioni africane o brasiliane. Contiene N,N-dimetiltriptamina (DMT), principio attivo della *Mimosa hostilis*, e inibitori delle monoammino ossidasi (anti-MAO), presenti nei semi di *Peganum harmala* che impediscono il metabolismo della N,N, dimetiltriptamina a carico di questi enzimi. Gli stessi principi attivi sono presenti nell'altra bevanda allucinogena, l'*Ayahuasca*, ottenuta dalla miscela delle due piante *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*⁽²⁻⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



N,N-dimetiltriptamina (DMT).

$C_{12}H_{16}N_2$ (peso molecolare = 188,2).

N-dimetil-1H-indolo-3-etilamina.

61-50-7.

44,6-46,8°C.

279-288 nm.

acido acetico.

Legislazione

In Italia, la dimetiltriptamina è inserita nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Diversamente né la pianta o parti di essa sono inserite in tale o altre Tabelle del suddetto articolo. La dimetiltriptamina è una sostanza illegale sia in alcuni stati europei che negli Stati Uniti d'America.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Mentre il vino di Jurema è ricercato a scopo ricreazionale per la sua capacità di indurre effetti allucinogeni, nella medicina popolare la *Mimosa hostilis* viene utilizzata contro la bronchite, la tosse, la febbre, il mal di testa e le ulcere esterne⁽⁶⁾.

È stato evidenziato un potenziale effetto antimicrobico dell'estratto etanolic della *Mimosa hostilis*, in particolare nei confronti dello *Staphylococcus aureus*⁽⁷⁾.

Tossicità

Alla concentrazione di 50 e di 100 µg/ml, l'estratto di *Mimosa hostilis* non ha effetti mutageni e genotossici⁽⁶⁾. Sono noti

i dati di tossicità acuta della dimetiltriptamina in modello animale e nell'uomo⁽⁸⁾.

Effetti avversi

Non sono conosciuti particolari effetti avversi occorsi a coloro che abbiano fatto uso della *Mimosa hostilis*. Va ricordato, comunque, che uno degli effetti avversi della dimetiltriptamina, principio attivo contenuto nella pianta, è il rapido innalzamento della pressione sanguigna arteriosa e delle pulsazioni con eventuale pericolo di vita⁽⁹⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

L'ingestione di *Mimosa hostilis* causa malformazioni e mortalità embrionale nelle capre, nelle pecore e nei bovini^(10,11).

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura tre nuove metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Mimosa hostilis* o *tenuiflora* nella corteccia della pianta^(1,2) e nelle bevande preparate dalla pianta⁽¹²⁾. Tutte e tre le metodologie utilizzano una tecnica separativa in cromatografia gassosa accoppiata ad uno spettrometro di massa a quadrupolo^(1,2) o a trappola ionica⁽¹²⁾ per l'identificazione e determinazione della dimetiltriptamina. Non si conoscono metodologie specifiche per l'analisi dei principi attivi della *Mimosa hostilis* nei liquidi biologici di assuntori della bevanda.

Esistono altresì metodologie per l'analisi della dimetiltriptamina, nei liquidi biologici di assuntori di *Ayahuasca*⁽¹³⁾.

- GAUJAC A, AQUINO A, NAVICKIENE S, DE ANDRADE JB. Determination of N,N-dimethyltryptamine in *Mimosa tenuiflora* inner barks by matrix solid-phase dispersion procedure and GC-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012; 15: 881-882.
- GAUJAC A, TEIXEIRA MARTINEZ S, ARAÚJO GOMES A, DE ANDRADE SJ, DA CUNHA PINTO A, DAVID JM, NAVICKIENE S, DE ANDRADE JB. Application of analytical methods for the structural characterization and purity assessment of N,N-dimethyltryptamine, a potent psychedelic agent isolated from *Mimosa tenuiflora* inner barks. *Microchem J.* 2013; 109: 78-83.
- GAUJAC A, NAVICKIENE S, COLLINS MI, BRANDT SD, DE ANDRADE JB. Analytical techniques for the determination of tryptamines and β -carbolines in plant matrices and in psychoactive beverages consumed during religious ceremonies and neo-shamanic urban practices. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 636-648.
- Mimosa hostilis* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 82: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
- Mimosa hostilis* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 94: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
- SILVA VA, GONÇALVES GF, PEREIRA MSV, GOMES IF, FREITAS AFR, MARGARETH F. F. M. DINIZ MFFM, PESSÔA HLF. Assessment of mutagenic, antimutagenic and genotoxicity effects of *Mimosa tenuiflora*. *Braz J Pharmacogn.* 2013; 23: 329-334.
- PADILHA IOM, PEREIRA AV, RODRIGUES OG, SIQUEIRA-JÚNIOR JP, PEREIRA MSV. Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. from Northeast Brazil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Braz J Pharmacogn.* 2010; 20: 45-47.
- Mimosa hostilis* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 95: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
- SIMONIENKO K, WASZKIEWICZ N, SZULC A. Psychoactive plant species – actual list of plants prohibited in Poland. *Psychiatr Pol.* 2013; 3: 499-508.
- RIET-CORREA F, MEDEIROS RM, SCHILD AL. A review of poisonous plants that cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. *J Appl Toxicol.* 2012; 32: 245-254.
- DANTAS AF, RIET-CORREA F, MEDEIROS RM, LOPES JR, GARDNER DR, PANTER K, MOTA RA. Embryonic death in goats caused by the ingestion of *Mimosa tenuiflora*. *Toxicon.* 2012; 59: 555-557.
- GAUJAC A, DEMPSTER N, NAVICKIENE S, BRANDT SD, DEANDRADE JB. Determination of N,N-dimethyltryptamine in beverages consumed in religious practices by headspace solid-phase micro extraction followed by gas chromatography ion trap mass spectrometry. *Talanta* 2013; 106: 394-398.
- Ayahuasca* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 50-52: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.20 *Mitragyna speciosa* (kratom)



Nome: *Mitragyna speciosa* (Kratom)

Famiglia: *Rubiaceae*

Genere: *Mitragyna*

Specie: *Mitragyna speciosa* Korth.

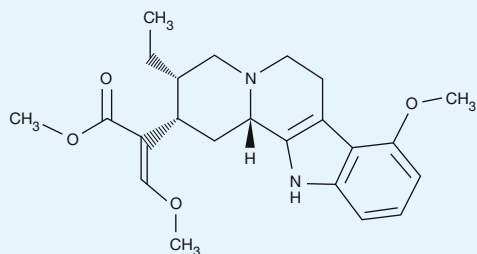
Sinonimi: kratom, ketum; kutum; biak; biak-biak

Provenienza: Asia sudorientale (Tailandia, Myanmar)

Principi attivi: mitraginina, specioginina, painanteina, speciociliatina, 7- α -7-idrossi-mitraginina

La *Mitragyna speciosa*, chiamata comunemente *Kratom* (o *Ketum*), è una pianta con proprietà psicoattive che cresce nel sud est asiatico^(1,2). Le foglie possono essere masticate (circa 10-30 foglie al giorno) fresche o essiccate o ridotte in una polvere che viene fumata con la quale si può preparare una tisana⁽³⁾. L'effetto simil oppioide è dovuto agli alcaloidi presenti nelle foglie della *Mitragyna speciosa*: la mitraginina e suoi analoghi (specioginina, painanteina e speciociliatina) e in minor concentrazione la 7- α -7-idrossi-mitraginina^(1,2,4,5).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: mitraginina.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{30}N_2O_4$ (peso molecolare = 398,5).

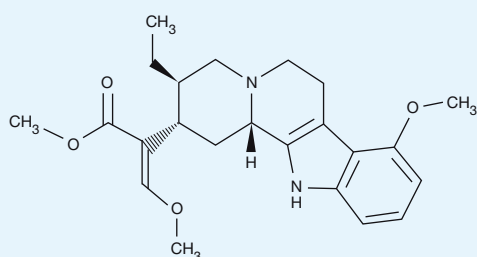
Nome sistematico: 16,17-dideidro-9,17-dimetossi-17,18-seco-20-alfa-ioimban-16-carbossiacidometilestere.

Numero di registro CAS: 4098-40-2.

Punto di fusione: 104°C.

UVmax: 226, 292 nm.

Solubilità: alcol, cloroformio ed acido acetico.



Nome: specioginina.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{30}N_2O_4$ (peso molecolare = 398,5).

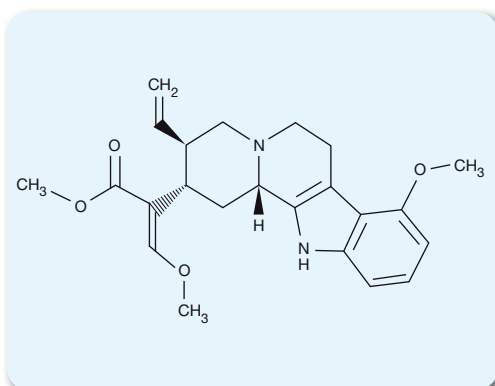
Nome sistematico: 16,17-dideidro-9,17-dimetossi-17,18-secoioimban-16-carbossiacidometilestere.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: 214°C.

UVmax: (in alcol etilico): 227, 274, 284, 293 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: painanteina.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{28}N_2O_4$ (peso molecolare = 396,5).

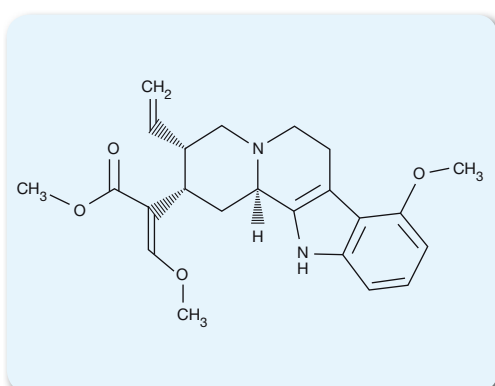
Nome sistematico: (α -E,2S,3R,12bS)-indolo-(2,3-a)quinolizina-2-acidoacetico-3-etenil-1,2,3,4,6,7,12,12b-ottaidro-8metossi- δ -(metossi-metilene)-metilestere.

Numero di registro CAS: 1346-36-7.

Punto di fusione: 98°C.

UVmax: (in alcol etilico): 227, 272, 283, 293 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: speciociliatina.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{28}N_2O_4$ (peso molecolare = 396,5).

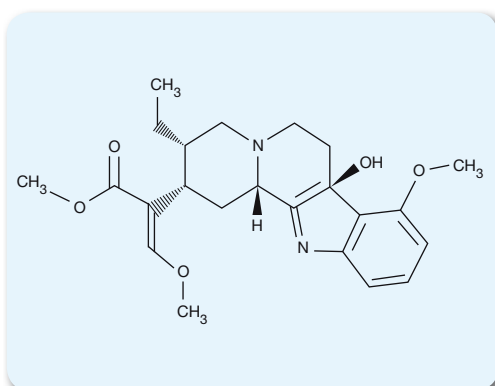
Nome sistematico: (3- β ,16E,20- β)-17,18-seco-3- β ,20- α -ioimban-16-acidocarbossilico,16,17-dideidro-9,17-dimetossi-metilestere.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 7- α -7-idrossi-mitraginina.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{29}N_2O_5$ (peso molecolare = 413,5).

Nome sistematico: 7- α -7-idrossi 16,17-dideidro-9,17-dimetossi-17,18-seco-20- α -ioimban-16-carbossiacidometilestere.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: (in alcol etilico): 221, 245, 305 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

La *Mitragnya speciosa* e i suoi principi attivi possono essere legalmente comprati, venduti e posseduti in Italia.

La *Mitragnya speciosa* e/o la mitraginina e la 7- α -7-idrossi-mitraginina sono, invece, sostanze controllate in molti Paesi europei come la Danimarca, la Polonia e la Svezia. Negli Stati Uniti, nel Regno Unito e in Germania questi alcaloidi non sono proibiti, ma sono sotto sorveglianza. La Drug Enforcement Administration (DEA) americana ha inserito il kratom nella lista di riferimento dei farmaci e delle sostanze chimiche. Questo suggerisce che l'Agenzia americana si riserva la possibilità di vietarla una volta che dati più affidabili sulle sue proprietà e/o rischi per la salute diventeranno disponibili ⁽²⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le foglie della *Mitragnya speciosa* vengono utilizzate a scopo ricreazionale come sostitutivo dell'oppio ^(1,6), per ridurre la dipendenza da alcol, per il trattamento dell'ansia e della depressione ⁽⁷⁾. Le proprietà farmaco-tossicologiche della *Mitragnya speciosa* sono dovute alle interazioni degli alcaloidi con i recettori degli oppioidi, i recettori adrenergici, serotoninergici e dopaminergici ⁽⁸⁾. La pianta è utilizzata, nella medicina tradizionale, per alleviare i dolori muscolari, per migliorare la resistenza fisica, le prestazioni sessuali e nei trattamenti di disassuefazione da oppiacei ⁽⁹⁻¹¹⁾. Sono stati evidenziati effetti antinocicettivi ⁽¹²⁾, proprietà antidepressive ⁽¹³⁾, antinfiammatorie ⁽¹⁴⁾, antiossidanti e antibatteriche ⁽¹⁵⁾.

degli estratti di *Mitragyna speciosa* e/o della sola mitraginina in modelli animali. Sebbene l'assunzione ripetuta di foglie di *Mitragyna speciosa* porti ad una compromissione della funzione cognitiva⁽¹⁶⁾, la singola assunzione dell'estratto alcaloideo produce un miglioramento dell'apprendimento con un effetto significativo sulla memoria a breve e lungo termine^(17,18) e la riduzione dei segni di astinenza da oppiacei in modello animale⁽¹⁹⁾. La *Mitragyna speciosa* può trovare utilizzo nel trattamento del diabete⁽²⁰⁾.

Tossicità

La dose letale 50 (DL50) nel topo dopo somministrazione orale dell'estratto alcolico di *Mitragyna speciosa* risulta essere di 4,90 g/kg di peso corporeo mentre nel caso dell'estratto alcaloideo è di 173,20 mg/kg⁽²⁾. Ad una dose di 1000 mg/kg l'estratto alcolico di *Mitragyna speciosa* induce una grave epatotossicità e una lieve nefrotossicità acuta⁽²¹⁾. Mentre l'estratto acquoso mostra proprietà antimutagene⁽²²⁾, 200 mg/kg di estratto alcaloideo causano invece la morte di tutti gli animali⁽²³⁾.

Effetti avversi

Sono stati descritti in letteratura diversi casi di intossicazione da consumo di *Kratom*^(3,5,24-28). Gli effetti avversi osservati dopo un uso prolungato di *Mitragyna speciosa* includono anoressia, perdita di peso, iperpigmentazione, crisi epilettiche, psicosi, costipazione, insonnia e scarsa attenzione^(5,22). Fra le sintomatologie più gravi, la letteratura riporta una colestasi intraepatica farmaco-indotta⁽³⁾, un grave forma di ipotiroidismo primario⁽²³⁾ e anche casi di decesso⁽²⁴⁻²⁶⁾.

In un caso, la causa del decesso è certamente riferibile all'abuso di *Kratom* poiché nei liquidi biologici sono state trovate alte concentrazioni di mitraginina (0,60 mg/l) e assenza di altre sostanze d'abuso⁽²⁶⁾. Nel caso di una donna thailandese di religione islamica, la causa di morte non poteva essere ricondotta alla sola assunzione del *Kratom* in quanto è stato accertato anche un consumo eccessivo di una bevanda illegale diffusa nel sud della Thailandia contenente *Kratom*, caffeina, difenidramina e tramadolo (4X100 Kratom Juice Cocktail)⁽²⁷⁾. Tale bevanda, non contenente alcol, poteva essere consumata dai musulmani. Infine, in Svezia in meno di un anno sono stati messi in luce nove casi di morte da overdose di *Kripton*, una polvere bianca venduta su siti telematici specializzati contenente *Kratom* e O-desmetiltramadolo, agonista del recettore μ degli oppioidi. Nel sangue di tutti i decessi sono state identificate e quantificate entrambe le sostanze a concentrazione dell'ordine di $\mu\text{g/g}$ sangue cadaverico⁽²⁸⁾.

Interazioni farmacologiche

Studi sul modello animale hanno mostrato che esiste una possibilità di interazione tra l'estratto di foglie della *Mitragyna speciosa* e farmaci metabolizzati dal citocromo P450 e dall'UDP-glucuronosil transferasi. Gli estratti metanolici ed alcaloidei della pianta stimolano l'attività di entrambi gli enzimi, aumentando significativamente la clearance dei farmaci biotrasformati da tali enzimi⁽²⁹⁾.

D'altra parte, particolare attenzione deve essere fatta quando la *Mitragyna speciosa* viene assunta in concomitanza con farmaci metabolizzati principalmente dall'isoenzima CYP2D6, essendo la pianta un potente inibitore di tale enzima⁽³⁰⁾.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso della *Mitragyna speciosa* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura due metodi analitici che utilizzano un cromatografo liquido accoppiato ad un rivelatore a luce ultravioletta a serie di fotodiodi per l'identificazione e la quantificazione della mitraginina in piante essiccate, in diversi estratti di *Kratom*, nonché nelle bevande a base di questa pianta^(31,32).

Esistono metodi analitici per la determinazione della mitraginina nelle urine di consumatori di *Kratom*⁽³³⁾.

Tra le cinque nuove metodologie pubblicate^(26,28,33-35), le prime quattro utilizzano un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione e quantificazione della mitraginina nel sangue cadaverico^(26,28) e nelle urine di consumatori di *Kratom*^(33,34). Il quinto metodo utilizza la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa per la determinazione degli alcaloidi della *Mitragnyna speciosa* nelle urine di ratti⁽³⁵⁾.

Bibliografia

1. ARUNOTAYANUN W, GIBBONS S. Natural product 'legal highs'. Nat Prod Rep. 2012; 29: 1304-1316.
2. HASSAN Z, MUZAIMI M, NAVARATNAM V, YUSOFF NH, SUHAIMI FW, VADIVELU R, VICKNASINGAM BK, AMATO D, VON HÖRSTEN S, ISMAIL NI, JAYABALAN N, HAZIM AI, MANSOR SM, MÜLLER CP. From Kratom to mitragynine and its derivatives: physiological and behavioural effects related to use, abuse, and addiction. Neurosci Biobehav Rev. 2013; 37: 138-151.
3. KAPP FG, MAURER HH, AUWÄRTER V, WINKELMANN M, HERMANN-CLAUSEN M. Intrahepatic cholestasis following abuse of powdered kratom (*Mitragnyna speciosa*). J Med Toxicol. 2011; 7: 227-231.
4. *Mitragnyna speciosa* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 87: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
5. *Mitragnyna speciosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 98-99: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. ADKINS JE, BOYER EW, MCCURDY CR. *Mitragnyna speciosa*, a psychoactive tree from Southeast Asia with opioid activity. Curr Top Med Chem. 2011; 11: 1165-1175.
7. MCWHIRTER L, MORRIS S. A case report of inpatient detoxification after Kratom (*Mitragnyna speciosa*) dependence. Eur Addict Res. 2010; 16: 229-231.
8. SHAMIMAA, FAKURAZI S, HIDAYAT MT, HAIRUSZAH I, MOKLAS MA, ARULSELVAN P. Antinociceptive action of isolated mitragynine from *Mitragnyna speciosa* through activation of opioid receptor system. Int J Mol Sci. 2012; 13: 11427-11442
9. AHMAD K, AZIZ Z. *Mitragnyna speciosa* use in the northern states of Malaysia: a cross-sectional study. J Ethnopharmacol. 2012; 141: 446-450.
10. WARD J, ROSENBAUM C, HERNON C, MCCURDY CR, BOYER EW. Herbal medicines for the management of opioid addiction: safe and effective alternatives to conventional pharmacotherapy? CNS Drugs. 2011; 25: 999-1007.
11. MAURER, HH. Chemistry, pharmacology, and metabolism of emerging drugs of abuse. Ther Drug Monit. 2010; 32: 544-549.
12. SABETGHADAM A, RAMANATHAN S, MANSOR SM. The evaluation of antinociceptive activity of alkaloid, methanolic, and aqueous extracts of Malaysian *Mitragnyna speciosa* Korth. leaves in rats Pharmacognosy Res. 2010; 2: 181-185
13. FARAH IDAYU N, TAUFIK HIDAYAT M, MOKLAS MA, SHARIDA F, NURUL RAUDZAH AR, SHAMIMAA, APRYANI E. Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from *Mitragnyna speciosa* Korth in mice model of depression. Phytomedicine. 2011; 18: 402-407.
14. UTAR Z, MAJID MI, ADENAN MI, JAMIL MF, LAN TM. Mitragynine inhibits the COX-2 mRNA expression and prostaglandin E production induced by lipopolysaccharide in RAW264.7 macrophage cells. J Ethnopharmacol. 2011; 136: 75-82.
15. PARTHASARATHY S, BIN AZIZI J, RAMANATHAN S, ISMAIL S, SASIDHARAN S, SAID MI, MANSOR SM. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragnyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. Molecules 2009; 14: 3964-3974.
16. APRYANI E, HIDAYAT MT, MOKLAS MA, FAKURAZI S, IDAYU NF. Effects of mitragynine from *Mitragnyna speciosa* Korth leaves on working memory. J Ethnopharmacol 2010; 129: 357-360.
17. HAZIM AI, MUSTAPHA M, MANSOR SM. The effects on motor behaviour and short term memory tasks in mice following an acute administration of *Mitragnyna speciosa* alkaloid extract and mitragynine. J Med Plants Res. 2011; 5: 5810-5817.
18. SENIK MH, MANSOR SM, THARAKAN KJ, BIN ABDULLAH JM. Effect of acute administration of *Mitragnyna speciosa* Korth. standardized methanol extract in animal model of learning and memory. J Med Plants Res. 2012; 6: 1007-1014.
19. KHOR BS, AMAR JAMIL MF, ADENAN MI, CHONG SHU-CHIEN A. Mitragynine attenuates withdrawal syndrome in morphine-withdrawn zebrafish. PLoS ONE. 2011; 6: e28340.
20. PURINTRAPIBAN J, KEAWPRADUB N, KANSENALAK S, CHITTRAKARN S, JANCHAWEE B, SAWANGJAROEN K. Study on glucose transport in muscle cells by extracts from *Mitragnyna speciosa* (Korth) and mitragynine. Natural Product Research. 2011; 25: 1379-1387.
21. HARIZAL SN, MANSOR SM, HASNAN J, THARAKAN JK, ABDULLAH J. Acute toxicity study of the standardized methanolic extract of *Mitragnyna speciosa* Korth in rodent. J Ethnopharmacol. 2010; 131: 404-409.
22. GHAZALI AR, ABDULLAH R, RAMLI N, RAJAB NF, AHMAD-KAMAL MS, YAHYA NA. Mutagenic and antimutagenic activities of *Mitragnyna speciosa* Korth extract using Ames test. J Med Plants Res. 2011; 5: 1345-1348.
23. AZIZI J, ISMAIL S, MORDI MN, RAMANATHAN S, SAID MIM, MANSOR SM. In vitro and in vivo effects of three different *Mitragnyna speciosa* Korth leaf extracts on phase II drug metabolizing enzymes - glutathione transferases (GSTs). Molecules. 2010; 15: 432-441.

24. NELSEN JL, LAPOINT J, HODGMAN MJ, ALDOUS KM. Seizure and coma following Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) exposure. *J Med Toxicol.* 2010; 6: 424-426.
25. SHELEG SV, COLLINS GB. A coincidence of addiction to Kratom and severe primary hypothyroidism. *J Addict Med.* 2011; 5: 300-301.
26. NEERMAN MF, FROST RE, DEKING J. A drug fatality involving Kratom. *J Forensic Sci.* 2013; 58: S278-S279.
27. TUNGTANANUWAT W, LAWANPRASERT S. Fatal 4 ×100 home-made kratom juice cocktail. *J Health Res.* 2010; 24: 43-47.
28. KRONSTRAND R, ROMAN M, THELANDER G, ERIKSSON A. Unintentional fatal intoxications with mitragynine and O-desmethyltramadol from the herbal blend Krypton. *J Anal Toxicol.* 2011; 35: 242-247.
29. AZIZI J, ISMAIL S, MANSOR SM. *Mitragyna speciosa* Korth leaves extracts induced the CYP450 catalyzed aminopyrine-N-demethylase (APND) and UDP-glucuronosyl transferase (UGT) activities in male Sprague-Dawley rat livers. *Drug Metabol Drug Interact.* 2013; 28: 95-105.
30. HANAPI NA, AZIZI J, ISMAIL S, MANSOR SM. Evaluation of selected malaysian medicinal plants on phase I drug metabolizing enzymes, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 activities in vitro. *Int J Pharm.* 2010; 6: 494-499.
31. CHITTRAKARN S, PENJAMRAS P, KEAWPRADUB N. Quantitative analysis of mitragynine, codeine, caffeine, chlorpheniramine and phenylephrine in a kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) cocktail using high-performance liquid chromatography. *Forensic Sci Int.* 2012; 217: 81-86.
32. PARTHASARATHY S, RAMANATHAN S, MURUGAIYAH V, HAMDAN MR, SAID MI, LAI CS, MANSOR SM. A simple HPLC–DAD method for the detection and quantification of psychotropic mitragynine in *Mitragyna speciosa* (ketum) and its products for the application in forensic investigation. *Forensic Sci Int.* 2013; 226: 183-187.
33. *Mitragyna speciosa* in: “Smart Drugs” Seconda Edizione 2010, pp. 101-102: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
33. LE D, GOGGIN MM, JANIS GC. Analysis of mitragynine and metabolites in human urine for detecting the use of the psychoactive plant kratom. *J Anal Toxicol.* 2012; 36: 616-625.
34. ARNDT T, CLAUSSEN U, GÜSSREGEN B, SCHRÖFEL S, STÜRZER B, WERLE A, WOLF G. Kratom alkaloids and O-desmethyltramadol in urine of a “Krypton” herbal mixture consumer. *Forensic Sci Int.* 2011; 208: 47-52.
35. PHILIPP AA, MEYER MR, WISSENBACH DK, WEBER AA, ZOERNLEIN SW, ZWEIPFENNING PG, MAURER HH. Monitoring of kratom or Krypton intake in urine using GC-MS in clinical and forensic toxicology. *Anal Bioanal Chem.* 2011; 400: 127-135.

1.21 Muira puama (*Ptychopetalum olacoides*)



Nome: *Muira puama*

Famiglia: *Olacaceae*

Genere: *Ptychopetalum olacoides*

Specie: *Placoides*

Sinonimi: *liriosma ovata*, *acantha marapama*, *muiratã*, *muiratam*, *marapuama*

Provenienza: Amazzonia Brasiliana

Principi attivi: *muirapuamina*

La *Muira puama* (*Ptychopetalum olacoides*) è una pianta indigena in Amazzonia e in Brasile utilizzata nella tradizione erboristica come stimolante sessuale⁽¹⁾. Poco si conosce circa la fitochimica della pianta. Analisi di estratti della pianta indicano la presenza di terpeni, acidi grassi e steroli, acido vanillico, acido protocatecuico e teobromina⁽²⁾. Sono stati inoltre riscontrati diversi diterpenoidi clerodani^(3,4).

Le radici della pianta possono essere aggiunte nel vino o nella preparazione della “Cachaça”, un'acquavite comune in Brasile ottenuta dalla distillazione del succo di canna da zucchero. Queste preparazioni sono vendute come “garrafadas” e di solito vengono consumate ad una dose di circa 60 ml prima dei pasti^(5,6).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi

Non sono stati trovati in letteratura dati relativi alla formula molecolare, al nome sistematico, al numero di registro CAS, al punto di fusione, all'UVmax ed alla solubilità della *muirapuamina*.

Legislazione

La *Muira puama* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Il Ministero della Salute ha inserito la corteccia del fusto, la corteccia delle radici e il legno della *Muira puama* (come *Ptychopetalum placoides*) nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali ammessi negli integratori alimentari⁽⁷⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I decotti della radice e della corteccia della *Muira puama* sono utilizzati nella medicina popolare per le supposte proprietà afrodisiache, toniche per il sistema nervoso centrale, anti tremore e come modulatori dell'appetito^(2,5,8). Questo utilizzo è supportato da studi su modello animale che hanno dimostrato una attività antidepressiva⁽⁹⁾, anti-stress⁽⁵⁾ e neuroprotettiva^(3,10) degli estratti di radice di *Muira puama*. A tale proposito, un recente studio, sempre su animale, conferma la potenzialità dell'estratto di *Muira puama* nel trattamento dell'alzheimer⁽¹¹⁾.

Tossicità

La somministrazione di estratti di piante contenenti anche la *Muira puama* in volontari sani non ha evidenziato segni di tossicità acuta⁽¹²⁾.

Effetti avversi

Gli effetti avversi associati all'uso di *Muira puama* sono lievi, con possibile comparsa di saltuari dolori allo stomaco e alla testa, associati a nervosismo ed iperagitazione⁽¹³⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Uno studio su modello animale dimostra che un fitoterapico a base di *Anemopaegma mirandum* (catuaba), *Cola nitida* (nuez de cola), *Passiflora alata* (maracujá), *Paullinia cupana* (guaraná) e *Ptychopetalum olacoides* (muira puama) con vitamina B1 somministrato ad una dose equivalente a dieci volte quella consumata dall'uomo non presenta nessun tipo di tossicità sul ratto durante la gravidanza e sulla progenie alla nascita e durante l'allattamento⁽¹³⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie specifiche per l'analisi dei principi attivi della *Muira puama* nei liquidi biologici di assuntori delle preparazioni a base di questa pianta, né su parti della pianta stessa.

In letteratura è riportato un metodo analitico che utilizza un cromatografo liquido accoppiato ad un rivelatore a luce ultravioletta a serie di fotodiodi⁽²⁾ per la standardizzazione di erbe, estratti o fitofarmaci commercializzati come *Muira puama*.

Bibliografia

1. SHAMLOUL R. Natural aphrodisiacs. The Journal of Sexual Medicine. 2010; 7: 39-49.
2. COLOMBO R, BATISTA ANL, BOMFIM GCC, BURGOS RCR, CAVALHEIRO AJ, BOLZANI VS, SILVA DHS, REIMBERG MCH. 2010. Validated high-performance liquid chromatographic method for the standardization of *Ptychopetalum olacoides* Benth., Olacaceae, commercial extracts. Rev Bras Farmacogn. 2010; 20: 781-788.
3. TANG W, KUBO M, HARADA K, HIOKI H, FUKUYAMA Y. Novel NGF-potentiating diterpenoids from a Brazilian medicinal plant, *Ptychopetalum olacoides*. Bioorg Med Chem Lett. 2009; 19: 882-886.
4. TANG W, HARADA K, KUBO M, HIOKI H, FUKUYAMA Y. Eight new clerodane diterpenoids from the bark of *Ptychopetalum olacoides*. Nat Prod Commun 2011; 6: 327-332.
5. PIATO AL, DETANICO BC, LINCK VM, HERRMANN AP, NUNES DS, ELISABETSKY E. Anti-stress effects of the "tonic" *Ptychopetalum olacoides* (Marapuama) in mice. Phytomedicine. 2010; 17: 248-53.
6. Muira puama in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 103-104: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
7. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
8. MENDES FR. Tonic, fortifier and aphrodisiac: adaptogens in the Brazilian folk medicine. Rev. bras. farmacogn. 2011; 21: 754-763.
9. PIATO AL, RIZON LP, MARTINS BS, NUNES DS, ELISABETSKY E. Antidepressant profile of *Ptychopetalum olacoides* Benth (Marapuama) in mice. Phytother Res. 2009; 23: 519-524.
10. FIGUEIRÓ M, ILHA J, POCHMANN D, PORCIÚNCULA LO, XAVIER LL, ACHAVAL M, NUNES DS, ELISABETSKY E. Acetylcholinesterase inhibition in cognition-relevant brain areas of mice treated with a nootropic Amazonian herbal (Marapuama). Phytomedicine. 2010; 17: 956-962.
11. FIGUEIRÓ M, ILHA J, LINCK VM, HERRMANN AP, NARDIN P, MENEZES CB, ACHAVAL M, GONÇALVES CA, PORCIÚNCULA LO, NUNES DS, ELISABETSKY E. The Amazonian herbal Marapuama attenuates cognitive impairment and neuroglial degeneration in a mouse Alzheimer model. Phytomedicine. 2011; 18: 327-333.
12. OLIVEIRA CH, MORAES MEA, MORAESFERNANDO MO, BEZERRA AF, ABIB E, DE NUCCI G. Clinical toxicology study of an herbal medicinal extract of *Paullinia cupana*, *Trichilia catigua*, *Ptychopetalum olacoides* and *Zingiber officinale* (Catuama®) in healthy volunteers. Phytother Res. 2005; 19: 54-57.
13. <http://www.my-personaltrainer.it/integratori/muira-puama.html>
13. DE MELLO JRB, DE MELLO FB, LANGELOHT A. Toxicidade Pré-Clinica de Fitoterápico com *Anemopaegma mirandum*, *Cola nitida*, *Passiflora alata*, *Paullinia cupana*, *Ptychopetalum olacoides* e Tiamina. Lat Am J Pharm. 2010; 29: 57-63.

1.22 Pausinystalia yohimbe (yohimbe)



Nome: *Pausinystalia yohimbe*

Famiglia: *Rubiaceae*

Genere: *Pausinystalia (Corynanthe)*

Specie: *Pausinystalia yohimbe* [K.Schumann]

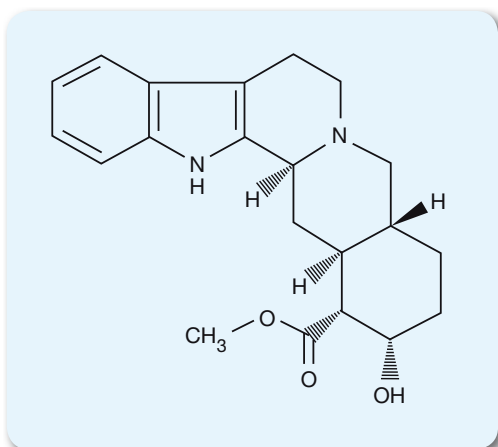
Sinonimi: corynanthe yohimbe; yohimbe, ketum; kutum; biak; biak-biak

Provenienza: Africa Occidentale: Nigeria, Camerun, Congo

Principi attivi: yohimbina, alfa-yohimbina, delta-yohimbina, allo-yohimbina, corinanteina

La *Pausinystalia yohimbe* è un albero nativo del Golfo di Guinea e presente nelle foreste sempreverdi della Nigeria meridionale, del Congo, del Gabon, della Repubblica Democratica del Congo e del Camerun. I principi attivi presenti nella corteccia sono alcaloidi indolici quali la yohimbina e i suoi analoghi e la corinanteina⁽¹⁾. La corteccia della *Pausinystalia yohimbe* è tradizionalmente usata come afrodisiaco ma viene anche fumata o sniffata per i suoi effetti allucinogeni⁽²⁻⁴⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: yohimbina.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{26}N_2O_3$ (peso molecolare = 354,4).

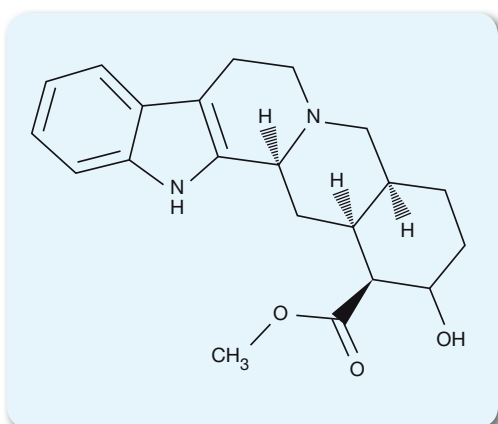
Nome sistematico: Yoimbano-16- α -acido carbossilico, 17- α -idrossi metilestere.

Numero di registro CAS: 146-48-5.

Punto di fusione: 241°C.

UVmax: (alcol metilico) 226, 280, 291 nm.

Solubilità: scarsamente solubile in acqua, moderatamente solubile in etere; solubile in alcol, cloroformio, benzene caldo.



Nome: α -yohimbina.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{26}N_2O_3$ (peso molecolare = 354,4).

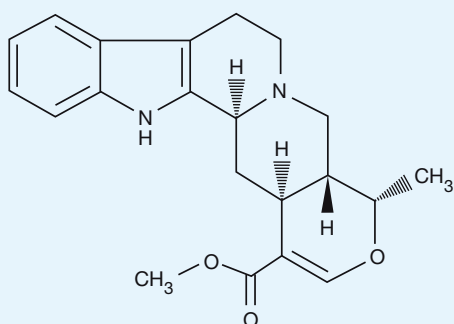
Nome sistematico: Yoimbano-20- α -16- β -acido carbossilico, 17- α -idrossi metilestere.

Numero di registro CAS: 131-03-3.

Punto di fusione: 243,5°C.

UVmax: (alcol metilico) 227, 281 nm.

Solubilità: insolubile in acqua, moderatamente solubile in etere e benzene, alcol metilico ed alcol etilico caldo.



Nome: δ -yohimbina.

Formula Molecolare: C₂₁H₂₄N₂O₃ (peso molecolare = 352,4).

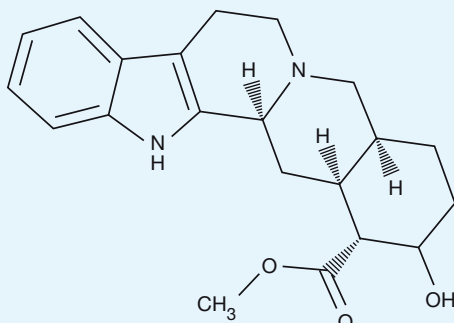
Nome sistematico: Ossayoimbano-16-acido carbossilico, 16,17-dideidro 19- α -metil- metilestere.

Numero di registro CAS: 483-04-5.

Punto di fusione: 258°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: allo-yohimbina.

Formula Molecolare: C₂₁H₂₆N₂O₃ (peso molecolare = 354,4).

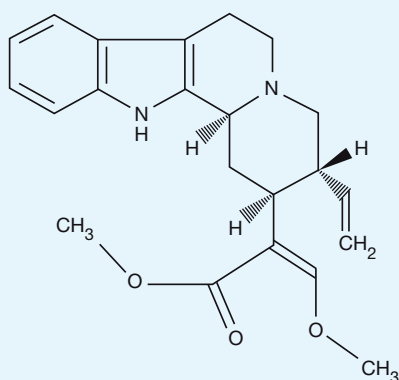
Nome sistematico: Yoimbano-20- α -16- α -acido carbossilico, 17- α -idrossi-metilestere.

Numero di registro CAS: 522-94-1.

Punto di fusione: 135-140°C.

UVmax: (alcol metilico) 225, 280, 290 nm.

Solubilità: insolubile in acqua, solubile in alcol metilico, alcol etilico, piridina.



Nome: corinanteina.

Formula Molecolare: C₂₂H₂₆N₂O₃ (peso molecolare = 366,4).

Nome sistematico: 17-18 secoyoimbano-16-acido carbossilico, 16,17, 18,19-tetraidro, 17 metossi-metilestere.

Numero di registro CAS: 18904-54-6.

Punto di fusione: la forma α fonde a 103-107°C, la forma β fonde a 165-166°C.

UVmax: (alcol metilico) 227, 280, 291 nm.

Solubilità: il cloridrato di corinanteina è solubile in alcol e debolmente in acqua.

Legislazione

La *Pausinystalia yohimbe* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito la corteccia della pianta nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari del Ministero della Salute⁽⁵⁾. La pianta e i suoi estratti vegetali sono al momento legali negli Stati Uniti e in Canada dove sono venduti come prodotti naturali da banco per il trattamento della disfunzione erettile⁽⁶⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La radice della *Pausinystalia yohimbe* trova da tempo utilizzo nella medicina tradizionale e nell'erboristeria per il trattamento dell'impotenza, dell'ipotensione ortostatica e della depressione^(2,7).

Anche la yohimbina, alcaloide principale della corteccia della pianta, è stata sperimentata nel trattamento della disfunzione erettile⁽⁸⁾. I risultati ottenuti su modello animale hanno dimostrato che l'estratto della corteccia di *Pausinystalia yohimbe* causa effettivamente un rilassamento dei muscoli lisci del corpo cavernoso⁽⁹⁾.

Si è inoltre osservato, sempre su modello animale, che l'estratto metanolico della corteccia di *Pausinystalia yohimbe* diminuisce il livello di glucosio nel sangue in topi a digiuno senza però avere significativi effetti ipoglicemizzanti⁽¹⁰⁾.

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta della yohimbina, corinanteina, α -yohimbina, allo-yohimbina e δ -yohimbina in modello animale e nell'uomo⁽¹¹⁾.

Effetti avversi

La *Pausinystalia yohimbe* è ben tollerata a basse dosi (es. circa 20 mg/die di yohimbina o 500 mg/die di corteccia di yohimbe)⁽¹²⁾ mentre nel caso di consumo eccessivo si osservano stati di agitazione, ansia, disturbi gastrointestinali, ipertensione, tachicardia⁽¹³⁻¹⁵⁾ e morte per presunta intossicazione acuta da yohimbina⁽¹⁶⁾. In due casi di morte per intossicazione da yohimbina, la concentrazione di questo principio attivo nel sangue cadaverico era sempre superiore ai 5000 ng/ml⁽¹⁶⁾. In modello animale si è osservato che il consumo di yohimbina può aumentare l'impulsività⁽¹⁷⁾, la tendenza alle recidive negli alcolisti e negli eroinomani⁽¹⁸⁾.

La *Pausinystalia yohimbe* è controindicata in pazienti con ansia, disturbo bipolare, depressione, mania e schizofrenia, così come ipertrofia prostatica benigna e malattie renali⁽¹⁹⁾.

Interazioni farmacologiche

La *Pausinystalia yohimbe* non dovrebbe essere utilizzata con gli inibitori della monoamino ossidasi (anti-MAO) in quanto vi possono essere effetti additivi e deve essere usata con cautela quando viene somministrata con farmaci per l'ipertensione, antidepressivi triciclici o fenotiazine⁽²⁰⁾.

Effetti in gravidanza

Lo *yohimbe* non dovrebbe essere usato in gravidanza⁽³⁵⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono stati analizzati i principi attivi della *Pausinystalia yohimbe* nella corteccia⁽²²⁻²⁴⁾, negli integratori alimentari⁽²⁵⁾ e in preparazioni farmaceutiche⁽²⁶⁾ con una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata ad uno spettrometro di massa a tempo di volo⁽²²⁾, o ad uno spettrometro di massa⁽²⁵⁾ o ad un rivelatore a luce ultravioletta a serie di fotodiodi^(23,24). La yohimbina può essere anche analizzata con una tecnica separativa in cromatografia su strato sottile ad alta prestazione con rivelazione per assorbimento di luce ultravioletta⁽²⁶⁾.

La yohimbina può essere determinata nel sangue cadaverico con una metodica analitica che utilizza un cromatografo liquido accoppiato alla spettrometria di massa tandem⁽¹²⁾.

Bibliografia

1. HOZEIFA MH, ELDIN MT, ELHADI MM, ABD ELWAHAB HM, NIZAR S. Effects of methanolic extract of yohimbe bark (Pausinystalia yohimbe) on isolated rabbit aortic strip and rat uterus. *Health*. 2013; 5: 1016-1019.
2. KUMAR A, ARORA R. Medicinal plants effective in treatment of sexual dysfunction: a review. *J Med Plants Studies*. 2013; 1: 1-6.
3. Pausinystalia yohimbe in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 92: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. Pausinystalia yohimbe in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 106: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
6. Melnyk JP, Marcone MF. Aphrodisiacs from plant and animal sources-A review of current scientific literature. *Food Research International*. 2011; 44: 840-850.
7. HE SM, CHAN E, ZHOU SF. ADME properties of herbal medicines in humans: evidence, challenges and strategies. *Curr Pharm Des*. 2011; 17: 357-407.
8. TANWEER MS, FATIMA A, RAHIMNAJIAD MK. Yohimbine can be the new promising therapy for erectile dysfunction in type 2 diabetics. *J Pak Med Assoc*. 2010; 60: 980.
9. HOZEIFA MH, ELDIN MT, ELHADI MM, ABD ELWAHAB HM, NIZAR S. The relaxant effect of methanolic extract of yohimbe bark (Pausinystalia yohimbe) on rabbit corpus cavernosum smooth muscles. *Health*. 2012; 4: 656-659.
10. HOZEIFA MH, ELDIN MT, ELHADI MM, ABD ELWAHAB HM, NIZAR S. Effects of methanolic extract of Pausinystalia yohimbe bark on blood glucose level in normal fasting rats. *Health*. 2012; 4: 1225-1228.
11. Pausinystalia yohimbe in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 108: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
12. CIMOLAI N, CIMOLAI T. Yohimbine use for physical enhancement and its potential toxicity. *J Diet Suppl*. 2011; 8: 346-354.
13. CRESPI F. Anxiolytics antagonize yohimbine-induced central noradrenergic activity: a concomitant in vivo voltammetry electrophysiology model of anxiety. *J Neurosci Meth*. 2009; 180: 97-105.
14. VASA RA, PINE DS, MASTEN CL, VYTHILINGAM M, COLLIN C, CHARNEY DS, NEUMEISTER A, MOGG K, BRADLEY BP, BRUCK M, MONK CS. Effects of yohimbine and hydrocortisone on panic symptoms, autonomic responses, and attention to threat in healthy adults. *Psychopharmacology*. 2009; 204: 445-455.
15. KEARNEY T, TU N, HALLER C. Adverse drug events associated with yohimbine-containing products: A retrospective review of the California poison control system reported cases. *Ann Pharmacother*. 2010; 44: 1022-1029.
16. ANDERSON C, ANDERSON D, HARRE N, WADE N. Case study: Two fatal case reports of acute yohimbine intoxication. *J Anal Toxicol*. 2013; 37: 611-614.
17. SUN HS, GREEN TA, THEOBALD DEH, BIRNBAUM SG, GRAHAM DL, ZEEB FD, NESTLER EJ, WINSTANLEY CA. Yohimbine increases impulsivity through activation of cAMP response element binding in the orbitofrontal cortex. *Biol Psych*. 2010; 67: 649-656.
18. BANNA KM, BACK SE, DO P, SEE RE. Yohimbine stress potentiates conditioned cue-induced reinstatement of heroin-seeking in rats. *Behav Brain Res*. 2010; 208: 144-148.
19. TSAI HH, LIN HW, PICKARD AS, TSAI HY, MAHADY GB. Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. *Int J Clin Pract*, November 2012; 66: 1056-1078.
20. National Center for Complementary and Alternative Medicine. Herbs at a Glance. <http://nccam.nih.gov/health/herbsataglance.htm>
21. FETROW CW, AVILA JR. Professional's Handbook of Complementary and Alternative Medicines. Springhouse Co, Springhouse, PA, 1999.
22. SUN J, BAKER A, CHEN P. Profiling the indole alkaloids in yohimbe bark with ultra-performance liquid chromatography coupled with ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2011 Sep 30; 25(18): 2591-2602.
23. SUN J, CHEN P. Chromatographic fingerprint analysis of yohimbe bark and related dietary supplements using UHPLC/UV/MS. *J Pharm Biomed Anal*. 2012 Mar 5; 61: 142-149.
24. RAMAN V, AVULA B, GALAL AM, WANG YH, KHAN IA. Microscopic and UPLC-UV-MS analyses of authentic and commercial yohimbe (Pausinystalia johimbe) bark samples. *J Nat Med*. 2013; 67: 42-50.
25. ZHANG Y, HUANG Z, DING L, YAN H, WANG M, ZHU S. Simultaneous determination of yohimbine, sildenafil, vardenafil and tadalafil in dietary supplements using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Sep Sci*. 2010; 33: 2109-2114.
26. BADR JM. A validated high performance thin layer chromatography method for determination of yohimbine hydrochloride in pharmaceutical preparations. *Pharmacogn Mag*. 2013; 9: 4-8.

1.23 Piper methysticum (kava-kava)



Nome: *Piper methysticum*

Famiglia: *Piperacee*

Genere: *Piper*

Specie: *Piper methysticum*

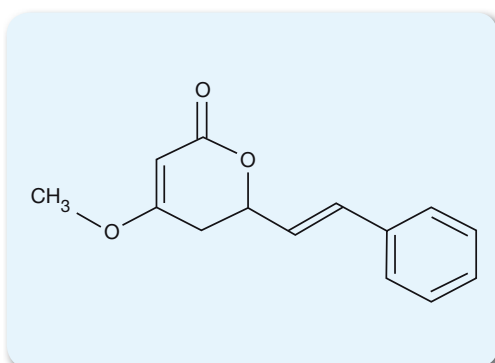
Sinonimi: awa, ava, yaqona, saku, pepe inebriante

Provenienza: Oceania

Principi attivi: kavaina, diidrokavaina, metisticina, diidrometisticina, yangonina, pipermetistina, flavokavaina A, B e C

Il *Piper methysticum* (kava-kava) è una pianta perenne che è stata usata per secoli dalle popolazioni del Sud Pacifico come afrodisiaco, tonico ed energizzante. Tradizionalmente il rizoma della pianta è macerato con acqua o latte di cocco per produrre una bevanda con proprietà rilassanti e psicoattive^(1,2). Il *Piper methysticum* contiene una miscela complessa di sostanze tra cui i kavalattoni o kavapironi (kavaina, diidrokavaina, metisticina, diidrometisticina e yangonina), abbondanti nelle radici e nel rizoma, la cui quantità varia nelle diverse parti della pianta, essendo maggiore nelle radici (3-20%) e minore nelle foglie e negli steli^(1,3). Sono stati descritti alcuni componenti minori quali: la pipermetistina, alcaloide tossico contenuto nelle foglie e in minor quantità nello stelo e nella radice e flavonoidi (calconi) come la flavokavaina A, B e C e la flavokavaina A, B e C⁽⁴⁾. I due gruppi di calconi si differenziano chimicamente poiché le flavokavaine presentano un doppio legame in due rispetto al chetone propionico. Gli studi farmacologici si riferiscono alle kavaine, di cui si riportano le formule chimiche e le proprietà chimico fisiche.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: kavaina.

Formula Molecolare: $C_{14}H_{14}O_3$ (peso molecolare = 230,3).

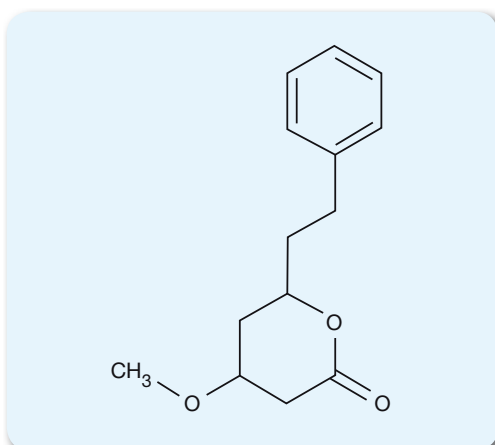
Nome sistematico: 2,6-acido eptadienoico, 5-idrossi-3-metossi-7-fenil-, delta-lattone.

Numero di registro CAS: 1635-33-2.

Punto di fusione: 146°C.

UVmax: 210, 245, 282 nm.

Solubilità: solubile in acetone, etere, alcol metilico, leggermente solubile in esano.



Nome: diidrokavaina.

Formula Molecolare: $C_{14}H_{16}O_3$ (peso molecolare = 232,2).

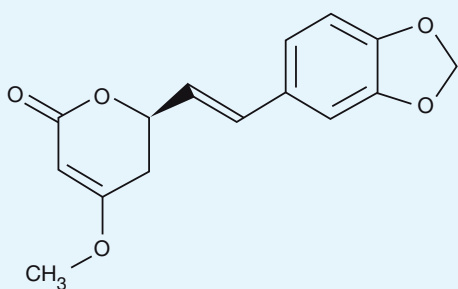
Nome sistematico: 4-metossi-2-fenetil-2,3-didropiran-6-one.

Numero di registro CAS: 19451-52-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: metisticina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{14}O_5$ (peso molecolare = 274,2).

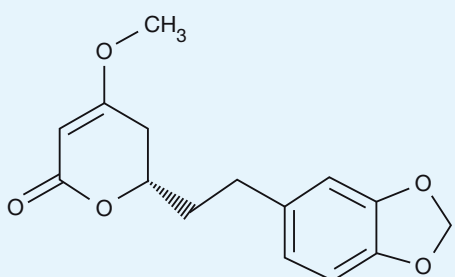
Nome sistematico: (R)-5,6-diidro-4-metossi-6-(3,4-(metilendiossi)stiril)-2H-piran-2-one

Numero di registro CAS: 495-85-2.

Punto di fusione: 137°C.

UVmax: 226, 267, 306 nm.

Solubilità: alcol etere, acetone.



Nome: diidrometisticina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{16}O_5$ (peso molecolare = 276,2).

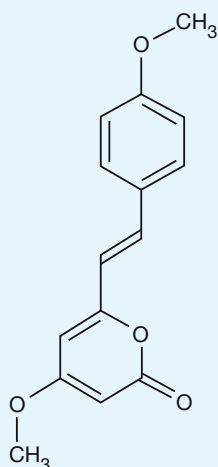
Nome sistematico: (2S)-2-[2-(1,3-benzodiossi-5-il)etil]-4-metossi-2,3-diidropiran-6-one.

Numero di registro CAS: 19902-91-1.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: yangonina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{14}O_4$ (peso molecolare = 258,2).

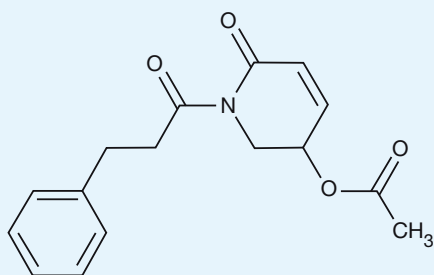
Nome sistematico: 4-metossi-6-(β-(p-anisil)vinil)-alfa-pirone.

Numero di registro CAS: 500-62-9.

Punto di fusione: 156°C.

UVmax: 360 nm.

Solubilità: alcol, acido acetico glaciale, etil acetato, acetone; parzialmente solubile in benzene, etere.



Nome: pipermetistina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}NO_4$ (peso molecolare = 287,3).

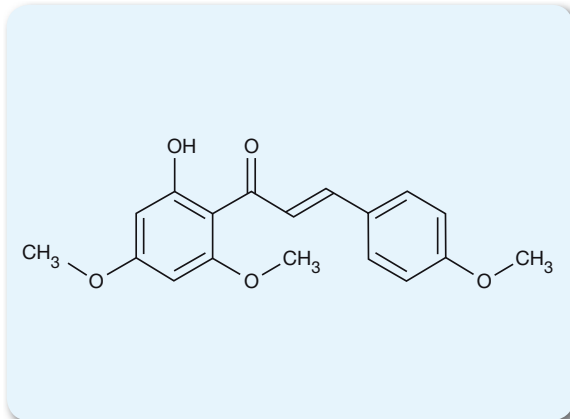
Nome sistematico: 6-oxo-1-(3-fenilpropanoil)-1,2,3,6-tetraidro-3-piridinil acetato.

Numero di registro CAS: 71627-22-0.

Punto di fusione: 195,6°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax..

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: flavokavaina A.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{18}O_5$ (peso molecolare = 314,3).

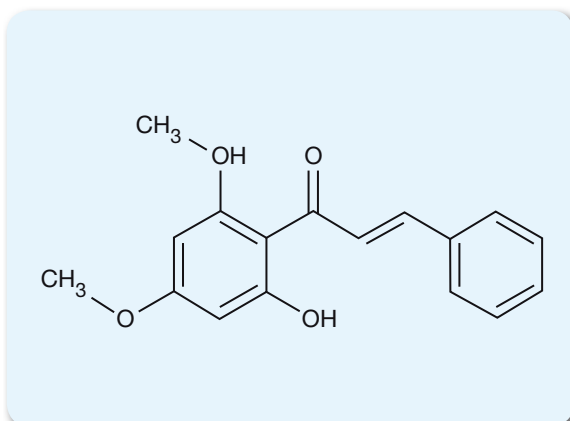
Nome sistematico: 1-(2-idrossi-4,6-dimetossifenil)-3-(4-metossifenil)-2-propen-1-one.

Numero di registro CAS: 3420-72-2.

Punto di fusione: 112-116°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax..

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: flavokavaina B.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{16}O_4$ (peso molecolare = 284,3).

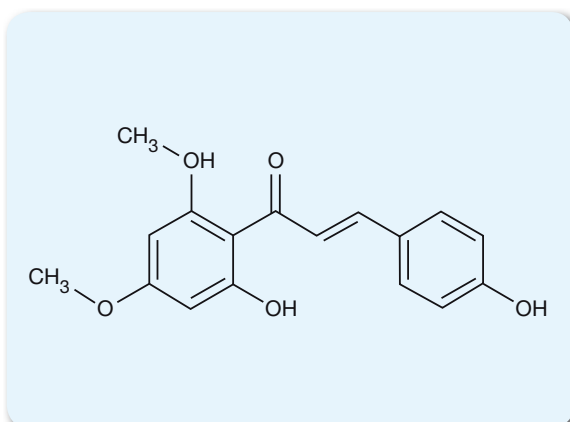
Nome sistematico: 1-(2-idrossi-4,6-dimetossifenil)-3-fenil-2-propen-1-one.

Numero di registro CAS: 1775-97-9.

Punto di fusione: 96-98°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax..

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: flavokavaina C.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{16}O_5$ (peso molecolare = 300,3).

Nome sistematico: 1-(2-idrossi-4,6-dimetossifenil)-3-(4-idrossifenil)-2-propen-1-one.

Numero di registro CAS: 37308-75-1.

Punto di fusione: 185-188°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax..

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

Il *Piper methysticum* può essere legalmente comprato, venduto e posseduto in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito la pianta nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I kavapironi sembrano essere i principali responsabili delle principali attività farmacologiche del *Piper methysticum*. Il rizoma e gli estratti di radice di kava sono in grado di indurre una significativa riduzione dell'ansia, con effetto comparabile a quelli degli ansiolitici di sintesi^(4,6).

Negli Stati Uniti, i prodotti contenenti il *Piper methysticum* sono ampiamente utilizzati come alternativa agli ansiolitici classici quali le benzodiazepine e vengono inoltre utilizzati per aiutare i bambini con iperattività^(2,6). L'estratto di kava-kava è stato studiato per le sue proprietà anti-tumorali e antinfiammatorie⁽⁷⁾.

Tossicità

Si è osservato che dosi molto elevate, fino a 1000 mg/kg/die per i ratti e 200 mg/kg/die per i cani, producono danni al fegato ⁽²⁾. Gli studi di tossicità condotti dal National Toxicology Program (NTP) statunitense mostrano che la somministrazione di kava-kava provoca un'aumentata incidenza di lesioni nel fegato, nello stomaco, nei reni, negli occhi e nel pancreas di ratti maschi e femmine, nel fegato di topi maschi e femmine, e nello stomaco di topi femmina ⁽⁷⁾. Sono noti i dati di tossicità acuta dei kavalattoni, della diidrokavaina e della diidrometisticina nel modello animale ⁽⁸⁾.

Effetti avversi

L'utilizzo del kava-kava si associa ad una bassa incidenza di effetti collaterali che comprendono reazioni cutanee, nausea ed altri disturbi gastrointestinali ^(3,9).

La reazione avversa più grave associata all'utilizzo del *Piper methysticum* è l'epatotossicità. L'epatotossicità del kava-kava è ben documentata in letteratura ^(1,10-12). Secondo alcuni autori l'epatotossicità è da attribuire a preparati commerciali che possono essere stati mal prodotti (impiego di parte aeree o della radice decorticata della pianta) e/o conservati (contenenti ad esempio contaminanti microbici epatotossici) ⁽¹³⁾. Inoltre non vi è finora chiarezza scientifica sul ruolo dei kavalattoni e degli altri principi attivi, come ad esempio, la pipermetistina e la flavokavaina B ⁽¹¹⁾. Alcuni autori suggeriscono che poiché la pipermetistina e la flavokavaina B, al contrario dei kavalattoni, possiedono proprietà apoptotiche possono contribuire ai rari casi di grave tossicità epatica del *Piper methysticum* ⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

Interazioni farmacologiche

Il *Piper methysticum* aumenta la clearance della clorzossazone e può interagire con l'alprazolam, la levodopa e la paroxetina ⁽¹⁸⁾. Un recente studio ha evidenziato che il kava-kava potenzia la citotossicità del paracetamolo ⁽¹⁹⁾.

Effetti in gravidanza

Il kava-kava è controindicato in gravidanza ed allattamento ⁽²⁰⁾.

Determinazioni Analitiche

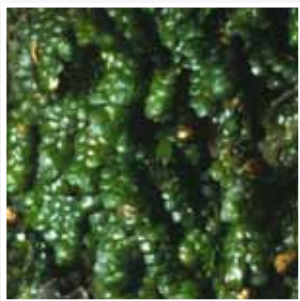
È stata pubblicata una metodologia per la determinazione dei principi attivi del *Piper methysticum* nella radice e nel rizoma. Questa metodica utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia accoppiata ad un rivelatore a ionizzazione di fiamma ⁽²¹⁾.

Sono note metodologie per l'analisi dei principi attivi del *Piper methysticum* nelle urine di assuntori di una bevanda a base di kava-kava ⁽²²⁾.

Bibliografia

1. ROWE A, ZHANG LY, RAMZAN I. Toxicokinetics of kava. *Adv Pharmacol Sci.* 2011; 326724. doi: 10.1155/2011/326724.
2. Piper methysticum in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 114: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
3. ROBINSON V, BERGFELD WF, BELSITO DV, KLAASSEN CD, MARKS JG JR, SHANK RC, SLAGA TJ, SNYDER PW; COSMETIC INGREDIENT REVIEW EXPERT PANEL, ANDERSEN FA. Final report on the safety assessment of Piper methysticum leaf/root/stem extract and Piper methysticum root extract. *Int J Toxicol.* 2009; 28: 175S-188S.
4. SARRIS J, LAPORTE E, SCHWEITZER I. Kava: a comprehensive review of efficacy, safety, and psychopharmacology. *Aust N Z J Psychiatry.* 2011; 45: 27-35.
5. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
6. SARRIS J, TESCHKE R, STOUGH C, SCHOLEY A, SCHWEITZER I. Re-introduction of kava (Piper methysticum) to the EU: is there a way forward? *Planta Med.* 2011; 77: 107-110.
7. NATL TOXICOL PROGRAM Tech Rep Ser. 2012 Mar; (571): 1-186. Toxicology and carcinogenesis studies of kava kava extract (CAS No. 9000-38-8) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies). National Toxicology Program.
8. Piper methysticum in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 116: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
9. KWON DJ, JU SM, YOUN GS, CHOI SY, PARK J. Suppression of iNOS and COX-2 expression by flavokawain A via blockade of NF- κ B and AP-1 activation in RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol.* 2013; 58: 479-486.
10. SHIMODA LM, PARK C, STOKES AJ, GOMES HH, TURNER H. Pacific island 'Awa (Kava) extracts, but not isolated kavalactones, promote proinflammatory responses in model mast cells. *Phytother Res.* 2012; 26: 1934-1941
11. TESCHKE R. Kava hepatotoxicity – a clinical review. *Ann Hepatol.* 2010; 9: 251-265.
12. TESCHKE R, QIU SX, XUAN TD, LEBOT V. Kava and Kava Hepatotoxicity: Requirements for Novel Experimental, Ethnobotanical and Clinical Studies Based on a Review of the Evidence. *Phytother Res.* 2011; 25: 1263-1274.
13. SIMONIENKO K, WASZKIEWICZ N, SZULC A. Psychoactive plant species – actual list of plants prohibited in Poland. *Psychiatria Polska* 2013; 3: 499-510.
14. TESCHKE R, SARRIS J, LEBOT V. Kava hepatotoxicity solution: a six-point plan for new kava standardization. *Phytomedicine.* 2011; 18: 96-103.
15. ZHOU P, GROSS S, LIU JH, YU BY, FENG LL, NOLTA J, SHARMA V, PIWNICA-WORMS D, QIU SX. Flavokawain B, the hepatotoxic constituent from kava root, induces GSH-sensitive oxidative stress through modulation of IKK/NF- κ B and MAPK signaling pathways. *FASEB J.* 2010; 24: 4722-4732.
16. TESCHKE R, QIU SX, LEBOT V. Herbal hepatotoxicity by kava: update on pipermethystine, flavokavain B, and mould hepatotoxins as primarily assumed culprits. *Dig Liver Dis.* 2011; 43: 676-681.
17. ESKANDER RN, RANDALL LM, SAKAI T, GUO Y, HOANG B, ZI X. Flavokawain B, a novel, naturally occurring chalcone, exhibits robust apoptotic effects and induces G2/M arrest of a uterine leiomyosarcoma cell line. *J Obstet Gynaecol Res.* 2012; 38: 1086-1094.
18. IZZO AA, ERNST E. Interactions between herbal medicines and prescribed drugs: an updated systematic review. *Drugs.* 2009; 69: 1777-1798.
19. YANG X, SALMINEN WF. Kava extract, an herbal alternative for anxiety relief, potentiates acetaminophen-induced cytotoxicity in rat hepatic cells. *Phytomedicine.* 2011; 18: 592-600.
20. ERNST E. Kava update: a European perspective. *NZ Med J.* 2004; 117: 1143-1146.
21. WANG J, QU W, JUN S, BITTENBENDER HC, LI QX. Rapid determination of six kavalactones in kava root and rhizome samples using Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis in comparison with gas chromatography. *Anal Methods.* 2010; 5: 492-498.
22. Piper methysticum in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 116-117: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

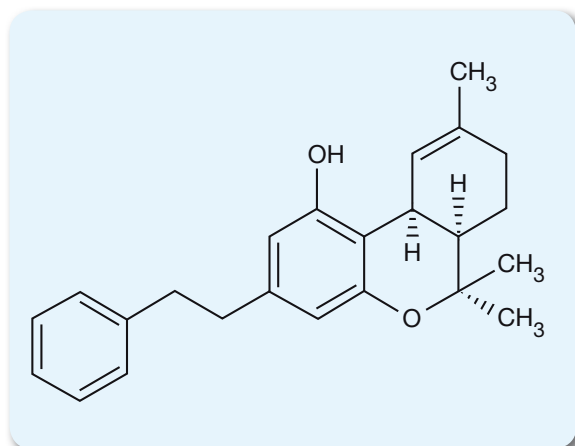
1.24 *Radula marginata*



Nome: *Radula marginata*
Famiglia: *Radulaceae*
Genere: *Radula*
Specie: *Marginata*
Sinonimi: non conosciuto
Provenienza: Nuova Zelanda e Tasmania
Principi attivi: perrottetina e acido perrottetico

La *Radula marginata* è una pianta briofita epatica, ossia senza un sistema vascolare sviluppato per cui si espande orizzontalmente e non verticalmente per catturare la massima quantità di luce solare. Nella scala dell'evoluzione le piante epatiche vengono subito dopo le alghe e prima delle felci. Nativa della Nuova Zelanda e Tasmania, questa pianta contiene dei fitocannabinoidi o bibenzil cannabinoidi, in particolare il perrottetina e l'acido perrottetico⁽¹⁻⁴⁾. La molecole del Δ -9-tetraidrocannabinolo, principio psicoattivo della cannabis e il perrottetina hanno strutture molecolari benzopiranoliche simili, che differiscono per il gruppo in posizione 3 all'anello benzopiranoico: un pentile nel caso del Δ -9-tetraidrocannabinolo e un feniletile nel caso del perrottetina, che risulta molto meno polare del suo omologo. Infatti, gli effetti psicoattivi riportati dopo aver fumato di *Radula marginata* risultano assai blandi e non ben documentati⁽⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: perrottetina.

Formula Molecolare: $C_{24}H_{28}O_2$ (peso molecolare = 348.4).

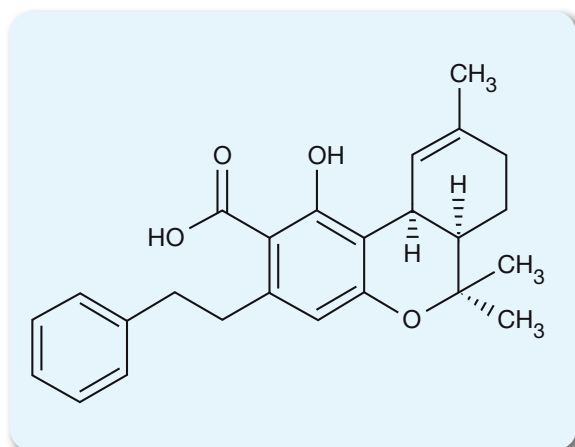
Nome sistematico: (6a*S*,10a*R*)-6,6,9-trimetil-3-(2-feniletile)-6a,7,8,10a-tetraidro-6*H*-benzo[*c*]piran-1-olo.

Numero di registro CAS: 160041-34-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: acido perrottetico.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{28}O_4$ (peso molecolare = 392,4).

Nome sistematico: non è presente in letteratura in nome sistematico.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 301,4, 257,4, 224,6 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso storico

Non è disponibile nessuna prova documentata per quanto riguarda l'uso rituale o storico della pianta.

Uso attuale

La *Radula marginata* viene utilizzata solo a scopo ricreazionale per la ricerca di sensazioni psicoattive simili a quelle che si hanno fumando marijuana. La pianta viene venduta attraverso i siti telematici come incenso dagli effetti ipnotici e leggermente stimolanti, con la dicitura “non destinato al consumo umano”, per poterlo vendere con maggiore facilità⁽⁶⁾.

Legislazione

La *Radula marginata* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

A tutt'oggi non sono disponibili dati riguardanti le proprietà farmaco-tossicologiche della *Radula marginata* e dei suoi principi attivi. Data la struttura chimica simile a quella dei cannabinoidi e in particolare a quella del Δ -9-tetraidrocannabinolo, il principale componente attivo della marijuana, si pensa che il perrottetene e l'acido perrottetico possano agire come agonisti dei recettori dei cannabinoidi⁽⁷⁾, anche se non sono noti i dati relativi alla affinità di questi due principi attivi per i recettori cannabinoidi⁽⁸⁾.

Tossicità

Non sono noti studi né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica della *Radula marginata* e dei suoi principi attivi.

Effetti avversi

Dati naive riportati da utilizzatori della pianta su siti telematici evidenziano che gli effetti del fumo di *Radula marginata* sono paragonabili a quelli dati dal fumo di cannabis e derivati, ma in forma molto più blanda e per un tempo molto più breve^(5,9).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso della *Radula marginata* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Radula marginata* né in liquidi biologici di eventuali consumatori, né nelle diverse porzioni della pianta.

Bibliografia

- GROTHENHERMEN F. Cannabinoidi e sistema endocannabinoide cannabinoids 2006; 1: 10-14 [Versione italiana].
- CULLMANN F, BECKER H. Prenylated bibenzyls from the liverwort *Radula laxiramea*. Zeitschrift Fur Naturforschung. 1999; 54: 147-150.
- TOYOTA M, SHIMAMURA T, ISHII H, RENNER M, BRAGGINS J, ASAKAWA Y. New bibenzyl cannabinoid from the New Zealand liverwort *Radula marginata*. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2002; 50: 1390-1392.
- ASAKAWA Y, LUDWICZUK A, NAGASHIMA F. Chemical Constituents of Bryophytes. Bio- and Chemical Diversity, Biological Activity, and Chemosystematics. Prog Chem Org Nat Prod. 2013; 95 :1-796.
- [http://www.tripme.co.nz/forums/showthread.php?1943-Radula-Marginata-\(Perrottetene\)](http://www.tripme.co.nz/forums/showthread.php?1943-Radula-Marginata-(Perrottetene))
- <http://www.botanicalspirit.com/radula-marginata>
- TOYOTA M, KINUGAWA T, ASAKAWA Y. Bibenzyl cannabinoid and bisbibenzyl derivative from the liverwort *radula perrottetii*. Phytochemistry 1994; 37(3): 859-862.
- WOELKART K, SALO-AHEN OM, BAUER R. CB receptor ligands from plants. Curr Top Med Chem. 2008; 8: 173-186.
- <http://www.bluelight.org/vb/threads/642032-Radula-marginata-Inexperienced-Leapin-Liverworts>

1.25 *Rivea corymbosa* (turbina corymbosa)



Nome: *Rivea corymbosa*

Famiglia: *Convolvulaceae*

Genere: *Turbina Raf.*

Specie: *Rivea corymbosa*

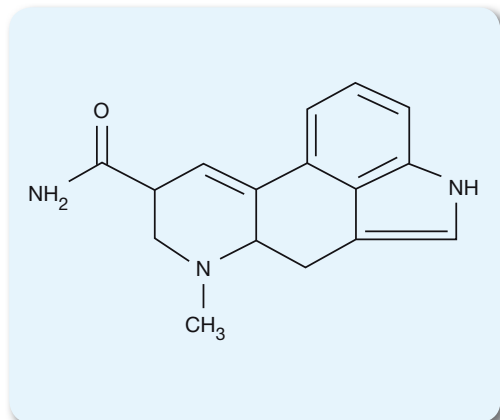
Sinonimi: turbina corymbosa, christmasvine, badoh, yerba de la Virgen

Provenienza: Messico

Principi attivi: ergina (o lisergamide o amide dell'acido lisergico), ergometrina, elimo-clavina, cianoclavina, α -idroissietilamide dell'acido lisergico.

La *Rivea corymbosa* è un rampicante perenne dai fiori bianchi originario dell'America Latina, spesso coltivato come pianta ornamentale. I semi della pianta, Ololiúqui per gli atzechi, erano forse la più comune droga allucinogena usata presso queste popolazioni in epoca precolombiana^(1,2). I semi molto piccoli, rotondi e di color caffè contengono due alcaloidi psicoattivi: l'ergina e l'isoergina, presenti anche nei semi di altre due piante rampicanti ornamentali della famiglia delle Convolvulaceae: l'*Argyreia nervosa* e l'*Ipomea violacea*^(1,2). Secondo la tradizione, a differenza del peyote o dei funghi allucinogeni, l'assunzione di ololiuqui è fatta in presenza di una guida-guaritore⁽³⁻⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: ergina (o lisergamide o amide dell'acido lisergico LSA).

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}N_3O$ (peso molecolare = 267,3).

Nome sistematico: 9,10-dideidro-6-metilergolina-8-beta-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 478-94-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Nome: isoergina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{17}N_3O$ (peso molecolare = 267,3). È l'epimero dell'ergina, quindi possiede la stessa struttura molecolare, ma la distribuzione spaziale dei sostituenti dell'atomo di carbonio 1 è speculare rispetto all'ergina stessa.

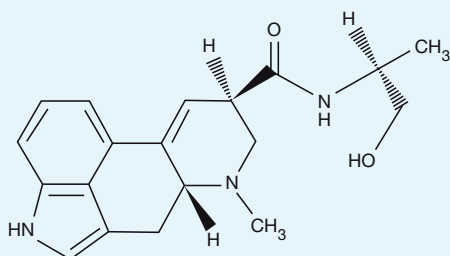
Nome sistematico: 9,10-dideidro-6-metilergolina-8-alfa-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 2889-26-1.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: ergometrina.

Formula Molecolare: $C_{19}H_{23}N_3O_2$ (peso molecolare = 425,5).

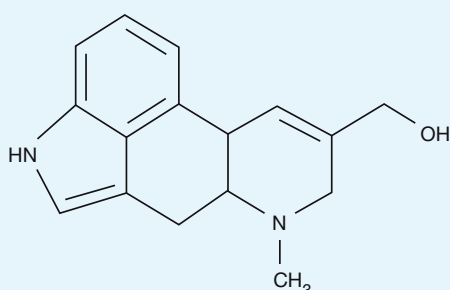
Nome sistematico: 9,10-dideidro-N-(2-idrossi-1-metiletil)-6-metil-8-beta-(S)-9-ergolina-8-carbossiamide.

Numero di registro CAS: 60-79-7.

Punto di fusione: 162°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in acqua.



Nome: elimoclavina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{18}N_2O$ (peso molecolare = 254,3).

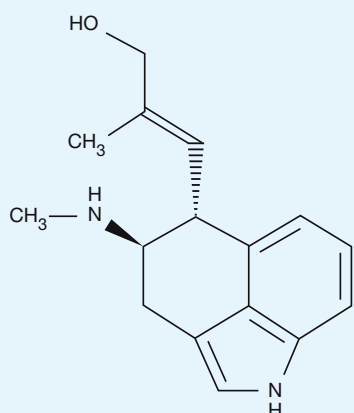
Nome sistematico: 8,9-dideidro-6-metilergolina-8-metano.

Numero di registro CAS: 548-43-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: cianoclavina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{20}N_2O$ (peso molecolare = 256,3).

Nome sistematico: propen-1-olo,2-metil-3-(1,3,4,5-tetraidro-4-(metilamino)benz(cd)indolo-5-il-(4R-(4-alfa,5-beta(E)).

Numero di registro CAS: 2390-99-0.

Punto di fusione: 221°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla formula molecolare, al nome sistematico, al numero di registro CAS, al punto di fusione, all'UVmax e alla solubilità dell' α -idrossietilamide dell'acido lisergico.

Legislazione

In Italia i semi di *Rivea corymbosa* e l'alcaloide ergina in essi contenuta sono inseriti nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I semi di *Rivea corymbosa* vengono ricercati esclusivamente a scopo ricreazionale per la loro capacità di indurre effetti psicoattivi^(3,5). Non sono riportati in letteratura studi su altre proprietà farmacologiche della pianta.

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta dell'ergina in modello animale e nell'uomo⁽⁶⁾.

Effetti avversi

L'ingestione di semi di *Rivea corymbosa* induce cambiamenti percettivi-sensoriali quali: illusioni visive, sinestesie, euforia, disturbi della memoria e lieve sonnolenza⁽³⁾. Gli studiosi delle culture precolombiane mesoamericane riportano che l'uso dei piccoli semi di *Rivea corymbosa* (circa 100-150 semi) causa una prima fase di vuoto psichico, a volte accompagnato da nausea e vertigini, a cui segue dopo varie ore un periodo di calma e intensa sedazione⁽³⁾.

Interazioni farmacologiche

Il lisergolo, un principio attivo minore estratto dalla *Rivea corymbosa* e da altre piante ad essa correlate (es. *Ipomoea violacea*), è in grado di migliorare la biodisponibilità di diversi antibiotici, come la rifampicina, la tetraciclina e l'ampicillina⁽⁷⁾. L'ergometrina, alcaloide contenuto nei semi di *Rivea corymbosa*, può causare broncospasmo in associazione con anestesia generale⁽⁸⁾.

Effetti in gravidanza

L'ingestione di semi di *Rivea corymbosa* nelle donne in gravidanza è rischiosa in quanto l'ergina, potente induttore delle contrazioni uterine, potrebbe causare aborto spontaneo⁽⁹⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie specifiche per l'analisi dei principi attivi della *Rivea corymbosa* nei liquidi biologici dopo ingestione di semi della pianta, né metodologie per l'analisi dei semi stessi. Tuttavia, esistono in letteratura metodologie per l'analisi dell'ergina contenuta sia nei semi della *Rivea corymbosa* che in quelli dell'*Argyreia nervosa* e dell'*Ipomoea violacea*, nel sangue e nelle urine di consumatori di semi di *Argyreia nervosa*⁽¹⁰⁾.

Si rimanda alla monografia dell'*Argyreia nervosa* per i dettagli analitici della determinazione, nel sangue e nell'urina, dell'ergina⁽¹⁰⁾.

Bibliografia

1. MEIRA M, PEREIRA DA SILVA E, DAVID JM, DAVID JP. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. *Rev Bras Farmacogn*. 2012; 22: 682-713.
2. SIMONIENKO K, WASZKIEWICZ N, SZULC A. Psychoactive plant species - actual list of plants prohibited in Poland. *Psychiatria Polska* 2013; 3: 499-508.
3. CAROD-ARTAL FJ. Alucinógenos en las culturas precolombinas mesoamericanas. *Neurología*. 2011; doi:10.1016/j.nrl.2011.07.003
4. *Rivea corymbosa* in: "Smart Drugs" Prima Edizione 2006, p. 99: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
5. *Rivea Corymbosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 120-121: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. *Rivea Corymbosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 122: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
7. DUDHATRA GB, MODY SK, AWALE MM, PATEL HB, MODI CM, KUMAR A, KAMANI DR, CHAUHAN BN. A comprehensive review on pharmacotherapeutics of herbal bioenhancers. *Scientific World Journal*. 2012;2012:637953. doi: 10.1100/2012/637953.
8. NELSON-PIERCY C. Asthma in pregnancy. *Thorax*. 2001; 56: 325-328.
9. *Rivea Corymbosa* in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, p. 122: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
10. KLINKE HB, MÜLLER IB, STEFFENRUD S, DAHL-SØRENSEN R. Two cases of lysergamide intoxication by ingestion of seeds from Hawaiian *Baby Woodrose*. *Forensic Sci Int*. 2010; 197: e1-e5.

1.26 *Salvia divinorum* (magic mint)



Nome: *Salvia divinorum*

Famiglia: *Labiatae*

Genere: *Salvia*

Specie: *Salvia divinorum* Epling & Jativa

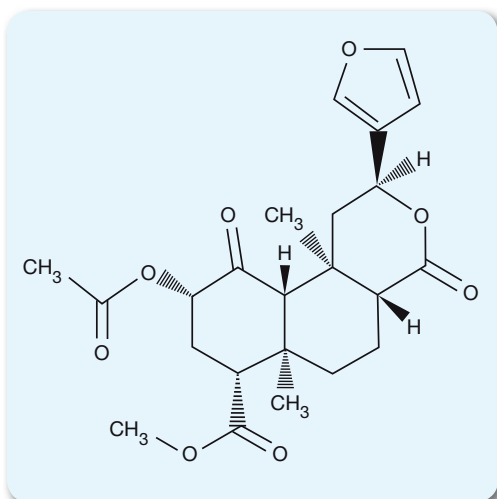
Sinonimi: hojas de Maria, yerba Maria, hierba de la pastora, ska Maria pastora, magic mint, diviner's mint

Provenienza: Messico

Principi attivi: salvinorina A

La *Salvia divinorum* è una pianta della famiglia delle Labiatae, endemica nella piccola regione di Oaxaca in Messico ed viene tradizionalmente utilizzata dagli Indiani Mazatechi durante i riti di divinazione e la guarigione spirituale come bevanda per facilitare le visioni psichedeliche⁽¹⁻³⁾. La salvinorina A, il principale principio attivo della pianta, è considerata il più potente allucinogeno di origine naturale conosciuto⁽¹⁾. Il dosaggio soglia necessario per percepire i primi effetti allucinogeni è stabilito nell'ordine dei 200-500 µg di salvinorina A per via inalatoria⁽²⁾ mentre si è osservato che una dose sublinguale fino a 4 mg di salvinorina A non dà effetti psicoattivi⁽⁴⁾. Altre sostanze presenti nella pianta (salvinorina B-I, salvidivina A-D, salvinicina A e B, e divinorina A-E) sembrerebbero non possedere attività farmacologica e/o psicotropa⁽⁵⁻⁸⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: salvinorina A.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{28}O_8$ (peso molecolare = 432,5).

Nome sistematico: (2- α ,4- α ,6- β ,7- β ,9- β ,10- α ,10- β)-2H-nafto (2,1-c) piran-7-acido carbossilico,9-(acetilossi)-2-(3-furanil)dodecaidro-6a,10b-dimetil-4,10-diosso-metilestere.

Numero di registro CAS: 83729-01-5.

Punto di fusione: 242-244°C.

UVmax: 238 nm.

Solubilità: alcol metilico, acetonitrile e cloroformio.

Legislazione

In Italia, sia la *Salvia divinorum* che la salvinorina A sono inserite nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Il Ministero della Salute ha inserito la pianta nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁹⁾.

In altri paesi europei quali la Norvegia, la Finlandia, l'Estonia e l'Islanda la *Salvia divinorum* è legale, qualora venga prescritta da un medico come terapia per la dipendenza da cocaina e/o da eroina⁽¹⁰⁾. Recentemente, negli Stati Uniti,

oltre alla Louisiana e al Missouri, altri stati hanno scelto sia di disciplinare la detenzione e la commercializzazione della *Salvia divinorum* che di inserire la *Salvia divinorum* e la salvinorina A nella Tabella I del Controlled Substances Act⁽²⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le proprietà farmaco-tossicologiche e gli effetti allucinogeni della *Salvia divinorum* sono da attribuire alla salvinorina A. La salvinorina A è un potente e selettivo agonista del recettore k-oppioide (KOR) con nessuna affinità per i recettori serotoninergici 5-HT_{2A}, il principale bersaglio molecolare dei classici allucinogeni (DOB, LSD, psilocibina, N,N-dimetiltriptamina, mescalina e ketamina)^(5,11).

Grazie alla sua azione agonista sui recettori KOR, estratti a base di *Salvia divinorum* sono stati proposti per una eventuale applicazione terapeutica in analgesia, nella sedazione e per il trattamento della depressione. Studi su modello animale hanno rafforzato l'ipotesi di un potenziale uso della *Salvia divinorum* e della salvinorina A nel trattamento dell'insonnia, della schizofrenia, della depressione, delle allucinazioni associate a demenza (ad esempio malattie come l'Alzheimer) e di un potenziale aiuto per sintomi di astinenza da anfetaminici ed oppiacei^(5,6,12-16). Recentemente è stato dimostrato, sempre su modello animale, che la *Salvia divinorum* può essere efficace come antinfiammatorio⁽¹⁷⁾ e nel trattamento dei disturbi gastrointestinali⁽¹⁸⁾.

Gli effetti positivi frequentemente riportati dai consumatori di *Salvia divinorum* appaiono essere dose-dipendenti^(9,19,20) e consistono in un aumento dell'apprezzamento sensuale ed estetico, della creatività, esperienza onirica e una maggiore tranquillità e benessere⁽²¹⁻²³⁾.

Tossicità

Dati relativi alla tossicità acuta della salvinorina A⁽²⁴⁾

Nella scimmia - DTLo dopo somministrazione sottocutanea: 0,0032 mg/Kg

Nella scimmia - DTLo dopo somministrazione intravenosa: 0,0032 mg/Kg, 0,01 mg/Kg, 0,1 mg/Kg

Nel topo - DTLo dopo somministrazione sottocutanea: 10 mg/Kg

Nel topo - DTLo dopo somministrazione intraspinale: 311,4 µg/Kg

Nel topo - DTLo dopo somministrazione intracerebrale: 56 µg/Kg, 2000 µg/Kg

Nel ratto - DTLo dopo somministrazione intraperitoneale: 0,25 mg/Kg, 1 mg/Kg

Nel ratto - DTLo dopo somministrazione intraspinale: 34597 ng/Kg

Effetti avversi

Effetti negativi riportati dai consumatori di *Salvia divinorum* includono la perdita di controllo, una sensazione di pesantezza alla testa, stanchezza, vertigini, stordimento, lentezza mentale, esaurimento fisico, ansia, aumento della sudorazione, confusione mentale, paura, terrore, panico, amnesia, disforia e compromissione temporanea del linguaggio^(25,26).

È stato riportato il caso di un uomo di 23 anni che ha sviluppato una rapida psicosi e disforia ansiosa dopo aver fumato una quantità sconosciuta di *Salvia divinorum*⁽²⁷⁾. In un altro caso, una ragazza con disturbi bipolari di 17 anni ha sviluppato allucinazioni prolungate e comportamenti dissociativi e autodistruttivi a seguito dell'utilizzo di *Salvia divinorum*⁽²⁸⁾. Sono descritti effetti avversi di natura gastrointestinale (nausea iniziale che procedeva a diarrea, dolori addominali, e vomito) associati all'astinenza dopo un uso cronico di *Salvia divinorum* (3-5 sigarette al giorno per tre-quattro mesi) da parte di una donna di 51 anni⁽²⁹⁾.

Va ricordato che la *Salvia divinorum* è frequentemente co-ingerita con altri allucinogeni e/o alcol, che potrebbero aumentare il rischio di tossicità neuropsichiatrica e/o cardiovascolare⁽³⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono raccomandazioni sull'uso della *Salvia divinorum* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono descritti metodi analitici^(31,32-34) per la determinazione ed identificazione della salvinorina A in diverse parti della pianta. Di questi metodi analitici il primo utilizza un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa a tempo di volo per la determinazione della salvinorina A nelle foglie e nello stelo della pianta⁽³¹⁾. Il secondo utilizza un metodo immunoenzimatico (ELISA) per l'identificazione delle salvinorine presenti nella *Salvia divinorum*⁽³²⁾. Il terzo metodo utilizza una cromatografia su strato sottile accoppiata ad uno spettrometro di massa a desorbimento per ionizzazione elettrospray per l'identificazione della salvinorina A nelle foglie della pianta⁽³³⁾. Il quarto metodo utilizza una cromatografia su strato sottile e un cromatografo liquido per la determinazione della salvinorina A nelle foglie, nei piccioli e negli steli di *Salvia divinorum*⁽³⁴⁾.

Sono note metodologie per l'analisi della salvinorina A nelle diverse matrici biologiche di consumatori di *Salvia divinorum*⁽³⁵⁾ ed inoltre sono stati pubblicati nuovi metodi per la determinazione di questo principio attivo nelle urine e in matrici biologiche forensi^(31,36,37). Di questi metodi analitici, i primi due utilizzano un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa a tempo di volo⁽³¹⁾ e ad uno spettrometro di massa tandem⁽³⁶⁾ per la determinazione e quantificazione della salvinorina A nelle urine. Il terzo utilizza un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa per la determinazione e quantificazione della salvinorina A in diverse matrici biologiche forensi quali fluido pericardico, umore vitreo, sangue intero e plasma⁽³⁷⁾.

Bibliografia

- ZAWILSKA JB, WOJCIESZAK J. Salvia divinorum: from Mazatec medicinal and hallucinogenic plant to emerging recreational drug. *Hum Psychopharmacol.* 2013; 28: 403-412.
- STOGNER J, KHEY DN, GRIFFIN OH, MILLER BL, BOMAN JH. Regulating a novel drug: an evaluation of changes in use of Salvia divinorum in the first year of Florida's ban. *Int J Drug Policy.* 2012; 23: 512-521.
- PERRON BE, AHMEDANI BK, VAUGHNMG, GLASS JE, ABDON A, WU LT. Use of Salvia divinorum in a nationally representative sample. *Am J Drug Alcohol Abus* 2012; 38: 108-113.
- MENDELSON JE, COYLE JR, LOPEZ JC, BAGGOTT MJ, FLOWER K, EVERHART ET, MUNRO TA, GALLOWAY GP, COHEN BM (2011) Lack of effect of sublingual salvinorin A, a naturally occurring kappa opioid, in humans: a placebo-controlled trial. *Psychopharmacol (Berl)* 214: 933-939.
- CUNNINGHAM CW, ROTHMAN RB, PRISINZANO TE. Neuropharmacology of the naturally occurring k-opioid hallucinogen salvinorin A. *Pharmacol Rev.* 2011; 63: 316-347.
- ARUNOTAYANUN W, GIBBONS S. Natural product 'legal highs'. *Nat Prod Rep.* 2012; 29: 1304-1316.
- Salvia divinorum in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 104: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
- Salvia divinorum in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 124-125: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
- Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
- LISTOS J, MERSKA A, FIDECKA S. Pharmacological activity of Salvinorin A, the major component of Salvia divinorum. *Pharmacol Rep.* 2011; 63: 1305-1309.
- JOHNSON MW, MACLEAN KA, REISSIG CJ, PRISINZANO TE, GRIFFITHS RR. Human psychopharmacology and dose-effects of salvinorin A, a kappa opioid agonist hallucinogen present in the plant Salvia divinorum. *Drug Alcohol Depend.* 2011; 115: 150-155.
- HARDEN MT, SMITH SE, NIEHOFF JA, MCCURDY CR, TAYLOR GT. Antidepressive effects of the k-opioid receptor agonist salvinorin A in a rat model of anhedonia. *Behav Pharmacol.* 2012; 23: 710-715.
- LOZAMA A, CUNNINGHAM C.W, CASPERS MJ, DOUGLAS JT, DERSCH CM, ROTHMAN RB, PRISINZANO TE. Opioid receptor probes derived from cycloaddition of the hallucinogen natural product salvinorin A. *J Nat Prod.* 2011; 74: 718-726.
- MORANIAS, KIVELL B, PRISINZANO TE, SCHENK S. Effect of kappa opioid receptor agonists U69593, U50488H, spiradoline and salvinorin A on cocaine-induced drug-seeking in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2009; 94: 244-249
- KIVELL B, PRISINZANO TE. Kappa opioids and the modulation of pain. *Psychopharmacol (Berl).* 2010; 210: 109-119.
- TEJEDA HA, SHIPPENBURG TS, HENRIKSSON R. The dynorphin/k-opioid receptor system and its role in psychiatric disorders. *Cell Mol Life Sci.* 2012; 69: 857-896.
- AVIELLO G, BORRELLI F, GUIDA F, ROMANO B, LEWELLYN K, DE CHIARO M, LUONGO L, ZJAWIONY JK, MAIONE S, IZZO AA, CAPASSO R. Ultrapotent effects of salvinorin A, a hallucinogenic compound from Salvia divinorum, on LPS-stimulated murine macrophages and its anti-inflammatory action in vivo. *J Mol Med.* 2011; 89: 891-902.
- FICHNA J, DICAY M, HIROTA SA, TRABOULSI D, MACDONALD JA, JANECKA A, BECK PL, ZJAWIONY JK, MACNAUGHTON WK, STORR MA. Differential effects of salvinorin A on endotoxin-induced hypermotility and neurogenic ion transport in mouse ileum. *Neurogastroenterol Motil.* 2011; 23: 583-e212.

19. ADDY PH. Acute and post-acute behavioral and psychological effects of salvinorin A in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2012; 220: 195-204.
20. RANGANATHAN M, SCHNAKENBURG A, SKOSNIK PD, COHEN BM, PITTMAN B, SEWELL RA, D'SOUZA DC. Dose-related behavioral, subjective, endocrine, and psychophysiological effects of the κ opioid agonist salvinorin A in humans. *Biol Psychiatry*. 2012; 72: 871-879.
21. KELLY BC. Legally tripping: a qualitative profile of *Salvia divinorum* use among young adults. *J Psychoactive Drugs*. 2011; 43: 46-54.
22. MACLEAN KA, JOHNSON MW, REISSIG CJ, PRISINZANO TE, GRIFFITHS RR. Dose-related effects of salvinorin A in humans: dissociative, hallucinogenic, and memory effects. *Psychopharmacol (Berl)* 2013; 226: 381-392.
23. SUMNALL HR, MEASHAM F, BRANDT SD, COLE JC. *Salvia divinorum* use and phenomenology: results from on line survey. *J Psychopharm*. 2012; 25: 1496-1507.
24. REGISTRY OF TOXIC EFFECTS OF CHEMICAL SUBSTANCES (RTECS): <http://www.ccohs.ca/products/rtecs>
25. LANGE JE, DANIEL J, HOMER K, REED MB, CLAPP JD. *Salvia divinorum*: effects and use among YouTube users. *Drug Alcohol Depend*. 2010; 108: 138-140.
26. BAGGOTT MJ, EROWID E, EROWID F, GALLOWAY GP, MENDELSON J. Use patterns and self-reported effects of *Salvia divinorum*: An internet-based survey. *Drug Alcohol Depend*. 2010; 111: 250-256.
27. MEYER EG, WRITER BW. *Salvia divinorum*. *Psychosomatics*. 2012; 53: 277-279.
28. BRETON JJ, HUYNH C, RAYMOND S, et al. Prolonged hallucinations and dissociative self mutilation following use of *Salvia divinorum* in a bipolar adolescent girl. *J Subst Use*. 2010; 2: 113-117.
29. TRAVIS CR, RAY GA, MARLOWE KF. A Report of nausea and vomiting with discontinuation of chronic use of *Salvia divinorum*. *Case Rep Med*. 2012; 2012: 543747.
30. VOHRA R, SEEFELD A, CANTRELL FL, CLARK RF. *Salvia divinorum*: exposures reported to a statewide poison control system over 10 years. *J Emerg Med*. 2011; 40: 643-650.
31. BARNES BB, SNOW NH. Analysis of Salvinorin A in plants, water, and urine using solid-phase microextraction-comprehensive two-dimensional gas chromatography-time of flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2012; 1226: 110-115.
32. PAUDEL MK, SHIROTA O, SASAKI-TABATA K, TANAKA H, SEKITA S, MORIMOTO S. Development of an enzyme immunoassay using a monoclonal antibody against the psychoactive diterpenoid Salvinorin A. *J Nat Prod*. 2013; 76: 1654-1660.
33. KENNEDY JH, WISEMAN JM. Direct analysis of *Salvia divinorum* leaves for salvinorin A by thin layer chromatography and desorption electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2010; 24: 1305-1311.
34. KOWALCZUK AP, RAMAN V, GALAL AM, KHAN IA, SIEBERT DJ, ZJAWIONY JK. Vegetative anatomy and micromorphology of *Salvia divinorum* (Lamiaceae) from Mexico, combined with chromatographic analysis of salvinorin A. *J Nat Med*. 2014; 68: 63-73.
35. *Salvia divinorum* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 127-128: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
36. MORENO I, DA FONSECA B, OPPOLZER D, MARTINHO A, BARROSO M, CRUZ A, QUEIROZ JA, GALLARDO E. Analysis of Salvinorin A in urine using microextraction in packed syringe and GC-MS/MS. *Bioanalysis*. 2013, 5: 661-668.
37. MARGALHO C, GALLARDO E, CASTANHEIRA A, VIEIRA DN, LÓPEZ-RIVADULLA M, REAL FC. A validated procedure for detection and quantitation of salvinorin A in pericardial fluid, vitreous humor, whole blood and plasma using solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2013; 1304: 203-210.

1.27 *Sceletium tortuosum* (kanna)



Nome: *Sceletium tortuosum*

Famiglia: *Mesembryanthemaceae/Aizoaceae*

Genere: *Sceletium*

Specie: *Sceletium tortuosum*

Sinonimi: kanna, channa

Provenienza: Repubblica Sudafricana, nelle province ad Est ed Ovest di Città del Capo

Principi attivi: mesembrina, mesembrenone, mesembranolo, 4'-O-demetilmesembrenolo, mesembranolo, tortuosamina

Lo *Sceletium tortuosum*, conosciuto anche come Kanna, Channa e Kougoed, è un arbusto succulento tradizionalmente utilizzato per il sollievo della sete e della fame nella medicina tradizionale e a fini spirituali nella regione del Capo in Sud Africa⁽¹⁾. Il contenuto totale di alcaloidi nella pianta risulta variare tra lo 0,11 e 1,99% del peso secco⁽¹⁾. Sebbene nello *Sceletium tortuosum* siano presenti diversi alcaloidi, solo quattro di questi, gli alcaloidi mesembrino-simili (mesembrina, mesembrenone, mesembranolo e mesembrenolo), sono i responsabili delle proprietà psicoattive e stimolanti della pianta⁽²⁻⁵⁾.

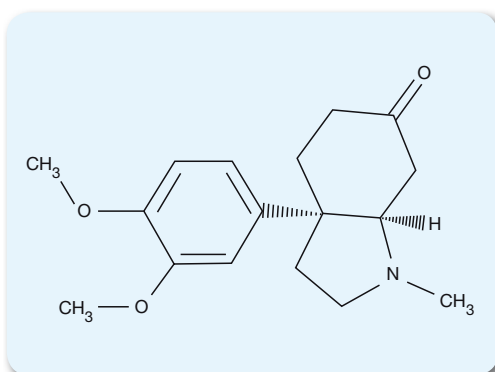
Attualmente è stato possibile raggruppare le piante di *Sceletium tortuosum* in cinque chemiotipi principali (A, B, C, D ed E). Il chemotipo A è rappresentato da campioni privi di alcaloidi mesembrino-simili, i chemiotipi B, C ed E sono caratterizzati da alti livelli di mesembrenolo (64,9-95,5%), mesembrina (51,2-92,5%) e mesembrenone (50,8-72,5%). Il chemotipo D è un gruppo intermedio che contiene tutti e quattro gli alcaloidi in quantità moderate (Tabella 1)⁽¹⁾.

Tabella 1. Contenuto totale e composizione percentuale degli alcaloidi mesembrino-simili nei diversi chemio tipi di *Sceletium tortuosum*⁽¹⁾.

| Chemiotipo | Alcaloidi totali (%) | Mesembrenolo (%) | Mesembranolo (%) | Mesembrina (%) | Mesembrenone (%) |
|------------|----------------------|------------------|------------------|----------------|------------------|
| A | 0,11-0,80 | ND | ND | ND | ND |
| B | 0,42-1,46 | 64,94-96,55 | 1,51-6,95 | ND -3,99 | ND -27,34 |
| C | 0,42-1,03 | ND -12,89 | 2,51-35,50 | 51,25-92,50 | ND -33,40 |
| D | 0,31-1,22 | 2,23-42,64 | 7,84-37,03 | 8,95-48,13 | 24,44-54,06 |
| E | 0,32-1,49 | 3,85-27,93 | 7,00-24,64 | 3,63-32,65 | 50,86-72,51 |

ND: non determinata

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: mesembrina.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{23}NO_3$ (peso molecolare = 289,4).

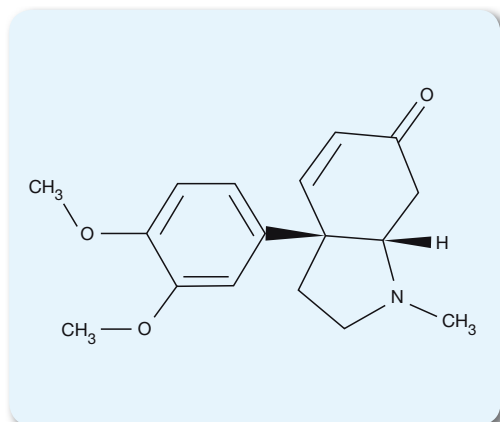
Nome sistematico: 3a-(3,4-dimetossifenil)octaidro-1-metil-6H-indol-6-one.

Numero di registro CAS: 468-53-1.

Punto di fusione: la mesembrina bolle senza fusione a 186-190°C, il suo cloridrato fonde a 179-181°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: alcol, cloroformio, acetone.



Nome: mesembrenone.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{21}NO_3$ (peso molecolare = 287,4).

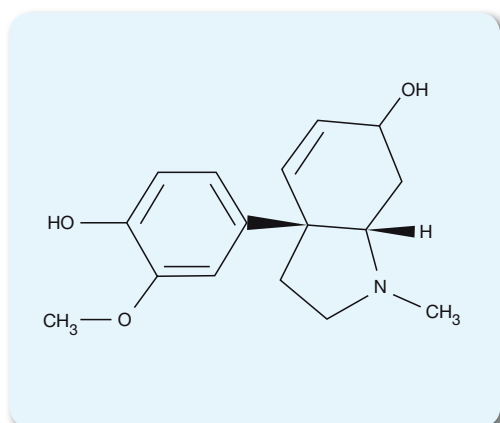
Nome sistematico: 3a-(3,4-dimetossifenil)-1-metil-3,4,5,6,7,7a-esaidro-2H-indol-6-one.

Numero di registro CAS: 468-54-2.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 290 nm⁽⁶⁾.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 4'-O-demethylmesembrenolo.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{21}NO_3$ (peso molecolare = 275,4).

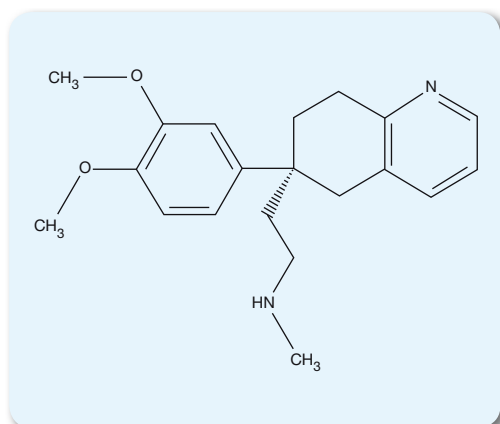
Nome sistematico: 3a-(3-metossi 4-idrossifenil)-1,2,3,3a,7,7a-esaidro-1-metil-6H-indol-6-olo.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: tortuosamina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{26}N_2O_2$ (peso molecolare = 326,4).

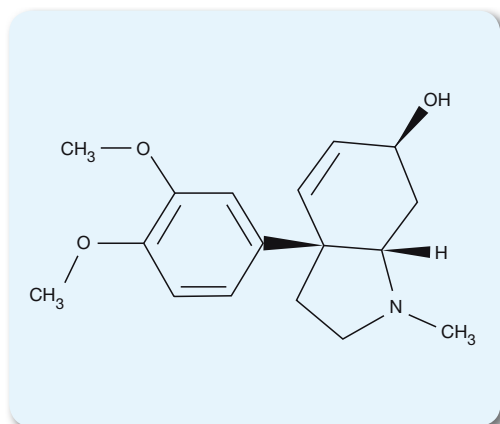
Nome sistematico: 2-[6-(3,4-dimetossifenil)-7,8-diidro-5H-chinol-6-il]-N-metil-etanamina.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: mesembrenolo.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{23}NO_3$ (peso molecolare = 289,4).

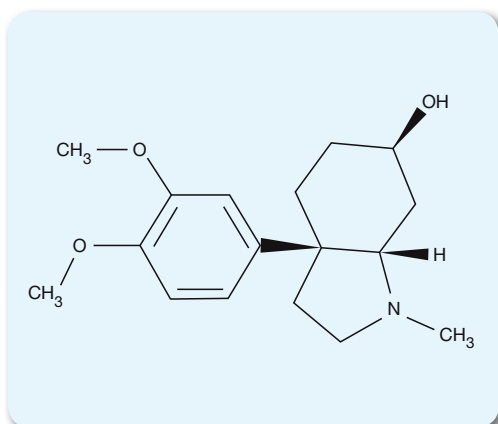
Nome sistematico: 3a-(3,4-Dimetossifenil)-2,3,3a,6,7,7a-esaidro-1H-indol-6-olo.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: mesembranolo.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{25}NO_3$ (peso molecolare = 291,4).

Nome sistematico: 3a-(3,4-Dimetossifenil)octaidro-1-metil-1H-indol-6-olo.

Numero di registro CAS: 23544-42-5.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

Lo *Sceletium tortuosum* può essere legalmente comprato, venduto e posseduto in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'attività degli alcaloidi mesembrino-simili sul sistema nervoso centrale (SNC) è stata attribuita alla loro capacità di agire sia come inibitori della ricaptazione della serotonina (5-HT) che dell'enzima fosfodiesterasi-4 (PDE4)^(2,3). Questa attività di inibizione può avere un potenziale effetto ansiolitico^(7,8).

Gli alcaloidi dello *Sceletium tortuosum* vengono utilizzati in formulazioni farmaceutiche per la gestione di condizioni psichiatriche e psicologiche tra cui la depressione, l'ansia, la tossicodipendenza, la bulimia e il disturbo ossessivo-compulsivo^(3,9).

Tossicità

Uno studio in doppio cieco, condotto su soggetti sani a cui sono stati somministrati per 3 mesi 8 mg o 25 mg di estratto di *Sceletium tortuosum* una volta al giorno, ha evidenziato che entrambe le dosi sono ben tollerate⁽¹⁰⁾.

Effetti avversi

Gli effetti non desiderati associati più frequentemente all'uso dello *Sceletium tortuosum* sono cefalea, apatia, perdita dell'appetito e depressione⁽¹¹⁾.

Presumibilmente la mesembrina, attraverso l'inibizione della ricaptazione della serotonina, determina un incremento della stessa tale da poter provocare l'insorgenza di una sindrome serotoninergica potenzialmente fatale. Tale sindrome si manifesta con stato confusionale, ipomania e agitazione, diarrea, brividi, febbre, sudorazione, alterazioni della pressione arteriosa, nausea, vomito e alterazioni delle funzioni neuromuscolari quali mioclonie, iperriflessia, tremore e difficoltà a coordinare i movimenti⁽¹²⁾.

Interazioni farmacologiche

Sono note le interazioni farmacologiche associate all'uso di *Sceletium tortuosum*⁽¹³⁾.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso dello *Sceletium tortuosum* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono descritte diverse metodologie per la determinazione degli alcaloidi dello *Sceletium tortuosum* sia nella pianta sia nelle preparazioni farmaceutiche che la contengono^(6,14,15). Una utilizza un cromatografo liquido per la separazione dei principi attivi accoppiato ad un rivelatore a luce ultravioletta⁽⁶⁾, un'altra un'elettroforesi capillare accoppiata ad uno spettrometro di massa⁽¹⁴⁾ ed infine l'ultima un cromatografo liquido ad ultra prestazione associato ad un rivelatore a serie di fotodiodi ed un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa⁽¹⁵⁾.

Non sono presenti al momento metodologie per l'analisi dei principi attivi dello *Sceletium tortuosum* nei liquidi biologici.

Bibliografia

1. SHIKANGA EA, VILJOEN AM, COMBRINCK S, MARSTON A, GERICKE N. The chemotypic variation of *Sceletium tortuosum* alkaloids and commercial product formulations. *Biochem Syst Ecol.* 2012; 44: 364-373.
2. SHIKANGA EA, VILJOEN AM, COMBRINCK S, MARSTON A. Isolation of *Sceletium* alkaloids by high-speed countercurrent chromatography. *Phytochem Lett.* 2011; 4: 190-193.
3. HARVEY AL, YOUNG LC, VILJOEN AM, GERICKE NP. Pharmacological actions of the South African medicinal and functional food plant *Sceletium tortuosum* and its principal alkaloids. *J Ethnopharmacol.* 2011; 137: 1124-1129.
4. *Sceletium tortuosum* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 110: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
5. *Sceletium tortuosum* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 131-132: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. PATNALA S, KANFER I. HPLC analysis of mesembrine-type alkaloids in *Sceletium* plant material used as an African traditional medicine. *J Pharm Pharm Sci.* 2010; 13: 558-570.
7. TERBURG D, SYAL S, ROSENBERGER LA, HEANY S, PHILLIPS N, GERICKE N, STEIN DJ, VAN HONK J. Acute Effects of *Sceletium tortuosum* (Zembrin), a Dual 5-HT Reuptake and PDE4 Inhibitor, in the Human Amygdala and its Connection to the Hypothalamus. *Neuropsychopharmacology.* 2013; 38: 2708-2716.
8. SMITH C. The effects of *Sceletium tortuosum* in an in vivo model of psychological stress. *J Ethnopharmacol.* 2011; 133: 31-36.
9. SHIKANGA EA, HAMMAN JH, CHEN W, COMBRINCK S, GERICKE N, VILJOEN AM. In vitro permeation of mesembrine alkaloids from *Sceletium tortuosum* across porcine buccal, sublingual, and intestinal mucosa. *Planta Med.* 2012; 78: 260-268.
10. NELL H, SIEBERT M, CHELLAN P, GERICKE N. A Randomized, Double-Blind, Parallel-Group, Placebo-Controlled Trial of Extract *Sceletium tortuosum* (Zembrin) in healthy adults. *J Altern Complement Med.* 2013; 19: 898-904.
11. SMITH MT, CROUCH NR, GERICKE N, HIRST M. Psychoactive constituents of the genus *Sceletium* N.E.Br and other Mesembryanthemaceae: a review. *J Ethnopharmacol.* 1996; 50: 119-130.
12. LEJOYEUX M, ADES J, ROUILLON F. Serotonin syndrome: incidence, symptoms and treatment. *CNS Drugs.* 1994; 2: 132-143.
13. *Sceletium tortuosum* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 132: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
14. ROSCHER J, POSCH TN, PÜTZ M, HUHNS C. Forensic analysis of mesembrine alkaloids in *Sceletium tortuosum* by nonaqueous capillary electrophoresis mass spectrometry. *Electrophoresis.* 2012; 33: 1567-1570.
15. SHIKANGA EA, KAMATOU GPP, CHEN W, COMBRINCK S, VILJOEN AM. Validated RP-UHPLC PDA and GC-MS methods for the analysis of psychoactive alkaloids in *Sceletium tortuosum*. *South African Journal of Botany.* 2012; 82: 99-107.

1.28 *Sida cordifolia* (malva bianca)



Nome: *Sida cordifolia*

Famiglia: *Malvaceae*

Genere: *Sida* L.

Specie: *Sida cordifolia* L.

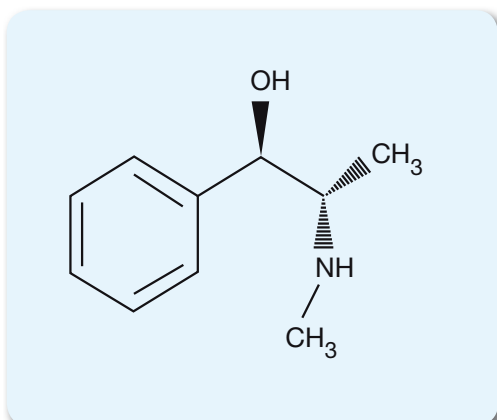
Sinonimi: Ilima, malva bianca, country mallow, bala, pinellia

Provenienza: India

Principi attivi: efedrina, pseudoefedrina, vasicinone e vasicina

La *Sida cordifolia* è una specie originaria del nord-est brasiliano, popolarmente nota come 'Malva Bianca'. È utilizzata in medicina popolare per la sua attività antireumatica, antipiretica, antiasmatica e decongestionante nasale⁽¹⁾. Le foglie di *Sida cordifolia* contengono steroidi, flavonoidi, saponine, ammine simpaticomimetiche (efedrina e pseudoefedrina), vasicinone, vasicinolo e vasicina⁽¹⁾. Le quantità di efedrina e pseudoefedrina trovate nelle foglie di *Sida cordifolia* sono basse (meno del 2%) rispetto a quelle che si ritrovano nell'*Ephedra sinica*⁽²⁻⁴⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: efedrina.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{15}NO$ (peso molecolare = 165,2).

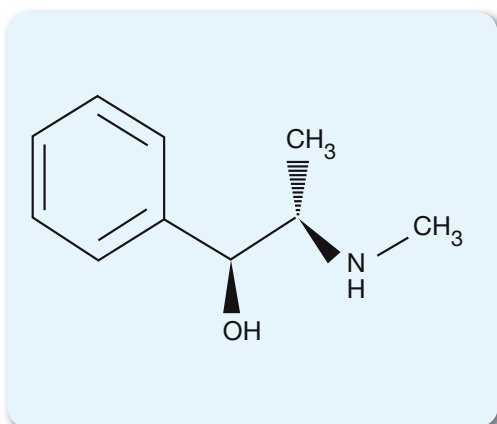
Nome sistematico: (1R,2S)-2-metilammino-1-fenilpropanolo.

Numero di registro CAS: 299-42-3.

Punto di fusione: 38°C.

UVmax: 251nm.

Solubilità: acqua, alcol, cloroformio, etere, glicerolo e paraffina liquida.



Nome: pseudoefedrina.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{15}NO$ (peso molecolare = 165,2).

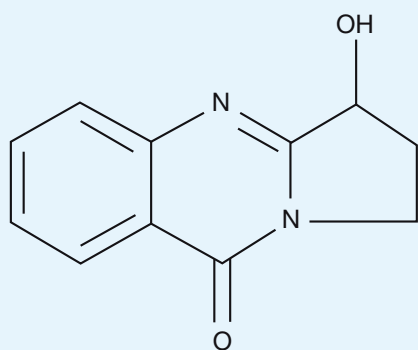
Nome sistematico: α -(1-(metilamino)etil benzene metanolo.

Numero di registro CAS: 90-82-4.

Punto di fusione: 116-119°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: alcol etilico, etere; parzialmente solubile in acqua.



Nome: vasicinone.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{10}N_2O_2$ (peso molecolare = 202,2).

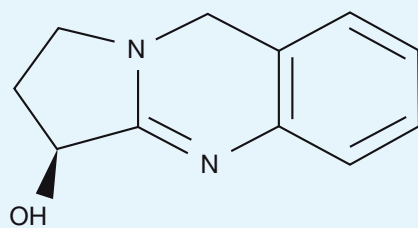
Nome sistematico: 2,3-diidro-3-idrossipirrolo(2,1- β)quinazolin-9(1H)-one.

Numero di registro CAS: 486-64-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.



Nome: vasicina.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{10}N_2O$ (peso molecolare = 188,2).

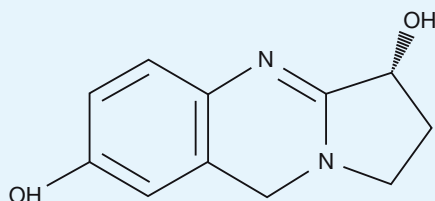
Nome sistematico: 1,2,3,9-tetraidro pirrolo(2,1- β)quinazolin-3-olo.

Numero di registro CAS: 6159-55-3.

Punto di fusione: 210°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acetone, cloroformio, alcol; parzialmente solubile in acqua, etere e benzene.



Nome: vasicinolo.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (peso molecolare = 204,2).

Nome sistematico: (3R)-1,2,3,9-tetraidropirrolo[2,1- β]quinazolin-3,7-diolo.

Numero di registro CAS: 5083-62-5.

Punto di fusione: 210°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

Solubilità: .

Legislazione

La *Sida cordifolia* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

L'efedrina è compresa nella lista dei farmaci, delle sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e delle pratiche mediche, il cui impiego è considerato doping, ai sensi della legge 14 dicembre 2000, n. 376 (Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping)⁽⁵⁾. Il Ministero della Salute ha inserito la pianta erbacea della *Sida cordifolia* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁶⁾ e l'efedrina e i suoi sali in un elenco di sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici⁽⁷⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le proprietà farmacologiche della *Sida cordifolia* sono da attribuire alla presenza di efedrina, pseudoefedrina e degli altri principi attivi presenti nella pianta. È stata evidenziata una attività antinocicettiva⁽¹⁾, antiossidante e attività antinfiammatoria⁽⁸⁻¹⁰⁾ degli estratti di *Sida cordifolia*.

Altri studi hanno dimostrato il potenziale utilizzo della *Sida cordifolia* nel trattamento di infezioni da candida⁽¹¹⁾, della malattia di Parkinson⁽¹²⁾ e nel migliorare la cicatrizzazione delle ferite⁽¹³⁾.

Tossicità

È stata riportata in letteratura la dose letale 50 (DL50) dell'estratto acquoso di *Sida cordifolia* nel topo dopo somministrazione intraperitoneale (3,4 g/kg)⁽¹⁴⁾.

Dati relativi alla tossicità acuta della vasicina⁽¹⁵⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 79 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione endovenosa: 79 mg/kg

Nel gatto - DL50 dopo somministrazione sottocutanea: 100 mg/kg

Nel coniglio - DL50 dopo somministrazione endovenosa: 75 mg/kg

Sono noti i dati di tossicità acuta dell'efedrina e della pseudoefedrina nell'uomo⁽¹⁶⁾.

Effetti avversi

Se usata eccessivamente la *Sida cordifolia* può causare effetti collaterali tipici dell'efedrina come insonnia, ansia, nervosismo, aumento della pressione sanguigna, perdita di memoria o addirittura ictus⁽²⁾.

Interazioni farmacologiche

Anche se non sono state segnalate interazioni farmacologiche con preparati a base di *Sida cordifolia* si deve fare attenzione quando vengono assunti con i glicosidi cardiotonici (possono causare disturbi al ritmo cardiaco), con gli inibitori della monoamino ossidasi (ne può intensificare l'attività simpaticomimentica) e con gli alcaloidi della segale cornuta (può causare ipertensione)⁽²⁾.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso della *Sida cordifolia* in gravidanza o durante l'allattamento. Sono altresì note le raccomandazioni sull'uso di efedrina nelle donne in gravidanza o in allattamento⁽¹⁷⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Sida cordifolia* né in liquidi biologici né nelle diverse porzioni della pianta.

Tuttavia, sono note metodologie per l'analisi negli estratti della pianta, nei prodotti della medicina tradizionale cinese, nei decotti e negli infusi dei principi attivi della *Sida cordifolia* contenuti anche nell'*Ephedra sinica*, e riportati nella monografia di quest'ultima pianta.

È infine nota una metodologia di analisi degli alcaloidi presenti sia nella *Sida cordifolia* che nell'*Ephedra sinica* nel plasma di assuntori di questa ultima pianta⁽¹⁸⁾.

Bibliografia

1. BONJARDIM LR, SILVA AM, OLIVEIRA MG, GUIMARÃES AG, ANTONIOLLI AR, SANTANA MF, SERAFINI MR, SANTOS RC, ARAÚJO AA, ESTEVAM CS, SANTOS MR, LYRA A, CARVALHO R, QUINTANS-JÚNIOR LJ, AZEVEDO EG, BOTELHO MA. Sida cordifolia Leaf Extract Reduces the Orofacial Nociceptive Response in Mice. *Phytother Res.* 2011; 25: 1236-1241.
2. JAIN A, CHOUBEY S, SINGOUR PK, RAJAK H, PAWAR RS. Sida cordifolia (Linn) - An overview. *JAPS.* 2011; 1: 23-31.
3. Sida cordifolia in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 114: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. Sida cordifolia in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 136: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. Lista di dei farmaci, delle sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e delle pratiche mediche, il cui impiego è considerato doping, ai sensi della legge 14 dicembre 2000, n. 376: <http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2013/07/10/13A05816/sg%20>
6. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
7. Elenco delle sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_145_listaFile_itemName_0_file.pdf
8. SWATHY SS, PANICKER S, NITHYA RS, ANUJA MM, REJITHA S, INDIRA M. Antiperoxidative and antiinflammatory effect of Sida cordifolia Linn. on quinolinic acid induced neurotoxicity. *Neurochem Res.* 2010; 35: 1361-1367.
9. KONATÉ K, SOUZA A. Polyphenol Contents, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Six malvaceae species traditionally used to treat Hepatitis B in Burkina Faso. *Eur J Sci Res.* 2010; 44: 570-580.
10. MISHRA AN, PANDEY D, KAUSHIK S, PANDEY L, VERMA, VP. Study of the chemical constituents and antioxidant activity of Sida cordifolia Linn. *Plant Archives.* 2010; 10: 25-31.
11. OUÉDRAOGO M, KONATÉ K, LEPENGUÉ AN, SOUZA A, M'BATCHI B, SAWADOGO LL. Free radical scavenging capacity, anticandidal effect of bioactive compounds from Sida cordifolia L., in combination with nystatin and clotrimazole and their effect on specific immune response in rats. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2012; 11: 33.
12. KHURANA N, GAJBHIYE A. Ameliorative effect of Sida cordifolia in rotenone induced oxidative stress model of Parkinson's disease. *Neurotoxicology.* 2013; 39: 57-64.
13. PAWAR RS, CHAURASIYA PK, RAJAK H, SINGOUR PK, TOPPO FA, JAIN A. Wound healing activity of Sida cordifolia Linn. in rats. *Indian J Pharmacol.* 2013; 45: 474-478.
14. KONATÉ K, BASSOLÉ IH, HILOU A, AWORET-SAMSENY RR, SOUZA A, BARRO N, DICKO MH, DATTÉ JY, M'BATCHI B. Toxicity assessment and analgesic activity investigation of aqueous acetone extracts of Sida acuta Burn f. and Sida cordifolia L. (Malvaceae), medicinal plants of Burkina Faso. *BMC Complement Altern Med.* 2012; 12: 120.
15. Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS). <http://www.ccohs.ca/products/rtecs/>
16. Sida cordifolia in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 138: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
17. Sida cordifolia in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 139: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
18. Ephedra sinica in: "Smart Drugs" Seconda Edizione 2010, pp. 81-83: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.29 Tribulus terrestris (tribolo)



Nome: *Tribulus terrestris* L

Famiglia: *Zygophyllaceae*

Genere: *Tribulus* L.

Specie: *Tribulus terrestris* L.

Sinonimi: tribolo, puncture vine, Bai Ji Li

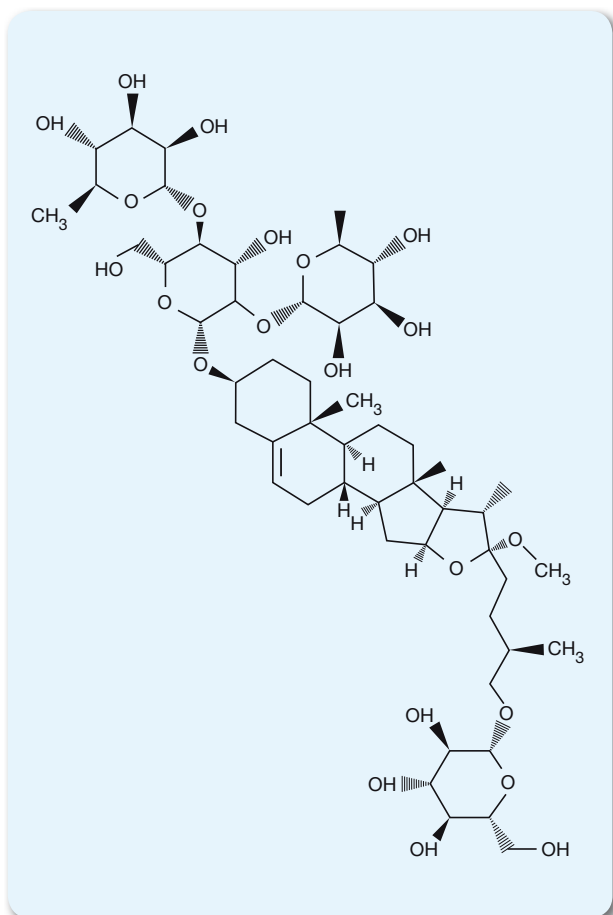
Provenienza: pianta originaria dell'India, ma ormai presente in gran parte dell'America settentrionale in qualità di infestante

Principi attivi: protodioscina

Il *Tribulus terrestris*, comunemente noto come “Gokhru”, è una pianta appartenente alla famiglia delle Zygophyllaceae, nativa di regioni con caldo temperato e tropicale come l'Asia meridionale, l'Africa e l'Australia. Il *Tribulus terrestris* contiene numerose sostanze (flavonoidi, alcaloidi, lignanamidi, steroli, saponine steroidee) ma le sue proprietà sono da attribuire alla sola protodioscina che costituisce circa il 45% dell'estratto ottenuto dalle parti aeree della pianta⁽¹⁻³⁾.

Il *Tribulus terrestris* è stato usato nel corso della storia nella medicina popolare per patologie come l'impotenza, i reumatismi, l'edema, l'ipertensione e i calcoli renali^(1,4). Il *Tribulus terrestris* mostra, inoltre, una marcata attività stimolante sul sistema nervoso centrale⁽⁵⁻⁷⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: protodioscina.

Formula Molecolare: $C_{51}H_{84}O_{22}$ (peso molecolare = 1049,2).

Nome sistematico: (3 β ,22R,25R)-26-(β -D-Glucopiranosilossi)-22-idossifurost-5-en-3-il 6-deossi- α -L-mannopiranosil-(1->2)-[6-deossi- α -L-mannopiranosil-(1->4)]- β -D-glucopiranoside

Numero di registro CAS: 55056-80-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in una miscela di acqua e acetonitrile.

Legislazione

Il *Tribulus terrestris* può essere legalmente comprato, venduto e posseduto in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Una serie di studi convalidano l'uso tradizionale del *Tribulus terrestris* nel trattamento della disfunzione erettile e dei problemi legati all'impotenza maschile⁽⁸⁻¹⁰⁾. In questi studi, condotti su modello animale, la protodioscina sembrerebbe in grado di incrementare la produzione di alcuni ormoni sessuali (testosterone, ormone luteinizzante (LH), deidrotestosterone, diidrotestosterone, etc.) e di stimolare il rilascio di monossido di azoto che ha azione dilatatrice sui vasi sanguigni. Il *Tribulus terrestris* possiede, inoltre, proprietà antiossidanti^(3,11), antibatteriche^(12,13), epatoprotettivi⁽¹⁴⁾, anti iperlipidemiche⁽¹⁵⁾, antitumorali⁽¹⁶⁾, diuretiche e litiasiche⁽¹⁷⁾.

Tossicità

Sono state riportate in letteratura sia la dose letale 50 (DL50) dell'estratto etanolic (95%) del *Tribulus terrestris* nel ratto dopo somministrazione intraperitoneale (56,4 mg/kg) che la dose massima tollerata dell'estratto etanolic (alcol etilico: acqua, 1/1, v/v) nel topo dopo somministrazione intraperitoneale (100 g/kg)⁽⁵⁾. Recentemente si è messo in evidenza, sempre su modello animale, che un trattamento prolungato (otto settimane) al dosaggio di 50 mg/kg ha un potenziale effetto nefrotossico⁽¹⁸⁾.

Effetti avversi

In letteratura è riportato il caso di un paziente che, dopo aver consumato per due giorni una bevanda a base di *Tribulus terrestris*, presentava danno renale acuto, epatite e attacchi epilettici⁽¹⁹⁾. Inoltre è noto un caso di psicosi acuta dopo ingestione di una combinazione di erbe contenenti *Tribulus terrestris*⁽²⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono note possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso del *Tribulus terrestris* in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono stati messi a punto metodi per la determinazione delle saponine steroidee del *Tribulus terrestris* sia negli estratti della pianta sia negli integratori alimentari che la contengono^(21,22). Queste metodiche analitiche utilizzano un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa⁽²¹⁾ ed un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrofotometro⁽²²⁾ ad assorbimento di luce ultravioletta.

Non sono presenti in letteratura metodologie per l'analisi del principio attivo del *Tribulus terrestris* in matrici biologiche di consumatori della pianta, mentre è pubblicata una metodologia per la determinazione della protodioscina nel plasma di ratto⁽²³⁾.

Bibliografia

1. BHANDARI B, CHOPRA D, KOHLI SK. Pharmacological effects of Tribulus Terrestris: A Review. *Int J Contemporary Med.* 2013; 1: 71-75.
2. IVANOVA A, LAZAROVA I, MECHKAROVA P, SEMERDJIEVA I, EVSTATIEVA L. Intraspecific variability of biologically active compounds of different populations of Tribulus terrestris in Thracian floristic region. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2011; 25: 2357-2361.
3. HAMMODA HM, GHAZY NM, HARRAZ FM, RADWAN MM, ELISOHLI MA, ABDALLAH II. Chemical constituents from Tribulus terrestris and screening of their antioxidant activity. *Phytochemistry.* 2013; 92: 153-159.
4. AKRAM, M, ASIF, HM, AKHTAR N, SHAH PA, UZAIR M, SHAHEEN G, SHAMIM T, ALI SHAH SM, AHMAD K. Tribulus terrestris Linn.: a review article. *J Med Plants Res.* 2011; 5: 3601-3605.
5. MOHD J, AKHTAR AJ, ABUZER A, JAVED A, ALI M, ENNUS T. Pharmacological scientific evidence for the promise of tribulus terrestris. *IRJP.* 2012; 3: 403-406.
6. Tribulus terrestris in “Smart Drugs” Prima Edizione, 2006, p. 121: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
7. Tribulus terrestris in “Smart Drugs” Seconda Edizione, 2010, pp. 142-143: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
8. SINGH S, NAIR V, GUPTA YK. Evaluation of the aphrodisiac activity of Tribulus terrestris Linn. in sexually sluggish male albino rats. *J Pharmacol Pharmacother.* 2012; 3: 43-47.
9. SINGH S, GUPTA YK. Aphrodisiac activity of Tribulus terrestris Linn. in experimental models in rats. *J Men Health* 2011; 8: S75-S77.
10. IACONO F, PREZIOSO D, RUFFO A, DI LAURO G, ROMIS L, ILLIANO E. Analyzing the efficacy of a new natural compound made of the alga *Ecklonia bicyclis*, Tribulus terrestris and BIOVIS in order to improve male sexual function. *J Womens Health* 2011; 8: 282-287.
11. KADRY H, ABOU BL, EL GO, TEMRAZ A. Antioxidant activity of aerial parts of Tribulus terrestris in rats. *Pak J Pharm Sci.* 2010; 23: 59-62.
12. JINDAL A, KUMAR P, SINGH G. In vitro antimicrobial activity of Tribulus alatus L. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012; 4: 270-272.
13. DI SANSEBASTIANO GP, DE BENEDICTIS M, CARATI D, LOFRUMENTO D, DURANTE M, MONTEFUSCO A, ZUCCARELLO V, DALESSANDRO G, PIRO G. Quality and efficacy of Tribulus terrestris as an ingredient for dermatological formulations. *The Open Dermatol J* 2012; 6: 42-48.
14. SAMBASIVAM M, RAVIKUMAR R, THINAGARBABU R, DAVIDRAJ C, ARVIND S. Hepatoprotective potential of Azima tetraacantha and Tribulus terrestris on ferrous sulfate-induced toxicity in rat. *Bangladesh J Pharmacol.* 2013; 8: 357-360.
15. KHAN S, KABIR H, ASIF M, ET AL. Antihyperlipidemic potential of Fruits of tribulus terrestris Linn. *IJBR.* 2011; 2: 98-101.
16. KIM HJ, KIM JC, MIN JS, KIM MJ, KIM JA, KOR MH, ET AL. Aqueous extract of tribulus terrestris Linn induces cell growth arrest and apoptosis by down regulating NF-kB signaling in liver cancer cells. *J Ethnopharmacol.* 2011; 136: 197-203.
17. AGGARWAL A, TANDON S, SINGLA, SK, TANDON C. Diminution of oxalate induced renal tubular epithelial cell injury and inhibition of calcium oxalate crystallization in vitro by aqueous extract of tribulus terrestris. *Int Braz J Urol.* 2010; 36: 480-488.
18. GANDHI S, SRINIVASAN BP, AKARTE AS. Potential nephrotoxic effects produced by steroidal saponins from hydro alcoholic extract of Tribulus terrestris in STZ-induced diabetic rats. *Toxicol Mech Methods.* 2013; 23: 548-557.
19. TALASAZ AH, ABBASI MR, ABKHIZ S, DASHTI-KHAVIDAKI S. Tribulus terrestris-induced severe nephrotoxicity in a young healthy male. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25: 3792-3793.
20. MINERVINI L, ANTONIELLI ROMANINI F, SOLMI M, PASSAMANI A, SFERRAZZA E, SCHIFANO F. Acute psychotic episode associated with the intake of a testosterone-enhancer herbal mixture purchased online. *Psychother Psychosom.* 2012; 81: 248-249.
21. LI T, ZHANG Z, ZHANG L, HUANG X, LIN J, CHEN G. An improved facile method for extraction and determination of steroidal saponins in Tribulus terrestris by focused microwaveassisted extraction coupled with GC-MS. *J Sep Sci.* 2009; 32: 4167-4175.
22. KOZLOVA O, PEREDERIAEV O, RAMENSKAIA G. Determination by high performance chromatography, steroid saponins in a biologically active food supplements containing the extract of Tribulus terrestris. *Vopr Pitan.* 2011; 80: 67-71.
23. Tribulus terrestris in “Smart Drugs” Seconda Edizione, 2010, pp. 144-145: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.30 I Cactus del genere *Trichocereus*

Trichocereus macrogonus

Nome: *Trichocereus macrogonus*

Famiglia: *Cactaceae*

Genere: *Trichocereus*

Specie: *Trichocereus macrogonus*

Sinonimi: non conosciuti

Provenienza: Sud America

Principi attivi: mescalina, 3-metossitiramina, 3,4-dimetossifenetilammina, tiramina



Trichocereus pachanoi (cactus di San Pedro)

Nome: *Trichocereus pachanoi*

Famiglia: *Cactaceae*

Genere: *Trichocereus*

Specie: *Trichocereus pachanoi*

Sinonimi: *Echinopsis pachanoi*, cactus di San Pedro

Provenienza: Perù, Ecuador

Principi attivi: mescalina, 3-metossitiramina



Trichocereus peruvianus (torcia peruviana)

Nome: *Trichocereus peruvianus*

Famiglia: *Cactaceae*

Genere: *Trichocereus*

Specie: *Trichocereus peruvianus*

Sinonimi: torcia peruviana

Provenienza: Perù, sul versante Ovest delle Ande, a un'altitudine di circa 2000 metri

Principi attivi: mescalina, 3-metossitiramina, 3,4-dimetossifenetilammina, tiramina



Trichocereus validus

Nome: *Trichocereus validus*

Famiglia: *Cactaceae*

Genere: *Trichocereus*

Specie: *Trichocereus validus*

Sinonimi: non conosciuti

Provenienza: Bolivia

Principi attivi: mescalina



Trichocereus werdermannianus

Nome: *Trichocereus werdermannianus*

Famiglia: *Cactaceae*

Genere: *Trichocereus*

Specie: *Trichocereus werdermannianus*

Sinonimi: non conosciuti

Provenienza: Sud America

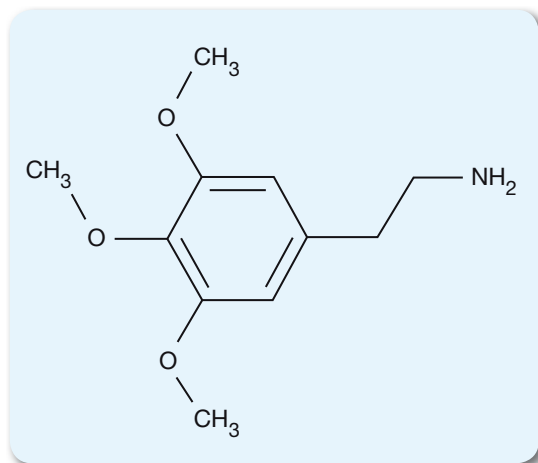
Principi attivi: mescalina, 3-metossitiramina, 3,4-dimetossifenetilamina



I cactus del genere *Trichocereus* sono originari della regione Andina, che si estende dall'Ecuador attraverso il Perù, la Bolivia, il Cile, il sud dell'Argentina fino alla costa atlantica. Le specie di *Trichocereus* più ampiamente utilizzate a scopi terapeutici nella medicina tradizionale sudamericana sono il *Trichocereus pachanoi* e il *Trichocereus peruvianus*. Tale uso è legato agli effetti psicoattivi dovuti alla presenza dell'alcaloide psicoattivo mescalina⁽¹⁾. Il *Trichocereus pachanoi* ha un contenuto medio di mescalina dello 0,1% in peso nella pianta fresca e varia, nella pianta essiccata, dallo 0,3% al 2,3%⁽²⁾. Il contenuto medio di mescalina nella pianta essiccata di *Trichocereus peruvianus* è dello 0,82%⁽²⁾. La determinazione analitica di mescalina in quattordici varietà di piante del genere *Trichocereus* ha evidenziato che il *Trichocereus pachanoi* proveniente dalla città peruviana di Matucana ha il più alto contenuto di mescalina (4,7% peso secco)⁽¹⁾.

I cactus del genere *Trichocereus* sono utilizzati nei riti sciamanici andini per le proprietà allucinatorie, proprietà per le quali questi cactus sono consumati nell'attualità in ambito ricreazionale^(3,4).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: mescalina.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{17}NO_3$ (peso molecolare = 211,2).

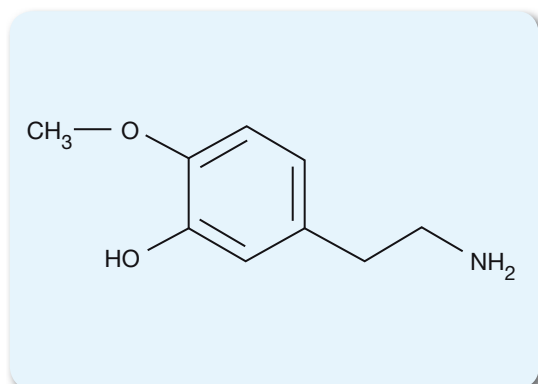
Nome sistematico: 3,4,5,-trimetossifenetilamina.

Numero di registro CAS: 54-04-6.

Punto di fusione: 35,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua, alcol metilico.



Nome: 3-metossitiramina.

Formula Molecolare: $C_9H_{13}NO_2$ (peso molecolare = 167,2).

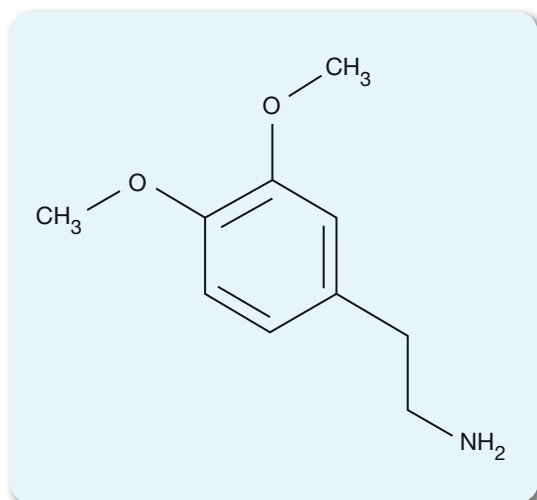
Nome sistematico: 3metossi-4idrossi-fenetilamina.

Numero di registro CAS: 554-52-9.

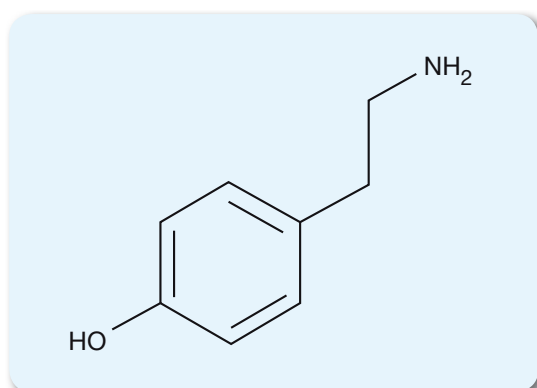
Punto di fusione: 213-215°C (forma cloridrato).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.



Nome: 3,4 dimetossifeniletilamina.
 Formula Molecolare: $C_{10}H_{15}NO_2$ (peso molecolare=181,2).
 Nome sistematico: 3,4-dimetossifeniletilamina.
 Numero di registro CAS: 120-20-7.
 Punto di fusione: 12-15°C.
 UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.
 Solubilità: acqua.



Nome: tiramina.
 Formula Molecolare: $C_8H_{11}NO$ (peso molecolare = 137,1).
 Nome sistematico: 4-(2-aminoetil)fenolo.
 Numero di registro CAS: 51-67-2.
 Punto di fusione: 165°C.
 UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.
 Solubilità: acqua.

Legislazione

In Italia la mescalina è inserita nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Diversamente, nessuno dei cactus del genere *Trichocereus* è inserito come tale nella suddetta tabella e possono essere legalmente comprati, venduti e posseduti in Italia.

Il Ministero della Salute ha inserito la mescalina e suoi sali in un elenco di sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Sebbene il meccanismo d'azione della mescalina non sia stato ancora del tutto chiarito, sembra che gli effetti allucinogeni e comportamentali indotti dalla sostanza siano dovuti alla stimolazione, a livello del sistema nervoso centrale, dei recettori serotoninergici e dopaminergici. È stato dimostrato che nel sistema nervoso centrale, la mescalina agisce come un agonista selettivo dei recettori 5-HT2 della serotonina (5-HT2A, 5-HT2B e 5-HT2C)⁽⁶⁾.

Il *Trichocereus pachanoi* è utilizzato nella medicina omeopatica indiana per le infezioni del tratto urinario (agisce come un diuretico) e nell'angina⁽⁷⁾.

Tossicità

Un recente studio in modello animale ha valutato come lievemente tossico (DL50: 543 µg/ml) l'estratto etanolico del *Trichocereus pachanoi* e non tossico l'estratto acquoso (DL50: >10,000 µg/ml)⁽⁸⁾.

Dati relativi alla tossicità acuta della 3-metossitiramina⁽⁹⁾

Nel ratto - DTLo dopo somministrazione intracerebrale: 0,40 µg/Kg.

Sono noti i dati di tossicità acuta degli altri principi attivi presenti nei diversi cactus del genere *Trichocereus*⁽¹⁰⁾.

Effetti avversi

Gli effetti avversi più frequentemente riportati da chi fa uso di mescalina e dei cactus che la contengono sono midriasi, diaforesi, tachicardia, ipertensione, agitazione psicomotoria e paranoia⁽¹¹⁾.

Interazioni farmacologiche

La mescalina, principio attivo contenuto nei cactus del genere *Trichocereus* interagisce con alcuni farmaci⁽¹²⁾.

Effetti in gravidanza

Sono noti i possibili effetti in gravidanza della mescalina, principio attivo contenuto nei cactus del genere *Trichocereus*⁽¹³⁾.

Determinazioni Analitiche

L'analisi della mescalina nello stelo corticale del *Trichocereus pachanoi* e del *Trichocereus peruvianus* viene effettuata mediante una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata ad spettrofotometro a lunghezza d'onda variabile⁽¹⁾. Non sono presenti in letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi dei cactus del genere *Trichocereus* nei liquidi biologici. Esiste invece una metodologia per la determinazione della mescalina nel plasma⁽¹⁴⁾ e una per l'analisi di questo alcaloide nelle matrici biologiche di un consumatore di peyote (*Lophophora williamsii*), fungo che contiene anche esso la mescalina come alcaloide principale⁽¹⁵⁾. In entrambi i casi si utilizza un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa e di massa tandem per la determinazione e quantificazione dell'alcaloide allucinogeno.

Bibliografia

1. OGUNBODEDE O, MCCOMBS D, TROUT K, DALEY P, TERRY M. New mescaline concentrations from 14 taxa/cultivars of *Echinopsis* spp. (Cactaceae) ("San Pedro") and their relevance to shamanic practice. *J Ethnopharmacol.* 2010; 131: 356-362.
2. ARUNOTAYANUN W, GIBBONS S. Natural product 'legal highs'. *Nat Prod Rep.* 2012; 29: 1304-1316.
3. Cactus del genere *Trichocereus* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, pp. 125-153: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
4. Cactus del genere *Trichocereus* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 148-149: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
5. Elenco delle sostanze che non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_145_listaFile_itemName_0_file.pdf
6. HALBERSTADT AL, GEYER MA. Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens. *Neuropharmacology* 2011; 61: 364-381.
7. RAI M, SINGH RK, SHARMA PC, SINGH LK. Indigenous Cactus biodiversity: A viable genetic resource to fulfill multiform needs under rainfed ecosystems. *Indian Journal of Traditional Knowledge.* 2011; 10: 194-197.
8. BUSSMANN RW, MALCA G, GLENN A, SHARON D, NILSEN B, PARRIS B, DUBOSE D, RUIZ D, SALEDA J, MARTINEZ M, CARILLO L, WALKER K, KUHLMAN A, TOWNESMITH A. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. *J Ethnopharmacol.* 2011; 137: 121-140.
9. Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS): <http://www.ccohs.ca/products/rtecs>
10. Cactus del genere *Trichocereus* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 150: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
11. CARSTAIRS SD, CANTRELL FL. Peyote and mescaline exposures: a 12-year review of statewide poison center database. *Clin Toxicol.* 2010; 48: 350-353.
12. Cactus del genere *Trichocereus* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 150: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
13. Cactus del genere *Trichocereus* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 151: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
14. Cactus del genere *Trichocereus* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 151-152: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
15. GAMBELUNGHE C, MARSILI R, ARONI K, BACCI M, ROSSI R. GC-MS and GC-MS/MS in PCI mode determination of mescaline in peyote tea and in biological matrices. *J Forensic Sci.* 2013; 58: 270-278.

1.31 *Turnera aphrodisiaca* (damiana)



Nome: *Turnera aphrodisiaca*

Famiglia: *Turneraceae*

Genere: *Turnera*

Specie: *Turnera diffusa* var. *Aphrodisiaca*

Sinonimi: damiana, herba de la pastora, mexican damiana

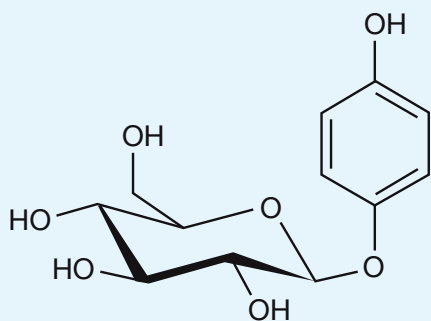
Provenienza: pianta aromatica originaria delle regioni del Nord e Centro America

Principi attivi: arbutina, 1,8-cineolo, α -pinene, β -pinene, p-cimene, gonzalitosina I, damianina, tetrafillina B, β -sitosterolo, apigenina, acacetina

La *Turnera aphrodisiaca* (o *Turnera diffusa*) è un piccolo arbusto diffuso nelle regioni tropicali dell'America centrale e nelle regioni centro-africane. Comunemente conosciuta come “Damiana” è utilizzata fin dall'antichità per le supposte proprietà afrodisiache e psicostimolanti⁽¹⁾. Le foglie contengono fino all'1% di un olio volatile composto da 1,8-cineolo (eucaliptolo), p-cimene, alfa e beta-pinene, una sostanza amara non ancora identificata strutturalmente (la damianina), tannini, flavonoidi (gonzalitosina I, apigenina, acacetina), β -sitosterolo, glicosidi (arbutina, e tetrafillina B)⁽²⁾.

Quando la pianta viene fumata, vengono descritti degli effetti marijuana-simili ed euforia che durano fino a 90 minuti, mentre sono più duraturi se si consuma un decotto a base della pianta stessa^(2,3).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: arbutina.

Formula Molecolare: $C_{12}H_{16}O_7$ (peso molecolare = 272,3).

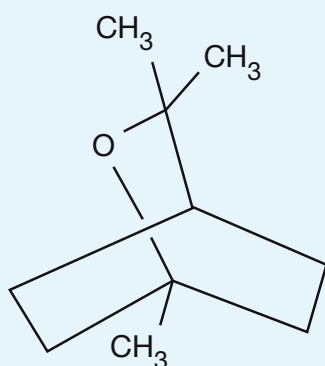
Nome sistematico: 4-idrossifenil- β -D-glucopiranoside.

Numero di registro CAS: 497-76-7.

Punto di fusione: 199, 5°C.

UVmax: 220, 283 nm.

Solubilità: acqua e alcol.



Nome: 1,8-cineolo o eucaliptolo.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{18}O$ (peso molecolare = 154,2).

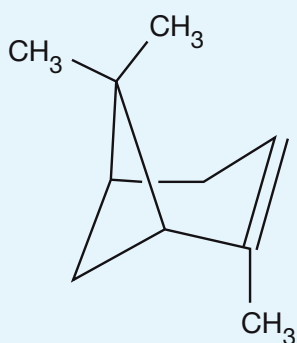
Nome sistematico: 1,3,3-trimetil-2-ossabicyclo(2.2.2)octano.

Numero di registro CAS: 470-82-6.

Punto di fusione: 1,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: insolubile in acqua. Miscibile con alcol, cloroformio, etere, acido acetico glaciale, oli.



Nome: α -pinene.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{16}$ (peso molecolare = 136,2).

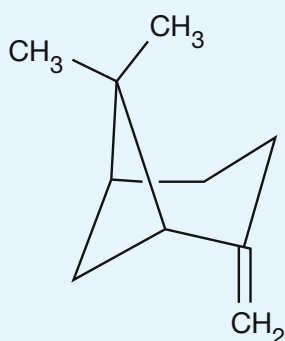
Nome sistematico: 2,6,6-trimetilbicyclo(3.1.1) 2-epta-2-ene.

Numero di registro CAS: 80-56-8.

Punto di fusione: $-64^{\circ}C$ (puro), $132^{\circ}C$ (forma cloridrata).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: insolubile in acqua. Solubile in alcol, cloroformio, etere, acido acetico glaciale.



Nome: β -pinene.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{16}$ (peso molecolare = 136,2).

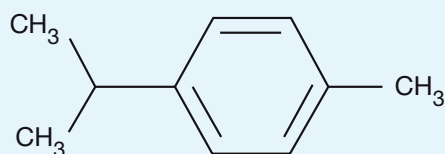
Nome sistematico: 6,6-dimetil-2-metilenebicyclo(3.1.1)eptano.

Numero di registro CAS: 127-91-3.

Punto di fusione: $-61,5^{\circ}C$.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: insolubile in acqua. Solubile in alcol, cloroformio, etere, acido acetico glaciale.



Nome: p-cimene.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{14}$ (peso molecolare = 134,2).

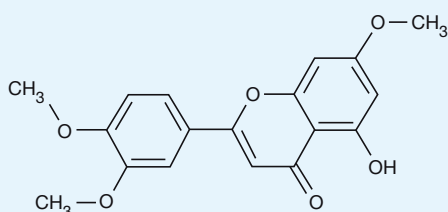
Nome sistematico: 1-metil-4-(1-metiletil)-benzene.

Numero di registro CAS: 99-87-6.

Punto di fusione: $-67,9^{\circ}C$.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: insolubile in acqua. Miscibile con alcol, cloroformio.



Nome: gonzalitosina I.

Formula Molecolare: $C_{18}H_{16}O_6$ (peso molecolare = 328,3).

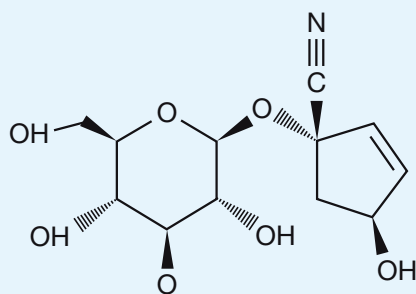
Nome sistematico: 5-idrossi-7,3',4'-trimetossiflavone.

Numero di registro CAS: 29080-58-8.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 213, 246, 270, 288, 333 nm (in alcol etilico).

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: tetrafillina B.

Formula Molecolare: $C_{12}H_{17}NO_7$ (peso molecolare = 287,3).

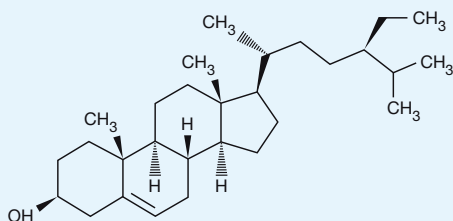
Nome sistematico: 1-(β -D-glucopiranosilossi)-4-idrossi-(1S-trans)-2-ciclopentene-1-carbonitrile.

Numero di registro CAS: 34323-07-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: β -sitosterolo.

Formula Molecolare: $C_{29}H_{50}O$ (peso molecolare = 414,7).

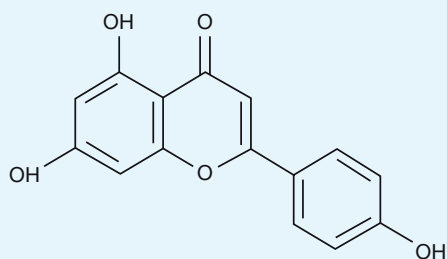
Nome sistematico: 3- β -stigmast-5-en-3-olo.

Numero di registro CAS: 83-46-5.

Punto di fusione: 140°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: apigenina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{10}O_5$ (peso molecolare = 270,2).

Nome sistematico: 5,7-diidrossi-2-(4-idrossifenil)-4H-1-benzopirano-4-one.

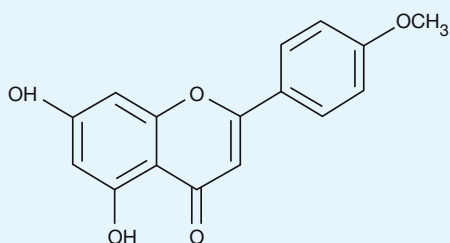
Numero di registro CAS: 520-36-5.

Punto di fusione: 345-350°C.

UVmax: 269, 340 nm.

Solubilità: insolubile in acqua, moderatamente solubile in alcol caldo.

Solubile in soluzioni diluite di idrossido di potassio.



Nome: acacetina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{12}O_5$ (peso molecolare = 284,3)

Nome sistematico: 5,7-diidrossi-2-(4-metossifenil)-4H-1-Benzopirano-4-one.

Numero di registro CAS: 480-44-4.

Punto di fusione: 260-265°C.

UVmax: 268, 300, 326 nm.

Solubilità: solubile in alcol caldo e soluzioni alcaline. Praticamente insolubile in etere.

Non sono presenti in letteratura dati relativi alla damianina.

Legislazione

La *Turnera aphrodisiaca* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito le foglie e le parti aeree della *Turnera diffusa* in un elenco sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁴⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Malgrado la *Turnera aphrodisiaca* sia ampiamente usata nella medicina tradizionale, pochi sono gli studi scientifici che valutano le sue proprietà farmaco-tossicologiche. Studi condotti su modello animale supportano l'uso della *Turnera aphrodisiaca* nella medicina tradizionale come afrodisiaco (potenziatore sessuale) e suggeriscono possibili proprietà terapeutiche della pianta sulla disfunzione erettile⁽⁵⁾. Tali effetti sono probabilmente mediati dai flavonoidi presenti nella pianta che posseggono un meccanismo d'azione che coinvolge la liberazione del monossido di azoto (NO), importante modulatore nell'inibizione del gruppo di enzimi fosfodiesterasi 5, che sono responsabili della disfunzione rettile⁽⁶⁾.

La *Turnera aphrodisiaca* possiede attività antiulcera⁽⁷⁾ attribuita sia all'inibizione della perossidazione lipidica all'attività immunomodulante, che agli effetti antiossidanti dell'arbutina, un costituente importante della pianta⁽⁸⁻¹⁰⁾.

L'acacetina, un flavone presente nella *Turnera aphrodisiaca*, sopprime l'angiogenesi in vitro, ex vivo e in vivo su modello animale ed è stato suggerito quale potenziale agente inibitore della crescita tumorale⁽¹¹⁾.

Tossicità

Uno studio condotto su modello animale ha evidenziato che dosi da 10 a 1000 mg/kg di estratto idroalcolico di *Turnera aphrodisiaca* sono ben tollerate dopo somministrazione orale mentre sono stati osservati decessi per una dose orale di 5 g/kg⁽⁷⁾. Sempre lo stesso studio riporta che la somministrazione intraperitoneale di 10 e 100 mg/kg di estratto di *Turnera aphrodisiaca* provoca dolori addominali e che la somministrazione intraperitoneale di 2 g/kg di estratto provoca la morte nel 60% degli animali trattati, indicando che la DL50 dell'estratto idroalcolico somministrato per via intraperitoneale è probabilmente vicina alla dose letale⁽⁷⁾.

Dati relativi alla tossicità acuta dell'arbutina⁽¹²⁾

Nel topo - DTLo dopo somministrazione orale: DTLo: 0,25 g/kg

Dati relativi alla tossicità acuta dell'1,8-cineolo⁽¹²⁾

Nel topo - DTLo dopo somministrazione intraperitoneale: 150 mg/kg

Nel topo - DTLo dopo somministrazione sottocutanea: 400 µl/kg

Dati relativi alla tossicità acuta del β-pinene⁽¹²⁾

Nel ratto - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 3388 mg/kg

Nel coniglio - DL50 per assorbimento cutaneo: >5000 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta del p-cimene⁽¹²⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione orale: 1695 mg/kg

Nel topo - DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 1125 mg/kg

Nel criceto - DLLo dopo somministrazione intraperitoneale: 2,162 mg/kg

Nel cane - DTLo dopo somministrazione intraperitoneale: 2 g/kg

Nell'uomo - DTLo dopo somministrazione orale: 42,86 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta del β-sitosterolo⁽¹³⁾

Nel topo - DTLo dopo assorbimento cutaneo: 220 g/kg

Nel ratto - DTLo dopo somministrazione orale: 25 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta dell'apigenina⁽¹³⁾

Nel topo - DTLo dopo somministrazione orale: 5 mg/kg

Dati relativi alla tossicità acuta dell'acacetina⁽¹³⁾

Nel topo - DL50 dopo somministrazione endovena: 933 mg/kg

Non sono presenti in letteratura dati di tossicità acuta relativi alla gonzalitosina I, alla tetrafillina B e alla damianina.

Effetti avversi

Dosi eccessive di *Turnera aphrodisiaca* (superiori ai 200 grammi) possono provocare insonnia, cefalea ed avere un blando effetto lassativo⁽¹³⁾.

Interazioni farmacologiche

Sono note possibili interazioni farmacologiche della *Turnera aphrodisiaca*⁽¹⁴⁾.

Effetti in gravidanza

Sono noti i possibili effetti della *Turnera aphrodisiaca* in gravidanza⁽¹⁴⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura metodi analitici per l'identificazione dei principali componenti presenti negli estratti acquosi di *Turnera diffusa* (arbutina, apigenina, damianina, gonzalitozina, ecc.)^(5,9) e presenti nei prodotti di *Turnera diffusa*^(9,15,16). Queste metodologie utilizzano come tecnica separativa un cromatografo liquido accoppiato ad rivelatore a spettrometria di massa⁽⁵⁾ ed o ad un rivelatore spettrofotometrico a serie di diodi^(9,15,16).

Non sono presenti in letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Turnera aphrodisiaca* in matrici biologiche di assuntori della pianta.

Bibliografia

1. MEEROW AW, AYALA-SILVA T, IRISH BM. *Turnera diffusa* 'Luisa', a drought-tolerant small shrub for warm climates. *Hortscience*. 2010; 45: 1895-1896.
2. KUMAR A, RITESH A. Medicinal plants effective in treatment of sexual dysfunction: A Review. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2013; 1: 1-6.
3. *Turnera aphrodisiaca* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 156-157: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
4. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
5. ESTRADA-REYES R, CARRO-JUÁREZ M, MARTÍNEZ-MOTA L. *Turnera diffusa* Wild (Turneraceae) recovers sexual behavior in sexually exhausted males. *J Ethnopharmacol*. 2009; 123: 423-429
6. ESTRADA-REYES R, CARRO-JUÁREZ M, MARTÍNEZ-MOTA L. Pro-sexual effects of *Turnera diffusa* Wild (Turneraceae) in male rats involves the nitric oxide pathway. *J Ethnopharmacol*. 2013; 146: 164-172.
7. BEZERRA AG, MENDES FR, TABACH R, CARLINI EA. Effects of a hydroalcoholic extract of *Turnera diffusa* Willd. ex Schult., Turneraceae, in tests for adaptogenic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2011; 21: 121-127.
8. TAKEBAYASHI J, ISHII R, CHEN J, MATSUMOTO T, ISHIMI Y, TAI A. Reassessment of antioxidant activity of arbutin: multifaceted evaluation using five antioxidant assay systems. *Free Radic Res*. 2010; 44: 473-478.
9. GARZA-JUÁREZ A, SALAZAR-CAVAZOS MDE L, SALAZAR-ARANDA R, PÉREZ-MESEGUER J, DE TORRES NW. Correlation between chromatographic fingerprint and antioxidant activity of *Turnera diffusa* (Damiana). *Planta Med*. 2011; 77: 958-963.
10. TAHA MM, SALGA MS, ALI HM, ABDULLA MA, ABDELWAHAB SI, HADI AH. Gastroprotective activities of *Turnera diffusa* Willd. ex Schult. revisited: Role of arbutin. *J Ethnopharmacol*. 2012; 141: 273-281.
11. BHAT TA, NAMBIAR D, TAILOR D, PAL A, AGARWAL R, SINGH RP. Acacetin inhibits in vitro and in vivo angiogenesis and down regulates Stat Signaling and VEGF expression. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013; 6: 1128-1139.
12. Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS). <http://www.ccohs.ca/products/rtecs>
13. SPIGNOLI G, MERCATI V, BONCOMPAGNI E. Guida bibliografica ai più noti fitoterapici. ABOCA edizioni, 1999, pp. 87-88.
14. *Turnera aphrodisiaca* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 158: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
15. LUCIO-GUTIÉRREZ JR, GARZA-JUÁREZ A, COELLO J, MASPOCH S, SALAZAR-CAVAZOS ML, SALAZAR-ARANDA R, WAKSMAN DE TORRES N. Multi-wavelength high-performance liquid chromatographic fingerprints and chemometrics to predict the antioxidant activity of *Turnera diffusa* as part of its quality control. *J Chromatogr A*. 2012; 1235: 68-76.
16. PÉREZ-MESEGUER J, GARZA-JUÁREZ A, SALAZAR-ARANDA R, SALAZAR-CAVAZOS ML, DE LA TORRE RODRÍGUEZ, YC, RIVAS-GALINDO V, DE TORRES NW. Development and validation of an HPLC-DAD analytical procedure for quality control of damiana (*Turnera diffusa*), using an antioxidant marker isolated from the plant. *J AOAC Int*. 2010; 93: 1161-1168.

1.32 Voacanga africana



Nome: *Voacanga africana*

Famiglia: *Apocynaceae*

Genere: *Voacanga* (Corynanthe)

Specie: *Voacanga africana* Staff.

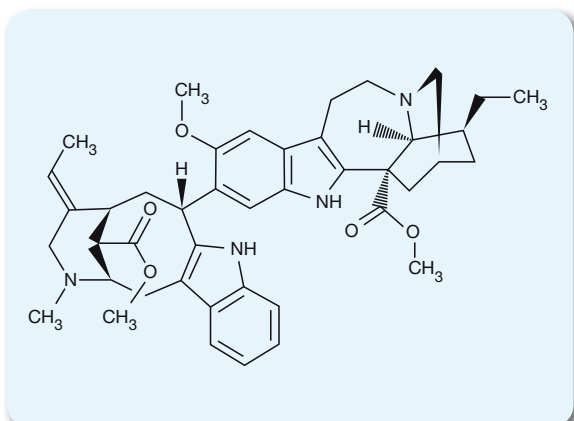
Sinonimi: non conosciuto

Provenienza: Africa Occidentale, Congo, Tanzania

Principi attivi: voacamina, voacangina, voacristina, voacorina, vobtusina, tabersonina, ibogaina, vobasina

La *Voacanga africana* è un piccolo albero originario delle regioni occidentali dell'Africa. La corteccia della radice e i semi di questo albero sono utilizzati in Africa per scopi religiosi e nella medicina popolare per il trattamento della malaria, della diarrea, delle psicosi e nelle convulsioni infantili. Contengono una serie di alcaloidi di tipo ibogainico tra i quali i più abbondanti sono l'ibogaina (composto allucinogeno) e la tabersonina^(1,2). Recentemente sono stati isolati altri alcaloidi quali la 3-ossovoafrina B, la voacandimina A, B e C⁽³⁾, la 3,6-ossidovoacangina⁽⁴⁾, la 5-idrossi-3,6-ossidovoacangina⁽⁴⁾ e il voacangalattone⁽⁵⁾. I suoi semi e la corteccia in polvere vengono consumati per le presunte proprietà allucinatorie, afrodisiache e psicoattive^(5,6).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: voacamina.

Formula Molecolare: $C_{43}H_{52}N_4O_5$ (peso molecolare = 704,8).

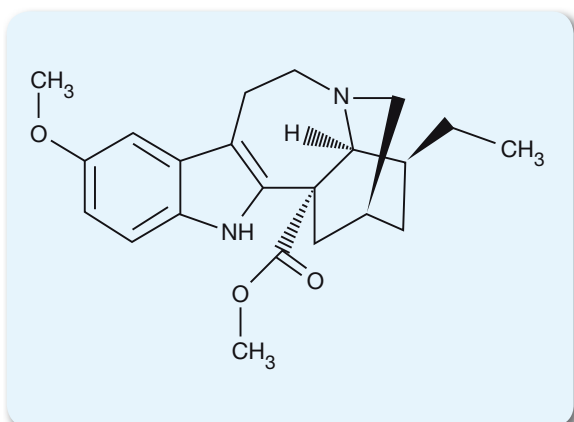
Nome sistematico: 12-metossi-13-((3- α)-17-metossi-17-ossobasano-3-il)-ibogamina-18-carbossimetilestere.

Numero di registro CAS: 3371-85-5.

Punto di fusione: 234°C.

UVmax: 225, 295 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio e acetone, leggermente solubile in alcol metilico ed alcol etilico.



Nome: voacangina.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{28}N_2O_3$ (peso molecolare = 368,4).

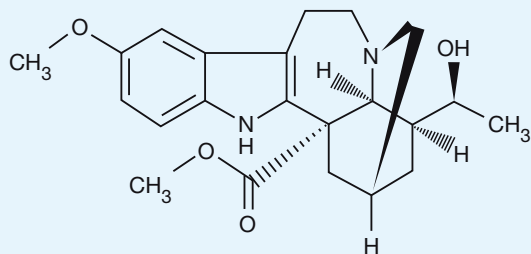
Nome sistematico: 12-metossibogamina-18-carbossimetilestere.

Numero di registro CAS: 510-22-5.

Punto di fusione: sublima senza fondere a 136-137°C.

UVmax: 225, 287, 300 nm.

Solubilità: solubile in acetone e cloroformio; scarsamente solubile in alcol metilico ed alcol etilico.



Nome: voacristina.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{28}N_2O_4$ (peso molecolare = 384,4).

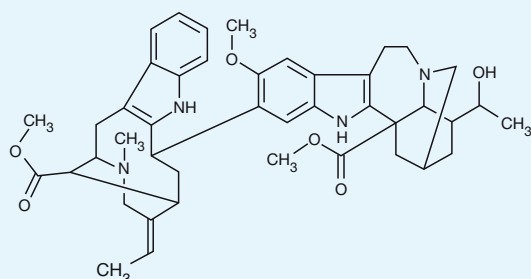
Nome sistematico: 20-idrossi-12-metossibogamina-18-carbossilmetilestere.

Numero di registro CAS: 545-84-6.

Punto di fusione: 106°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: voacorina.

Formula Molecolare: $C_{43}H_{52}N_4O_6$ (peso molecolare = 720,8).

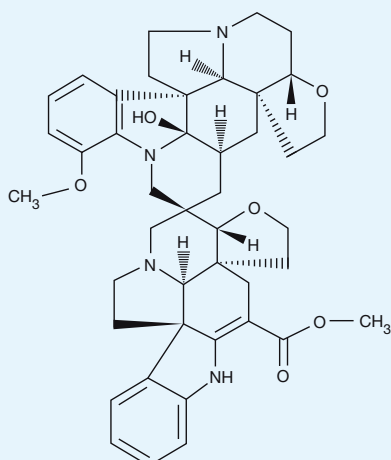
Nome sistematico: (20S) 20-idrossi-12-metossi-13-((3- α)-17-metossi-17-ossovobasan-3-il)-ibogamina-18-carbossilmetilestere.

Numero di registro CAS: 5130-80-3.

Punto di fusione: 238°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: alcol metilico.



Nome: vobtusina.

Formula Molecolare: $C_{43}H_{50}N_4O_6$ (peso molecolare = 718,3).

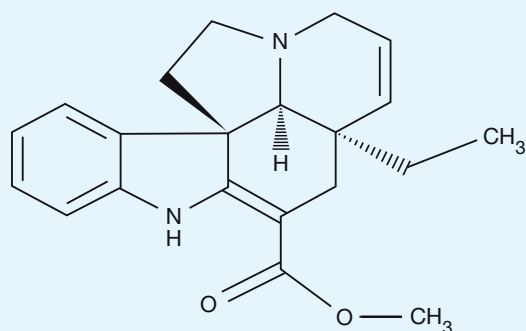
Nome sistematico: 2',2'a,4,4',5,5',6,6'a,8,13,14,14'c,15',16'-tetradecaidro-6'aidrossi-11-metossi-spiro[1H,15aH-furo[2',3':7,8]indolizino[8,1-cd]carbazol-2(2aH),8'(9'H)-[1H,6H,7H,17aH]furo[2',3':7,8]indolizino[8,1-cd]pirido[1,2,3-lm]carbazol]-7-carbossilmetilestere.

Numero di registro CAS: 19772-79-3.

Punto di fusione: 300°C.

UVmax: (etanolo): 225, 265, 328 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio, insolubile in acetone, alcol metilico e la maggior parte dei solventi organici.



Nome: tabersonina.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{24}N_2O_2$ (peso molecolare = 336,4).

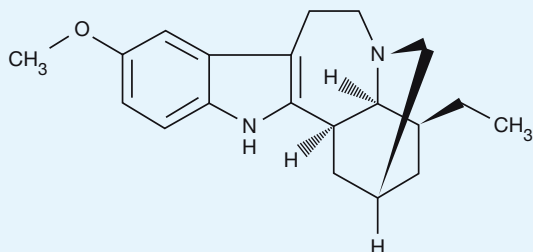
Nome sistematico: (5 α , 12 β , 19 α)-aspidospermidina-3-carbossilmetilestere.

Numero di registro CAS: 4429-63-4.

Punto di fusione: 196°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: ibogaina.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{26}N_2O$ (peso molecolare = 310,4).

Nome sistematico: 12-metossibogamina.

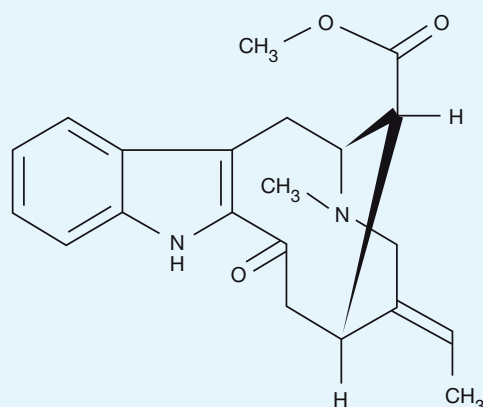
Numero di registro CAS: 83-74-9.

Punto di fusione: 148°C.

UVmax: (alcol metilico): 226, 298 nm.

Solubilità: alcol etilico, etere, cloroformio, acetone e benzene.

Insolubile in acqua.



Nome: vobasina.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{24}N_2O_3$ (peso molecolare = 352,0).

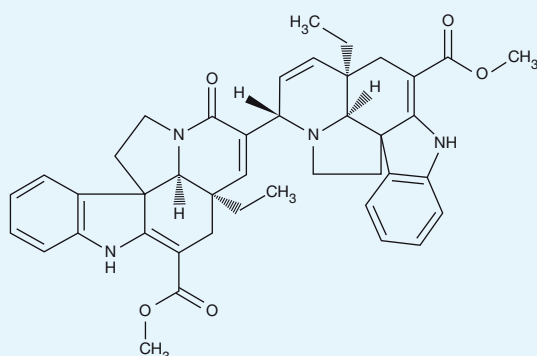
Nome sistematico: vobasan-17-oico acido-3-ossometilestere.

Numero di registro CAS: 2134-83-0.

Punto di fusione: 111-116°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 3-ossovoafrina B.

Formula Molecolare: $C_{42}H_{44}N_4O_5$ (peso molecolare = 684,8).

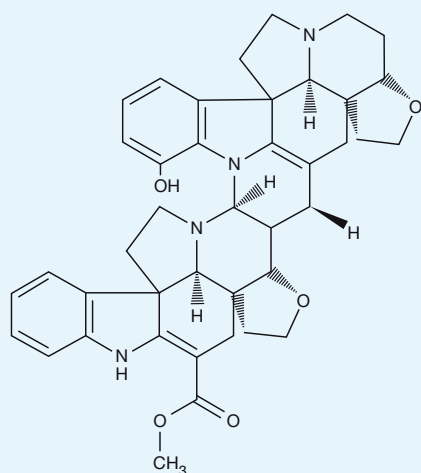
Nome sistematico: ($\alpha,5'\alpha,12\beta,12'\beta,19\alpha,19'\alpha$)-2,2',3,3',6,6',7,7'-Octadeidro-8-osso-7,8'-biaspidospermidina-3,3'-acido carbossilico dimetilestere.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: (etanolo): 227, 298, 329 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: voacandimina A.

Formula Molecolare: $C_{41}H_{44}N_4O_5$ (peso molecolare = 672,8).

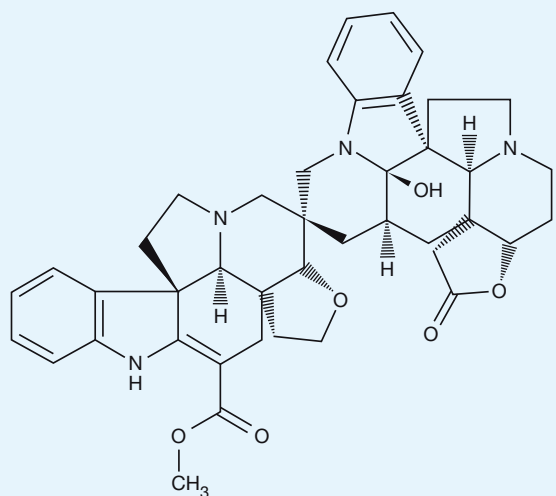
Nome sistematico: ($5\alpha,5'\alpha,12\beta,12'\beta,19\alpha,19'\alpha$)-17-idrossi-2,2',3,3'-tetraideidro-3,7' ametano-6 α ,21:6' α ,21'-dieossi-1,8' β -biaspidospermidina-3'-acido carbossilico metilestere.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: (metanolo): 222, 268, 299, 328 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: voacandimina B.

Formula Molecolare: $C_{42}H_{46}N_4O_6$ (peso molecolare = 702,8).

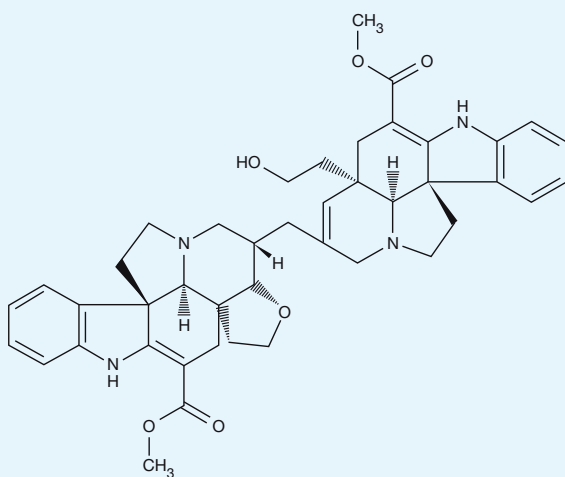
Nome sistematico: (7R)-17'-demetossi-21'-ossovobtusina.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: (metanolo): 227, 257, 298. 324 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: voacandimina C.

Formula Molecolare: $C_{43}H_{48}N_4O_6$ (peso molecolare = 716,8).

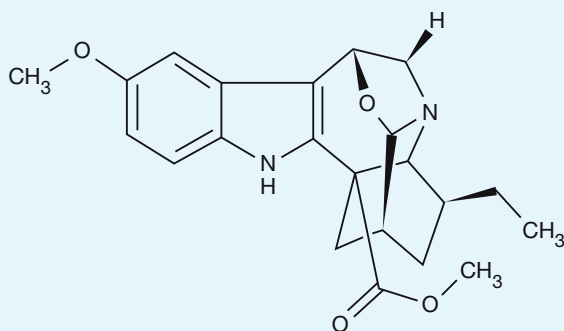
Nome sistematico: (5 α ,12 β ,19 α)-7 α [[[(5 α ,12 β ,19 α)-2,3,6,7-Tetraidro-3-(metossicarbonil)-21-idrossiaspidospermidina-7-il]metil]-6 α ,12 β ,19 α ,21-eossi-2,3-dideidroaspidospermidina-3-acido carbossilico metil estere.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: (metanolo): 202, 222, 298, 327 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 3,6-ossidovoacangina.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{26}N_2O_4$ (peso molecolare = 382,4).

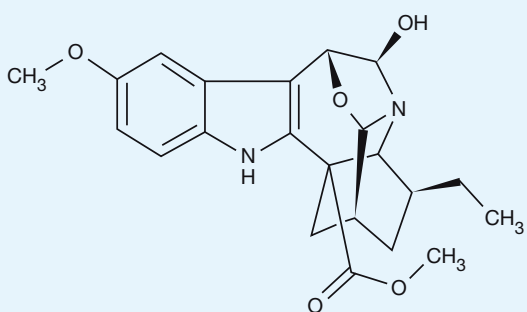
Nome sistematico: (8 α ,19S)-12-metossi-8,19-eossibogamina-18- carbossilato di metile.

Numero di registro CAS: 80981-96-0.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: 5-idrossi-3,6-ossidovoacangina.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{26}N_2O_5$ (peso molecolare = 398,4).

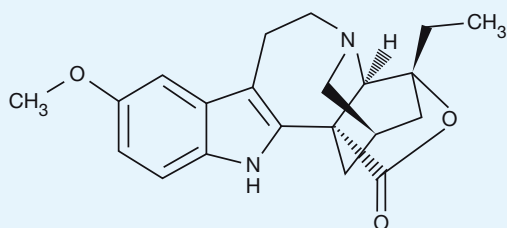
Nome sistematico: 5-idrossi-(8 α ,19S)-12-metossi-8,19-epossiibogamina-18- carbossilato di metile.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: voacangalattone.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{24}N_2O_3$ (peso molecolare = 352,4).

Nome sistematico: (1S,15R,17R,20R)-17-Etil-7-metossi-18-ossa-3,13-diazaesaciclo[11.6.1.1^{11,15}.0^{2,10}.0^{4,9}.0^{17,20}]enicosa-2(10), 4,6,8-tetraen-19-one.

Numero di registro CAS: non sono presenti in letteratura dati relativi al Numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

La *Voacanga africana* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia. Tuttavia, il seme della pianta è inserito nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali non ammessi negli integratori alimentari⁽⁸⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'uso ricreazionale dei semi e della corteccia di *Voacanga africana* è dovuto agli effetti allucinogeni ed "afrodisiaci" riportati aneddoticamente dagli utilizzatori e dovuti principalmente alla presenza in queste parti della pianta dell'alcaloide ibogaina^(2,9).

I meccanismi neurochimici coinvolti non sono al momento noti, ma sembra che l'ibogaina agisca sulla modulazione dei diversi sistemi di neurotrasmissione⁽¹⁰⁾. Diversi studi, infatti, sono stati condotti sull'attività agonista/antagonista degli estratti vegetali dell'ibocaina e degli altri alcaloidi isolati dalla *Voacanga africana* sui recettori della dopamina, della serotonina, sui recettori kappa e mu degli oppiacei e sui recettori dei cannabinoidi, tanto che sembra che l'ibocaina possa avere un effetto benefico per contrastare i sintomi di astinenza e di craving nei tossicodipendenti^(2,10). Si è inoltre evidenziato che l'estratto della corteccia della radice di *Voacanga africana* ha una potente attività antagonista contro il recettore cannabinoide CB1, dovuta soprattutto agli alcaloidi: voacamina, 3,6-ossidovoacangina e 5-idrossi-3,6-ossidovoacangina che mostrano un'attività antagonista sul recettore CB1 molto più potente rispetto al rimonabant (farmaco antiobesità anoreizzante, antagonista del recettore CB1)⁽⁴⁾.

Sono stati inoltre evidenziati potenziali effetti antimicrobici⁽¹⁾, antidiarroici⁽¹¹⁾, antiulcera⁽¹²⁾ degli estratti di *Voacanga africana* utilizzati nel trattamento delle malattie cardiovascolari, delle anemie e di altre malattie del sangue⁽¹³⁾.

È stato dimostrato che la voacangina, composto isolato dalla *Voacanga africana*, possiede attività anti-angiogenica sia in vitro sia in vivo suggerendo un utilizzo nel trattamento di patologie oncologiche e di altre malattie legate all'angiogenesi ⁽¹⁴⁾.

Tossicità

Sono noti i dati di tossicità acuta della voacamina, voacangina, voacorina, tabersonina e ibocaina ⁽¹⁵⁾.

Effetti avversi

Dato il contenuto di composti con attività antagonista per il recettore cannabinoide CB1, i preparati contenenti radice di *Voacanga africana*, potrebbero causare imprevisti problemi psichiatrici nei tossicodipendenti ⁽²⁾. Dosi moderate di ibogaina, da 100 mg a 1 g, possono causare allucinazioni visive ed uditive, percezione alterata del tempo, sinestesia uditiva, olfattiva, gustativa così come diarrea e vomito ⁽⁹⁾.

Interazioni farmacologiche

Quando l'estratto di *Voacanga africana* è combinato con ranitidina, è stato osservato un effetto sinergico anti-secretorio ⁽¹²⁾. Sono note possibili interazioni della *Voacanga africana* con i barbiturici ⁽¹⁵⁾.

Effetti in gravidanza

In Africa, la *Voacanga africana* è utilizzata per stimolare il travaglio ⁽¹⁶⁾.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Voacanga africana* né nelle diverse porzioni della pianta, né nei liquidi biologici di assuntori della pianta stessa. Tuttavia è presente in letteratura una metodologia per la determinazione dell'ibogaina presente nella corteccia della *Tabernanthe iboga* e in matrici biologiche di un consumatore della pianta ⁽⁹⁾. Questo metodo analitico utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia accoppiata ad uno spettrometro di massa tandem utile identificare e quantificare l'alcaloide nel sangue, nelle urine e nel fluido gastrico di un consumatore deceduto dopo il consumo di radice di *Tabernanthe iboga* ⁽⁷⁾.

Esiste inoltre una metodologia per la determinazione dell'ibogaina nelle matrici biologiche di consumatori dell'alcaloide ⁽¹⁷⁾.

Bibliografia

1. DURU CM, ONYEDINEKE NE. In vitro antimicrobial assay and phytochemical analysis of ethanolic extracts of *Voacanga africana* seeds. *J American Sci.* 2010; 6: 119-122.
2. KIKURA-HANAJIRI R, UCHIYAMA N, GODA Y. Survey of current trends in the abuse of psychotropic substances and plants in Japan. *Leg Med (Tokyo)*. 2011; 13: 109-115.
3. KITAJIMA M, IWAI M, KOGURE N, KIKURA-HANAJIRI R, GODA Y, TAKAYAMA H. Aspidosperma-aspidosperma-type bisindole alkaloids from *Voacanga africana*. *Tetrahedron*. 2013; 69: 796-801.
4. KITAJIMA M, IWAI M, KIKURA-HANAJIRI R, GODA Y, IIDA M, YABUSHITA H, TAKAYAMA H. Discovery of indole alkaloids with cannabinoid CB1 receptor antagonistic activity. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011; 21: 1962-1964.
5. HARADA M, ASABA KN, IWAI M, KOGURE N, KITAJIMA M, TAKAYAMA H. Asymmetric Total Synthesis of an Iboga-Type Indole Alkaloid, Voacangalactone, Newly Isolated from *Voacanga africana*. *Org Lett*. 2012; 14: 5800-5803.
6. *Voacanga africana* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 156: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
7. *Voacanga africana* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 163: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
8. Elenco delle sostanze e preparati vegetali che non possono entrare nella composizione degli integratori alimentari: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_3_file.pdf
9. MAZOYER C, CARLIER J, BOUCHER A, PÉOC'H M, LEMEURE C, GAILLARD Y. Fatal case of a 27-year-old male after taking iboga in withdrawal treatment: GC-MS/MS determination of ibogaine and ibogamine in iboga roots and postmortem biological material. *J Forensic Sci.* 2013; 58: 1666-1672.
10. MASH D. Ibogaine therapy for substance abuse disorders: clinical addiction psychiatry. Cambridge: Cambridge University Press, 2010: 50-60.
11. LO MW, MATSUMOTO K, IWAI M, TASHIMA K, KITAJIMA M, HORIE S, TAKAYAMA H. Inhibitory effect of Iboga-type indole alkaloids on capsaicin-induced contraction in isolated mouse rectum. *J Nat Med.* 2011; 65: 157-165.
12. NOVAES RD, VIANA LEITE JP. Ethnopharmacology as current strategy in the search of novel anti-ulcerogenic drugs: case of a brazilian medicinal plant (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek). *Peptic Ulcer Disease*, y Jianyuan Chai (Ed. 2011. pp. 375-400. Reissek), *Peptic Ulcer Disease*, Dr. Jianyuan Chai (Ed.), ISBN: 978-953-307-976-9, InTech: <http://www.intechopen.com/books/peptic-ulcer-disease/ethnopharmacology-as-current-strategy-in-the-search-of-novel-anti-ulcerogenic-drugs-case-of-a-brazil>
13. OMODAMIRO OD, NWANKWO CI. The effect of voacanga africana leaves extract on serum lipid profile and haematological parameters on albino wistar rats *Euro J Exp Bio.* 2013; 3: 140-148.
14. KIM Y, JUNG HJ, KWON HJ. A natural small molecule voacangine inhibits angiogenesis both in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 417: 330-334.
15. *Voacanga africana* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 165: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
16. MALAN DF, NEUBA DF. Traditional practices and medicinal plants use during pregnancy by Anyi-Ndenye women (eastern côte d'ivoire). *Afr J Reprod Health.* 2011; 15: 85-93.
17. *Voacanga africana* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 165-166: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf

1.33 *Withania somnifera* (ashwagandha)



Nome: *Withania somnifera* - ashwagandha

Famiglia: *Solanaceae*

Genere: *Withania*

Specie: *Withania somnifera* (L.) Dunal

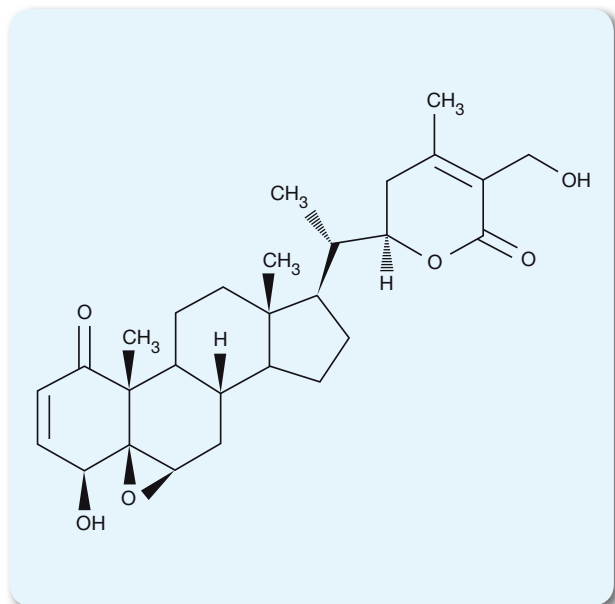
Sinonimi: ashwagandha, winter cherry, ginseng indiano

Provenienza: India, Sud Africa, Asia orientale, bacino del Mediterraneo

Principi attivi: witaferina A, witanolidi A-R, anaferina, isopelletierina

La *Withania somnifera*, anche nota come Ashwagandha o ginseng indiano, è un arbusto legnoso le cui bacche, foglie e radici sono usate come antinfiammatori, adattogeni, astringenti ed antibronchiali nella medicina popolare Indiana ayurvedica. Nella *Withania somnifera* sono stati identificati, estratti e isolati oltre 35 costituenti chimici⁽¹⁾. I principali costituenti chimici, i witanolidi (lattoni steroidali con lo scheletro dell'ergostano), sono contenuti principalmente nelle foglie e la loro concentrazione varia dallo 0,001 allo 0,5% in peso secco⁽²⁾. L'analisi di estratti della pianta in solventi acquosi ed alcolici ha evidenziato la presenza, oltre che dei witanolidi, di fenoli, flavonoidi, tannini, saponine, alcaloidi, terpenoidi, glicosidi e zuccheri riduttori che potrebbero spiegare le svariate proprietà medicinali della pianta⁽³⁾. La pianta ha anche un uso ricreazionale come afrodisiaco ed ansiolitico^(4,5).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: witaferina A.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,5).

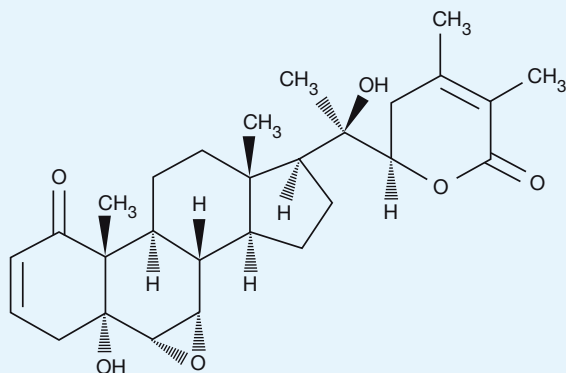
Nome sistematico: δ -lattone dell'acido (4 β ,5 β ,6 β ,22R) -5,6-epossi-4,22,27-triidrossi-1-ossoergosta-2,24-dien-26- oico.

Numero di registro CAS: 5119-48-2.

Punto di fusione: 243°C.

UVmax (etanolo): 214, 335 nm.

Solubilità: solubile in alcol etilico, alcol metilico e in dimetilsolfossido.



Nome: witanolide A.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,6).

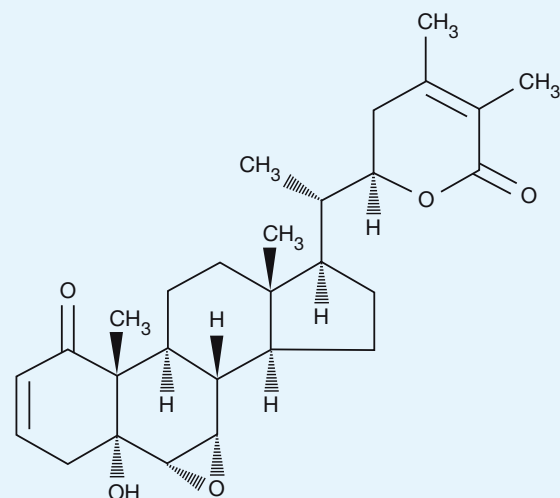
Nome sistematico: delta-lattone dell'acido (5 α ,6 α ,7 α ,22R)-6,7-epossi-5,20,22-triidrossi-1-ossoergosta-2,24-dien-26-oico.

Numero di registro CAS: 32911-62-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witalattone o witanolide B.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_5$ (peso molecolare = 454,6).

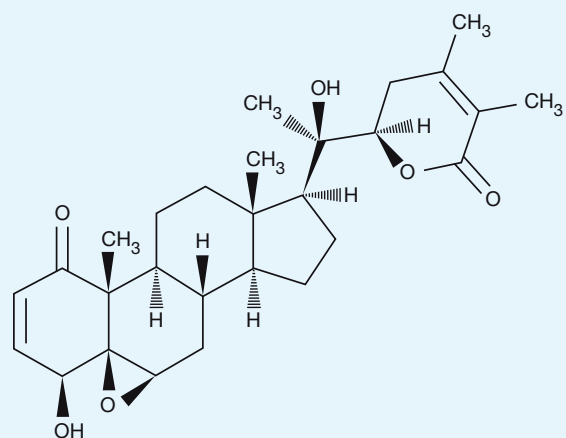
Nome sistematico: (5 α ,6 α ,7 α ,22R)-5-idrossi-6,7:22,26-diepossiergosta-2,24-diene-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 152221-23-3 (witalattone) o 56973-41-2 (witanolide B).

Punto di fusione: 239,8°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide D.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,5).

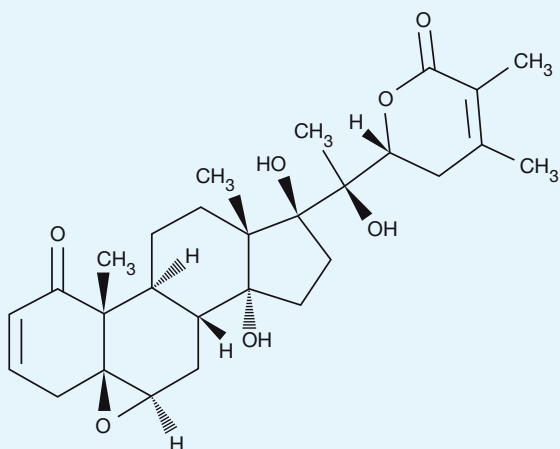
Nome sistematico: δ -lattone dell'acido (4 β ,5 β ,6 β ,22R)-5,6-epossi-4,20,22-triidrossi-1-ossoergosta-2,24-dien-26-oico.

Numero di registro CAS: 30655-48-2.

Punto di fusione: 251-253°C (etilacetato).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide E.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_7$ (peso molecolare = 486,5).

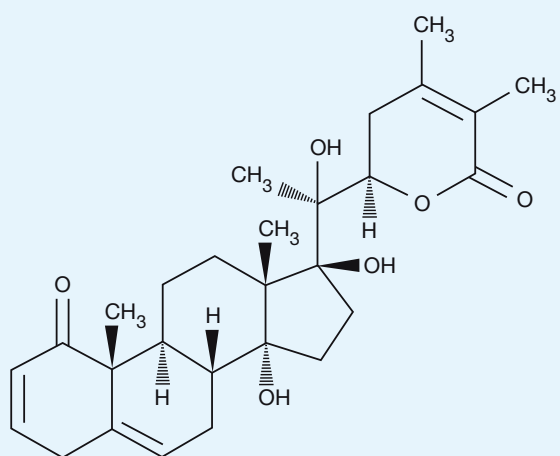
Nome sistematico: (5 β ,6 β ,17 α ,22R)-14,17,20-Triidrossi-5,6:22,26-diepossiergosta-2,24-dien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 38254-15-8.

Punto di fusione: 265,6°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide F.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,6).

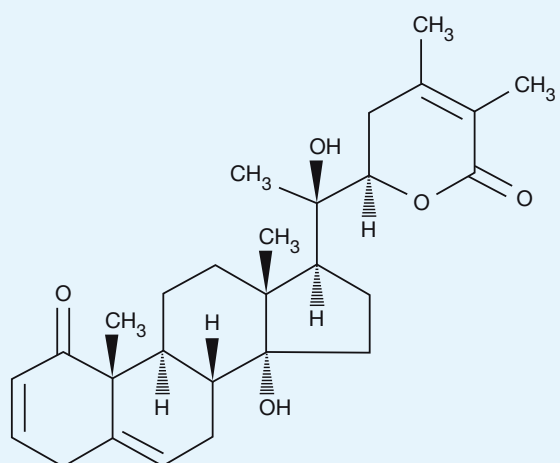
Nome sistematico: (17 α ,22R)-14,17,20-triidrossi-22,26-epossiergosta-2,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: non è presente il numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide G.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_5$ (peso molecolare = 454,3).

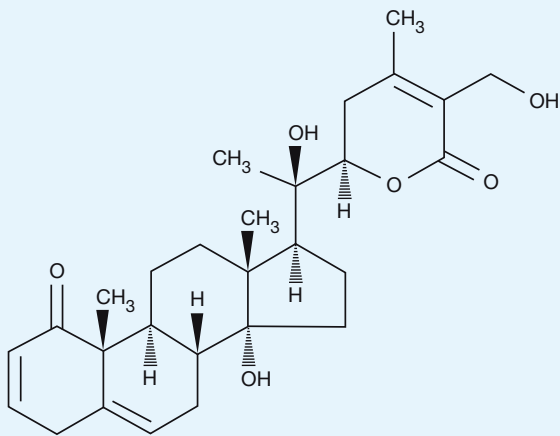
Nome sistematico: (22R)-14,20-diidrossi-22,26-epossiergosta-2,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 50657-10-8.

Punto di fusione: 250,3°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide H.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,3).

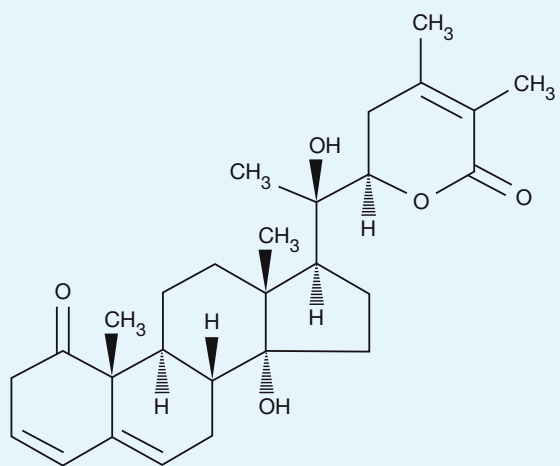
Nome sistematico: (22R)-14,20,27-triidrossi-22,26-epossiergosta-2,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 50601-16-6.

Punto di fusione: 270,6°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide I.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_5$ (peso molecolare = 454,6).

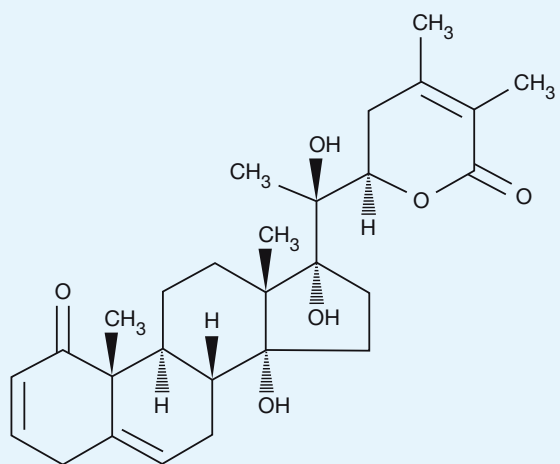
Nome sistematico: (22R)-14,20-diidrossi-22,26-epossiergosta-3,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 50657-11-9.

Punto di fusione: 250,3°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide J.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,6).

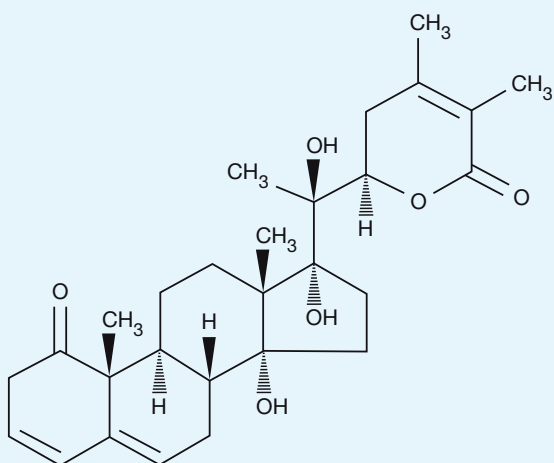
Nome sistematico: (22R)-14,17,20-triidrossi-22,26-epossiergosta-2,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 50657-12-0.

Punto di fusione: 263,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide K.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,6).

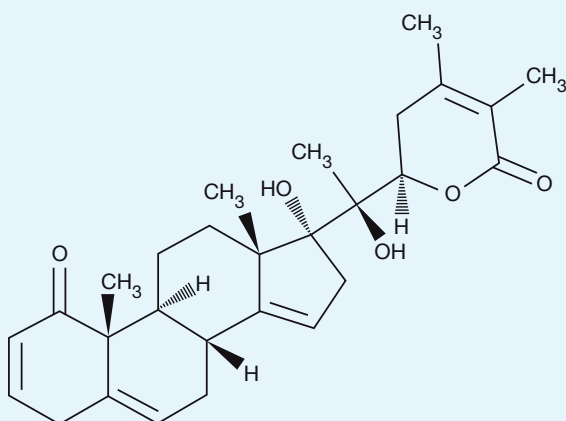
Nome sistematico: (22R)-14,17,20-triidrossi-22,26-eposiergosta-3,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 50657-13-1.

Punto di fusione: 263,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide L.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{36}O_5$ (peso molecolare = 452,6).

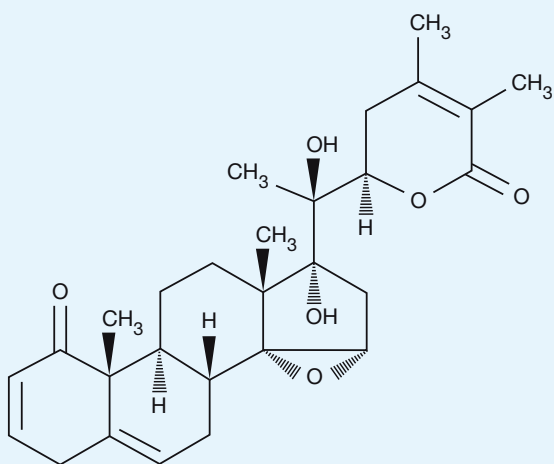
Nome sistematico: (22R)-17,20-diidrossi-22,26-epossiergosta-2,5,14,24-tetraen-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 50932-24-6.

Punto di fusione: 252,1°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide M.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{36}O_6$ (peso molecolare = 468,6).

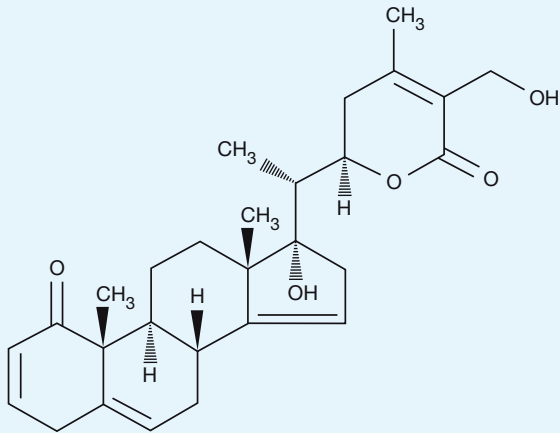
Nome sistematico: δ -lattone dell'acido (22R)-14,15 α -epossi-17,20,22-triidrossi-1-ossoergosta-2,5,24-trien-26-oico.

Numero di registro CAS: 50657-14-2.

Punto di fusione: 254,3°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide N.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{36}O_5$ (peso molecolare = 452,6).

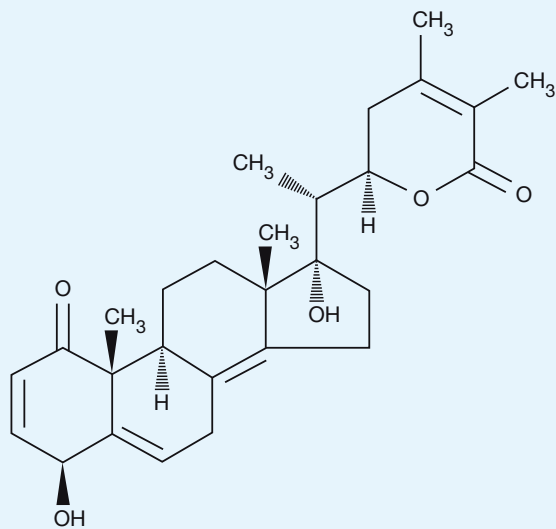
Nome sistematico: δ -lattone dell'acido (22R)-17,22, 27-triidrossi-1-ossoergosta-2,5,14,24-tetren-26-oico.

Numero di registro CAS: 55483-04-0.

Punto di fusione: 258,6°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide O.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{36}O_5$ (peso molecolare = 452,6).

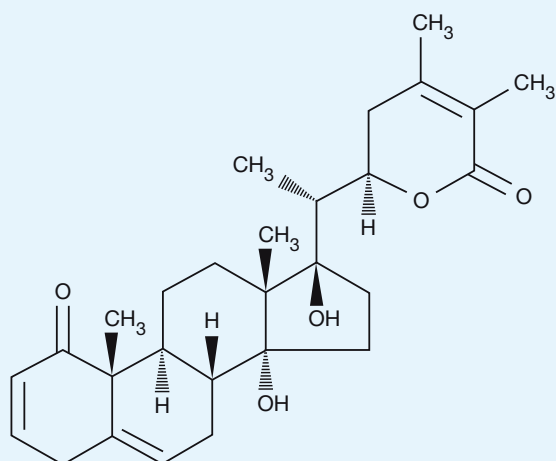
Nome sistematico: δ -lattone dell'acido (22R)-4 β ,17, 22-triidrossi-1-ossoergosta-2,5,8(14),24-tetren-26-oico.

Numero di registro CAS: 55483-05-1.

Punto di fusione: 256,3°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide P.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_5$ (peso molecolare = 454,6).

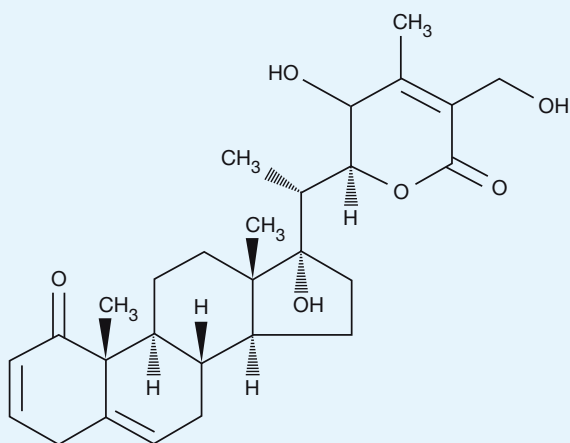
Nome sistematico: (17 α ,22R)-14,17-diidrossi-22,26-eposiergosta-2,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 63115-50-4.

Punto di fusione: 249,6°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide Q.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,6).

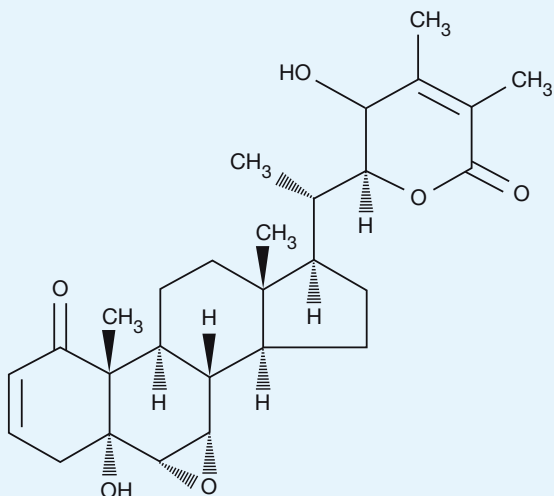
Nome sistematico: (22S)-17,23,27-Triidrossi-22,26-epossiergosta-2,5,24-trien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 58324-08-6.

Punto di fusione: 273,7°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: witanolide R.

Formula Molecolare: $C_{28}H_{38}O_6$ (peso molecolare = 470,6).

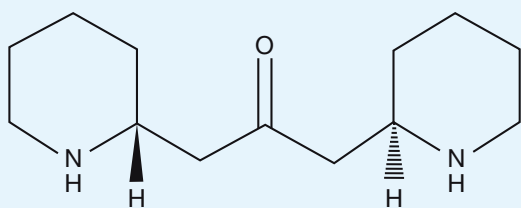
Nome sistematico: (5α,6α,7α,22S)-5,23-diidrossi-6,7:22,26-diepossiergosta-2,24-dien-1,26-dione.

Numero di registro CAS: 58324-09-7.

Punto di fusione: 256,8°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: anaferina.

Formula Molecolare: $C_{13}H_{24}N_2O$ (peso molecolare = 224,3).

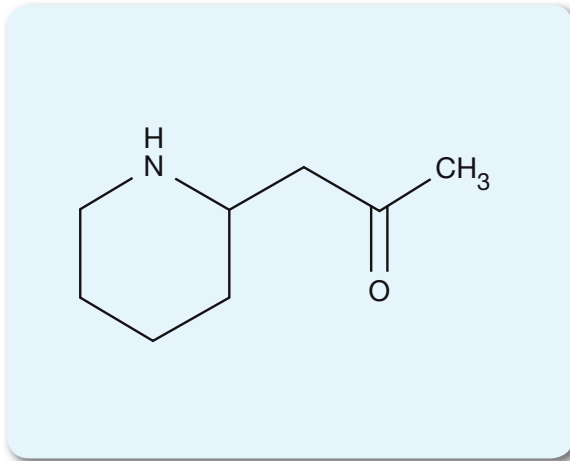
Nome sistematico: 1,3-bis[(2R)-piperidin-2-il]propan-2-one.

Numero di registro CAS: 19519-55-2.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: isopelletierina.

Formula Molecolare: C₈H₁₅NO (peso molecolare = 141,2).

Nome sistematico: (+-)-1-(2-piperidinil)-2-propanone.

Numero di registro CAS: 539-00-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Legislazione

La *Withania somnifera* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Studi sui diversi witanolidi, principi attivi responsabili delle diverse attività farmacologiche della *Withania somnifera* ^(2,6,7), hanno evidenziato un potenziale utilizzo nell'oncologia grazie ai dimostrati effetti citotossici ⁽⁸⁻¹⁰⁾, apoptotici ^(11,12) e anti-metastatici ⁽¹³⁾.

L'estratto di *Withania somnifera* ha inoltre proprietà antinfiammatorie ⁽¹⁴⁾, antiossidanti ⁽¹⁵⁾, anti-microbiche ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ immunomodulanti ⁽¹⁸⁾, adattogene e neuroprotettive ^(19,20). Gli estratti della pianta hanno trovato applicazione nella terapia della disfunzione erettile e per curare l'impotenza e aumentare la fertilità maschile ^(14,21,22).

L'estratto di radice di *Withania somnifera* prolunga l'analgesia morfina-indotta su modello animale e limita la comparsa di tolleranza e iperalgesia agendo, probabilmente, attraverso il coinvolgimento di recettori GABA-A, GABA-B, NMDA e dei recettori degli oppioidi. Questo studio suggerisce il potenziale terapeutico dell'estratto di *Withania somnifera* come agente coadiuvante nelle terapie farmacologiche con oppioidi ⁽²³⁾.

Infine, gli estratti di *Withania somnifera* migliorano la memoria uditivo-verbale, il tempo di reazione e le disfunzioni cognitive nel disturbo bipolare ⁽²⁴⁾.

Tossicità

In uno studio condotto su volontari sani, la somministrazione di dosi crescenti (da 750 a 1250 mg/die) di un estratto acquoso di *Withania somnifera* è risultata ben tollerata ⁽²⁵⁾. La DL50 dell'estratto di *Withania somnifera*, nei topi dopo somministrazione orale, è di 1750 mg/kg ⁽²⁶⁾.

Dati relativi alla tossicità acuta dell'isopelletierina ⁽²⁷⁾

Nel coniglio - DLLo dopo somministrazione intravenosa: 40 mg/kg.

Sono noti i dati di tossicità acuta della Witaferina A ⁽²⁸⁾.

Effetti avversi

La *Withania somnifera* ha un livello di tossicità molto basso e non ci sono dati su eventi avversi di particolare rilevanza. Tuttavia, in letteratura è riportato un caso di un singolo individuo su 18 volontari sani che partecipavano ad uno studio di tollerabilità e sicurezza dell'estratto di *Withania somnifera* in cui la somministrazione di un basso dosaggio (750 mg) di estratto ha provocato un aumento dell'appetito, della libido ed effetti allucinogeni accompagnati da vertigini ⁽²⁵⁾.

Interazioni farmacologiche

Su modello animale è stato dimostrato che non ci sono interazioni farmacologiche quando gli estratti di *Withania somnifera* e i suoi witanolidi sono somministrati con altri farmaci substrato dell'isoforma CYP3A del citocromo P450, come ad esempio il sildenafil⁽²⁹⁾. Inoltre, la combinazione *Withania somnifera* cisplatino non solo non dà nessun effetto negativo ma sembra offrire una strategia proficua per il trattamento di leishmaniosi viscerale⁽³⁰⁾.

A causa del suo effetto sedativo, la *Withania somnifera* presenta interazioni farmacologiche con alcuni farmaci psicoattivi (es. anticonvulsivanti, antipsicotici, ecc.)⁽³¹⁾.

Effetti in gravidanza

Scarse e discordanti sono le informazioni circa gli effetti della *Withania somnifera* in gravidanza o durante all'allattamento, per cui se ne sconsiglia l'uso. In letteratura, infatti, ci sono riferimenti di uso della *Withania somnifera* sia come "abortivo" che come "tonico". Inoltre, nella medicina ayurvedica, la *Withania somnifera* è tradizionalmente utilizzata per promuovere il flusso di latte e per migliorarne la qualità⁽³²⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura due metodi analitici^(33,34) per la determinazione ed identificazione dei principi attivi della *Withania somnifera* in diverse parti della pianta.

Di questi metodi analitici uno utilizza una tecnica separativa in cromatografia su strato sottile per la determinazione della witaferina A, del witanolide A e B nella radice di *Withania somnifera*⁽³³⁾. L'altro utilizza un cromatografo liquido accoppiato ad spettrofotometro ad assorbanza di luce ultravioletta-visibile a serie di diodi e ad un rivelatore evaporativo a luce diffusa per la determinazione simultanea della witaferina A e del witanolide A nelle radici di *Withania somnifera* e nelle preparazioni contenenti la pianta⁽³⁴⁾.

Inoltre esiste una metodologia per l'analisi, mediante un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrometro di massa tandem, della witaferina A e del witanolide A nel plasma di topo⁽³⁵⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della witaferina A e del witanolide A nel plasma⁽³⁵⁾

Estrazione del campione

100 µl di plasma vengono miscelati con 100 µl di standard interno (soluzione 1 mg/ml di tianeptina e clonazepam, standard interni rispettivamente per la witaferina A e per il witanolide A) ed estratti con 2 ml di *tert*-butil-metiletere. Dopo aver miscelato la soluzione mediante vortex per 5 minuti e averla centrifugata, la fase organica viene prelevata, portata a secco sotto flusso d'azoto e ricostituita con 100 µl di fase mobile (alcol metilico-ammonio acetato 2mM, 95:5, v/v). Un volume di 20 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Hypurity C18 column (50 mm × 4.6 mm, 5 µm)

Fase mobile: metanolo-ammonio acetato 2mM, 95:5, v/v

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 0,4 ml/min

Temperatura colonna: 25°C

Energia di collisione: 26V per la witaferina A, 28V per il witanolide A, 18V per la tianeptina (standard interno), 35V per il clonazepam (standard interno)

Voltaggio dello spray: 5000 V

Temperatura della sorgente: 500°C

Rivelatore: spettrofotometro di massa tandem con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

witaferina A: 1,81 min

witanolide A: 1,87 min

tianeptina (standard interno): 1,24 min

clonazepam (standard interno): 1,72 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

witaferina A: m/z 471,3 → 281,2, 471,3 → 175,5

witanolide A: m/z 488,3 → 289,1, 488,3 → 263,1

tianeptina (standard interno): m/z 437,2 → 292,2

clonazepam (standard interno): m/z 315,9 → 270,0

Standard

Gli standard delle sostanze utilizzate nelle analisi sono acquistabili presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione della witaferina A (range di concentrazioni: 0,48-117,88 ng/ml), del Witanolide A (range di concentrazioni: 0,48-116,05 ng/ml) e dei campioni utilizzati per il controllo di qualità della witaferina A (0,51, 1,34, 58,94 e 90,68 ng/ml) e del Witanolide A (0,49, 1,32, 57,70 e 88,77 ng/ml) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di plasma di controllo.

Risultati

L'analisi viene eseguita su campioni di plasma di topo dopo somministrazione intragastrica di 1,0 g/kg dell'estratto di *Withania somnifera* (equivalente a 0,46 mg/kg di Witaferina A e a 0,48 mg/kg di Witanolide A) per studiare le proprietà farmacocinetiche della witaferina A e del Witanolide A.

Gli autori riportano che gli alcaloidi analizzati sono rapidamente assorbiti dopo la somministrazione, con un valore di tempo di picco (T_{max}) che varia da 10 a 30 minuti e che la concentrazione massima (C_{max}) del witanolide A ($26,59 \pm 4,47$ ng/ml) è circa una 1,6 volte superiore rispetto a quella della witaferina A ($16,69 \pm 4,02$ ng/ml).

Bibliografia

1. VYAS VK, BHANDARI P, PATIDAR R. A comprehensive review on *Withania somnifera* Dunal. *J Nat Remedies*. 2011; 11: 1-13.
2. MIRJALILI MH, MOYANO E, BONFILL M, CUSIDO RM, PALAZÓN J. Steroidal lactones from *Withania somnifera*, an ancient plant for novel medicine. *Molecules* 2009; 14: 2373-2393
3. VISWESWARI G, CHRISTOPHER R, RAJENDRA W. Phytochemical screening of active secondary metabolites present in *withania somnifera* root: role in traditional medicine. *IJPSR*. 2013; 4: 2770-2776.
4. *Withania somnifera* in "Smart Drugs" Prima Edizione, 2006, p. 34: http://www.iss.it/binary/drog4/cont/smart_drugs_definitivo.pdf
5. *Withania somnifera* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 169-170: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
6. SINGH G, SHARMA PK, DUDHE R, SINGH S. Biological activities of *Withania somnifera*. *Scholars Research Library* 2010; 1: 56-63.
7. ALAM N, HOSSAIN M, KHALIL MI, MONIRUZZAMAN M, SULAIMAN SA, GAN SH. Recent advances in elucidating the biological properties of *Withania somnifera* and its potential role in health benefit. *Phytochem Rev*. 2012; 11: 97-112.
8. YOUSUF SK, MAJEED R, AHMAD M, SANGWAN P, PURNIMA B, SAXSENA AK, SURI KA, MUKHERJEE D, TANEJA SC. Ring A structural modified derivatives of withaferin A and the evaluation of their cytotoxic potential. *Steroids*. 2011; 76: 1213-1222.
9. SHAHRIAR M, BAHAR ANM, HOSSAIN MI, AKHTER S, HAQUE MA, BHUIYAN MA. Preliminary phytochemical screening, Invitro Antioxidant and cytotoxic activity of five different extracts of *Withania somnifera* root. *Int J Pharm*. 2012; 2: 450-453.
10. CHOUDHARY MI, HUSSAIN S, YOUSUF S, DAR A, MUDASSAR, ATTA-UR-RAHMAN. Chlorinated and diepoxy withanolides from *Withania somnifera* and their cytotoxic effects against human lung cancer cell line. *Phytochem*. 2010; 71: 2205-2209.

11. MAYOLA E, GALLERNE C, ESPOSTI DD, MARTEL C, PERVAIZ S, LARUE L, DEBUIRE B, LEMOINE A, BRENNER C, LEMAIRE C. Withaferin A induces apoptosis in human melanoma cells through generation of reactive oxygen species and downregulation of Bcl-2. *Apoptosis*. 2011; 16: 1014-1027.
12. MONDAL S, MANDAL C, SANGWAN R, CHANDRA S, MANDAL C. Withanolide D induces apoptosis in leukemia by targeting the activation of neutral sphingomyelinase-ceramide cascade mediated by synergistic activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *Molecular Cancer* 2010; 9: 239.
13. THAIPARAMBIL T, BENDER L, GANESH T, KLINE E, PATEL P, LIU Y, TIGHIOUART M, VERTINO PM, HARVEY RD, GARCIA A, MARCUS AI. Withaferin A inhibits breast cancer invasion and metastasis at sub-cytotoxic doses by inducing vimentin disassembly and serine 56 phosphorylation. *Int J Cancer*. 2011; 129: 2744-2755.
14. AKRAM M, MOHIUDDIN E, HANNAN A, USMANGHANI K. *Withania somnifera* (L.) Dunal pharmacology activity. *Pharmacogn J*. 2011; 2: 77-78.
15. SINHA SN. Screening of antioxidant and antibacterial activities of various extracts of *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Int J Clin Pharm Th*. 2012; 2: 36-42.
16. SINGH G, KUMAR P. Evaluation of antimicrobial efficacy of flavonoids of *Withania somnifera* L. *Indian J Pharm. Sci*. 2011; 73: 473-478.
17. KHARELA P, MANANDHARB MD, KALAUNIA SK, AWALEC S, BARALA J. Isolation, identification and antimicrobial Activity of a Withanolide [WS - 1] from the Roots of *Withania somnifera*. *Nepal J Sci Techn*. 2011; 12: 179-186.
18. MURALIKRISHNAN G, DINDA AK, SHAKEEL F. Immunomodulatory effects of *Withania somnifera* on azoxymethane induced experimental colon cancer in mice. *Immunol Invest*. 2010; 39: 688-698.
19. KUMAR S, SEAL CJ, HOWES MJ, KITE GC, OKELLO EJ. In vitro protective effects of *Withania somnifera* (L.) dunal root extract against hydrogen peroxide and β -amyloid(1-42)-induced cytotoxicity in differentiated PC12 cells. *Phytother Res*. 2010; 24: 1567-1574.
20. JAYAPRAKASAM B, PADMANABHAN K, NAIR MG. Withanamides in *Withania somnifera* fruit protect PC-12 cells from beta-amyloid responsible for Alzheimer's disease. *Phytother Res*. 2010; 24: 859-863.
21. GUPTAA, MAHDI AA, SHUKLA KK, AHMAD MK, BANSAL N, SANKHWAR P, SANKHWAR SN. Efficacy of *Withania somnifera* on seminal plasma metabolites of infertile males: a proton NMR study at 800 MHz. *J Ethnopharmacol*. 2013; 149: 208-214.
22. AMBIYE VR, LANGADE D, DONGRE S, APTIKAR P, KULKARNI M, DONGRE A. Clinical Evaluation of the Spermatogenic Activity of the Root Extract of Ashwagandha (*Withania somnifera*) in Oligospermic Males: A Pilot Study. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013; 571420.
23. ORRÙ A, MARCHESE G, CASU G, CASU MA, KASTURE S, COTTIGLIA F, ACQUAS E, MASCIA MP, ANZANI N, RUIU S. *Withania somnifera* root extract prolongs analgesia and suppresses hyperalgesia in mice treated with morphine. *Phytomedicine*. 2014; 21: 745-775.
24. CHENGAPPA KN, BOWIE CR, SCHLICHT PJ, FLEET D, BRAR JS, JINDAL R. Randomized placebo-controlled adjunctive study of an extract of *withania somnifera* for cognitive dysfunction in bipolar disorder. *J Clin Psychiatry*. 2013; 74: 1076-1083.
25. RAUT AA, REGE NN, TADVI FM, SOLANKI PV, KENE KR, SHIROLKAR SG, PANDEY SN, VAIDYA RA, VAIDYA AB. Exploratory study to evaluate tolerability, safety, and activity of Ashwagandha (*Withania somnifera*) in healthy volunteers. *J Ayurveda Integr Med*. 2012; 3: 111-114.
26. SINGH N, BHALLA M, DE JAGER P, GILCA M. An overview on ashwagandha: a rasayana (rejuvenator) of ayurveda. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011; 8: 208-213.
27. Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS). <http://www.ccohs.ca/products/rtecs/>
28. *Withania somnifera* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, p. 171: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
29. SAVAI J, VARGHESE A, PANDITA N. Lack of the cytochrome P450 3A interaction of methanolic extract of *Withania somnifera*, Withaferin A, Withanolide A and Withanoside IV. *J Pharm Negative Results* 2013; 4: 26-32.
30. SACHDEVA H, SEHGAL R, KAUR S. Studies on the protective and immunomodulatory efficacy of *Withania somnifera* along with cisplatin against experimental visceral leishmaniasis. *Parasitol Res*. 2013; 112: 2269-2280.
31. *Withania somnifera* in "Smart Drugs" Seconda Edizione, 2010, pp. 171-172: http://www.iss.it/binary/drog/cont/SD_COMPLETO_ridotto.pdf
32. GARDNER Z, MCGUFFIN M. American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook, Second Edition. March 15, 2013, CRC Press, Taylor & Francis Group, London.
33. DEVKAR ST, BADHE YS, JAGTAP SD, HEGDE MV. Quantification of major bioactive withanolides in *Withania somnifera* (Ashwagandha) roots by HPTLC for rapid validation of Ayurvedic products. *Journal of Planar Chromatography*. 2012; 25: 290-294.
34. MANWAR V, MAHADIK KR, PARADKAR AR, TAKLE SP, L. SATHIYANARAYANAN L, PATIL SV. Determination of withanolides from the roots and herbal formulation of *Withania somnifera* by HPLC using DAD and ELSD detector. *Der Pharmacia Sinica*. 2012; 3: 41-46.
35. PATIL D, GAUTAM M, MISHRA S, KARUPOTHULA S, GAIROLA S, JADHAV S, PAWAR S, PATWARDHAN B. Determination of withaferin A and withanolide A in mice plasma using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Application to pharmacokinetics after oral administration of *Withania somnifera* aqueous extract. *J Pharm Biomed Anal*. 2013; 80: 203-212.



2

Cannabinoidi
sintetici

2.1 Introduzione

Generalità

I cannabinoidi sintetici sono molecole analoghe ai cannabinoidi naturali sintetizzate in laboratori chimico-farmaceutici con l'obiettivo di individuare composti che conservino le proprietà del Δ -9 tetraidrocannabinolo (THC), principio psicoattivo della cannabis. Essi rappresentano uno tra gli esempi più significativi del fenomeno legato al consumo delle cosiddette "droghe emergenti". Le prime notizie legate ai cannabinoidi sintetici risalgono al 2004, quando diverse miscele di erbe chiamate "Spice" fecero la loro comparsa in Paesi europei come la Germania, Svizzera e Gran Bretagna. Queste miscele di erbe (*herbal blends o herbal mixture*) vendute su siti telematici specifici furono pubblicizzate come incensi o miscele di erbe non destinati al consumo umano. Il loro reale utilizzo, tuttavia, era già conosciuto da un certo numero di consumatori: esse venivano fumate insieme al tabacco con lo scopo di ottenere un effetto psicotropo simile, ma più intenso, a quello ottenuto dal consumo di cannabis. Le Spice si diffusero rapidamente per il fatto che potevano essere consumate come alternative o sostituti assolutamente "legali" della cannabis.

Dalla fine del 2008, tuttavia, alcuni Stati europei (Germania, Austria, Danimarca ed Olanda) insieme alla Drug Enforcement Administration (DEA) statunitense iniziarono a segnalare la presenza, nei prodotti denominati Spice, di composti sintetici psicoattivi con azione sui recettori cannabinoidi ^(1,2). In effetti, le miscele di erbe pubblicizzate come prodotti "naturali" dotati di attività psicotropa molto potente e simile alla cannabis, avevano ben poco di "naturale" poiché l'attività riscontrata dai consumatori era dovuta all'aggiunta di molecole di sintesi (i cannabinoidi sintetici, appunto) alle miscele vegetali.

A seguito delle segnalazioni e allerte da parte delle varie agenzie internazionali di monitoraggio delle sostanze d'abuso (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction-EMCDDA, Drug Enforcement Administration-DEA, National Institute on Drug Abuse-NIDA etc.), diversi Paesi (europei e non) hanno iniziato a imporre restrizioni di natura legislativa alla produzione e commercializzazione dei cannabinoidi sintetici, proprio a partire da quelli rilevati nelle miscele di erbe a marchio "Spice" (JWH-018, JWH-073).

In Italia i primi cannabinoidi sintetici sono stati individuati a partire dal 2010 e sono stati trattati alla stregua delle altre e più note sostanze d'abuso. Sono stati infatti inseriti nella Tabella I della legge 309/90. Purtroppo, però, il mercato delle "nuove droghe" è sempre un passo avanti al legislatore, e per ogni molecola (o classe di molecole) che viene regolamentata, altrettante "nuove molecole" non ancora proibite per legge vengono prodotte e commercializzate, utilizzando per la loro diffusione canali informatici molto difficili da controllare.

Caratteristiche chimico-fisiche

I cannabinoidi sintetici rappresentano una vasta famiglia di molecole strutturalmente non correlate tra di loro ma funzionalmente simili al Δ -9-tetraidrocannabinolo (THC), il principio attivo della cannabis. I cannabinoidi sintetici si legano nel cervello e in altri organi agli stessi recettori CB1 e CB2 del THC e del ligando endogeno anandamide. Più correttamente designati come "agonisti del recettore dei cannabinoidi", sono stati sviluppati nel corso degli ultimi 40 anni come agenti terapeutici per il trattamento del dolore. Tuttavia, è stato dimostrato come sia difficile separare la proprietà antidolorifica dagli indesiderati effetti psicoattivi.

Anche se vengono spesso definite semplicemente come "cannabinoidi sintetici", la maggior parte di tali molecole non è strutturalmente correlata ai cosiddetti "cannabinoidi classici" (per esempio i composti che contengono l'anello dibenzopirano). Gli "agonisti del recettore dei cannabinoidi" costituiscono un gruppo eterogeneo di sostanze, sebbene abbiano diverse caratteristiche in comune, tra cui la liposolubilità, la non polarità, e siano costituiti da 22-26 atomi di carbonio. Inoltre, quando fumati, volatilizzano facilmente. Caratteristica comune dei vari cannabinoidi sintetici è inoltre la presenza di una catena laterale alchilica che conferisce attività alla molecola: un'attività ottimale richiede la presenza di più di quattro e fino a nove atomi di carbonio saturi ⁽³⁾.

I cannabinoidi sintetici sono stati inizialmente classificati secondo sette grandi gruppi strutturali⁽⁴⁾:

1. Naftoilindoli (es. JWH-018, JWH-073 e JWH-398);
2. Naftilmetilindoli;
3. Naftoilpirroli;
4. Naftilmetilindani;
5. Fenilacetilindoli (benzoilindoli, es. JWH-250);
6. Cicloesilfenoli (es. CP 47, 497 e suoi analoghi);
7. Cannabinoidi classici (es. HU-210).

Gli analoghi del THC, chiamati “cannabinoidi classici”, possiedono un anello dibenzopiranoico. Sviluppati a partire dal 1960, includono l’HU-210 (la sigla HU indica la Hebrew University, dove il composto venne sintetizzato per la prima volta)⁽⁵⁻⁹⁾, il nabilone, il dronabinolo e molti altri. Nel corso dei primi anni ’70 l’industria farmaceutica ha sviluppato una serie di cicloesilfenoli (CP) con attività simil-cannabinoide. Esempi di queste molecole includono il CP 47,497 ed i suoi analoghi⁽¹⁰⁻¹³⁾. La letteratura internazionale è solita indicare questo gruppo di molecole come cannabinoidi “non-classici”. Nel corso degli anni ’90, infine, J.W. Huffman e collaboratori della Clemson University sintetizzarono un’ampia gamma di naftoilindoli, naftilmetilindoli, naftoilpirroli, naftilmetilindani e fenilacetilindoli conosciuti come aminoalchilindoli o composti JWH, iniziali del nome dello studioso⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Un esempio di fenilacetilindolo è il JWH-250, identificato in Germania in prodotti a marchio Spice. Inoltre, sono stati sintetizzati ed entrati in commercio anche aminoalchilindoli, benzoilindoli e ciclopropilindolchetoni.

Il maggior problema in tema di tutela della salute pubblica legata al consumo di cannabinoidi sintetici è determinato dalla scarsa (o nulla) conoscenza scientifica circa le proprietà farmaco tossicologiche. Alcune di queste sostanze, mai testate sull’essere umano, sono state sperimentate solamente in vitro su diversi modelli cellulari o in vivo in animali di laboratorio con lo scopo di studiare la loro modalità di azione (ad esempio, innescando nei topi la cosiddetta ‘tetrade’ di effetti: depressione dell’attività locomotoria, antinocicezione, ipotermia e catalessi)⁽¹⁷⁾. Tuttavia, per molte di queste sostanze sono disponibili solo le affinità per i recettori dei cannabinoidi CB1 e CB2, valutati in studi di legame. Inoltre sulla base di alcuni dati sul metabolismo dei cannabinoidi sintetici, si può ipotizzare che alcuni metaboliti, (in particolare quelli del gruppo degli aminoalchilindoli che possiedono una frazione naftile) possano avere potenziale cancerogeno⁽¹⁸⁾.

Alcuni studi suggeriscono che un certo numero di tali sostanze può avere un potenziale di dipendenza più elevato rispetto alla cannabis a causa di un rapido sviluppo di tolleranza^(19,20).

Negli ultimi tempi il fenomeno dei cannabinoidi sintetici ha visto la comparsa di nuove classi chimiche introdotte nel mercato delle droghe per aggirare le normative attivate in numerosi Paesi, Italia inclusa, che li hanno resi illegali. Recentemente sono comparsi sul mercato cannabinoidi sintetici di derivazione indolica o indazolica: 5F-APINACA (N-(1-adamantil)-1-(5-fluoropentil)-1H-indazolo-3-carbossamide denominato anche 5F-AKB-48), PB-22 (1-pentil-8-quinolinil estere-1H-indolo-3-acido carbossilico) e il 5F-PB-22 (1-(5-fluoropentil)-8-quinolinil estere-1H-indolo-3-acido carbossilico) identificati in miscele di erbe. La molecola 5F-APINACA presenta una modifica strutturale che la differenzia dalla nota serie dei cannabinoidi sintetici “JWH” per la presenza di uno scheletro indazolico invece che indolico, al quale è legato un gruppo adamantile attraverso una funzione carbossammidica⁽²¹⁾ mentre il PB-22 e il 5F-PB-22 presentano un gruppo sostituito di tipo chinolinico legato all’anello indolico attraverso un legame di tipo estere⁽²²⁾.

Inoltre in Italia il Sistema di Allerta Precoce del Dipartimento delle Politiche Antidroga nel mese di aprile 2014 ha riportato numerose intossicazioni causate da una nuova serie di cannabinoidi denominata PINACA (es. AD pinaca, ADB-Pinaca composto analogo del AKB 48 conosciuto anche con il nome di Apinca dove il gruppo adamantile è sostituito da un gruppo 1-amino-3,3-dimetil-1-ossobutan-2-ile)⁽²³⁾.

In questo capitolo descriveremo solo alcuni dei cannabinoidi sintetici comparsi sul mercato telematico, maggiormente presenti sul territorio italiano e segnalati da centri antiveleni e pronto soccorsi di ospedali come prodotti consumati in casi di intossicazioni acute.

Bibliografia

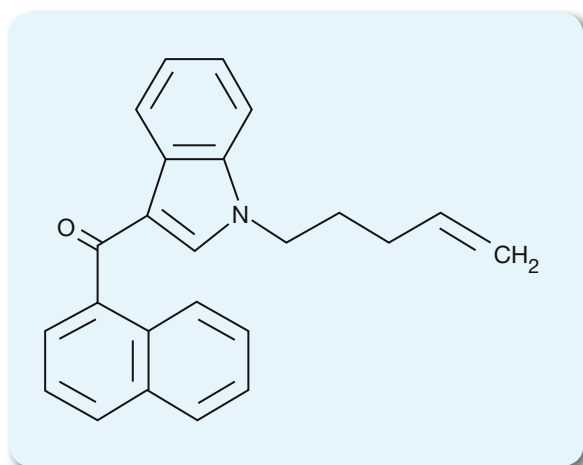
1. DEA (US Drugs Enforcement Administration), Microgram Bulletin 2009; 42 (3).
2. UCHIYAMA N, KIKURA-HANAJIRI R, KAWAHARA N, HAISHIMA Y, GODA Y. Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product. *Chem Pharm Bull. (Tokyo)* 2009; 57: 439-441.
3. AUNG MM, GRIFFIN G, HUFFMAN JW, WU M, KEEL C, YANG B, SHOWALTER VM, ABOOD ME, MARTIN BR. Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB(1) and CB(2) receptor binding. *Drug Alcohol Depend.* 2000; 60: 133-140.
4. EMCDDA. Understanding the 'Spice' phenomenon, Thematic papers, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2009). http://www.drugsandalcohol.ie/12597/1/Understanding_the_Spice_phenomenon.pdf
5. MECHOULAM R, FEIGENBAUM JJ, LANDER N, SEGAL M, JÄRBE TU, HILTUNEN AJ, CONSROE P. Enantiomeric cannabinoids: stereospecificity of psychotropic activity. *Experientia* 1988; 44: 762-764.
6. GLASS M, NOR THUP JK. Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol.* 1999; 56: 1362-1369.
7. OTTANI A, GIULIANI D. HU 210: a potent tool for investigations of the cannabinoid system. *CNS Drug Reviews* 2001; 7: 131-145.
8. JIANG W, ZHANG Y, XIAO L, VAN CLEEMPUT J, JI SP, BAI G, ZHANG X. Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects'. *J Clin Invest.* 2005; 115: 3104-3116.
9. PERTWEE RG. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J.* 2005; 24: 7: E625-654.
10. HUFFMAN JW, THOMPSON AL, WILEY JL, MARTIN BR. Synthesis and pharmacology of 1-Deoxy Analogs of CP-47,497 and CP-55,940', *Bioorg Med Chem.* 2008; 16: 322-335.
11. COMPTON DR, JOHNSON MR, MELVIN LS, MARTIN BR. Pharmacological profile of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992; 260: 201-209.
12. COMPTON DR, RICE KC, DE COSTA BR, RAZDAN RK, MELVIN LS, JOHNSON MR, MARTIN BR. Cannabinoid structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993; 265: 218-226.
13. WEISSMAN A, MILNE GM, MELVIN LS JR. Cannabimimetic activity from CP-47,497, a derivative of 3-phenylcyclohexanol. *J Pharmacol Exp Ther.* 1982; 223: 516-523.
14. HUFFMAN JW, DUNCAN SG. Synthesis and pharmacology of the 1',2'-dimethylheptyl- Δ^8 -THC isomers: exceptionally potent cannabinoids. *Bioorg Med Chem Lett.* 1997; 7: 2799-2804.
15. HUFFMAN JW, SZKLENNIK PV, ALMOND A, BUSHELL K, SELLEY DE, HE H, CASSIDY MP, WILEY JL, MARTIN BR. (2005), '1-Pentyl-3-phenylacetylindoles: a new class of cannabimimetic indoles. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005; 15: 4110-4113.
16. HUFFMAN JW. Cannabimimetic indoles, pyrroles, and indenes: structure-activity relationships and receptor interactions. in Reggio, P. H. (ed.), *The cannabinoid receptors*, Humana Press, Totowa, NJ (2009).
17. FATTORE L, FRATTA W. Beyond THC: The New Generation of Cannabinoid Designer Drugs. *Front Behav Neurosci.* 2011;5:60.
18. LIN CY, WHEELLOCK AM, MORIN D, BALDWIN RM, LEE MG, TAFF A, PLOPPER C, BUCKPITT A, ROHDE A. Toxicity and metabolism of methylnaphthalenes: comparison with naphthalene and 1-nitronaphthalene. *Toxicology.* 2009; 260: 16-27.
19. ATWOOD BK, HUFFMAN J, STRAIKER A, MACKIE K. JWH018, a common constituent of 'Spice' herbal blends, is a potent and efficacious cannabinoid CB receptor agonist. *Br J Pharmacol.* 2010; 160: 585-593.
20. ZIMMERMANN US, WINKELMANN PR, PILHATSCH M, NEES JA, SPANAGEL R, SCHULZ K. Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of "spice gold". *Dtsch Arztebl Int.* 2009; 106: 464-467.
21. HOLM N B, PEDERSEN A J, DALSGAARD P W LINNET K Metabolites of 5F-AKB-48, a synthetic cannabinoid receptor agonist, identified in human urine and liver microsomal preparations using liquid chromatography high-resolution mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2014 May 6. doi: 10.1002/dta.1663. [Epub ahead of print]
22. WOHLFARTH A, GANDHI AS, PANG S, ZHU M, SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Metabolism of synthetic cannabinoids PB-22 and its 5-fluoro analog, 5F-PB-22, by human hepatocyte incubation and high-resolution mass spectrometry *Anal Bioanal Chem.* 2014; 406: 1763-1781.
23. <http://www.allertadroga.it>

2.2 Naftoilindoli

2.2.1 JWH-022

Il JWH-022 (o 1-naftalenil[1-(4-penten-1-il)-1H-indol-3-il]-metanone) è un cannabinoide sintetico derivato dell'indolo appartenente alla famiglia dei naftoilindoli. È strutturalmente simile al JWH-018 e all'AM-2201. La sua presenza in Europa è stata segnalata per la prima volta nel 2011 dalle autorità inglesi al Sistema di Allerta Rapido Europeo per le nuove droghe (Early Warning System NEWS)⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-022.

Formula Molecolare: $C_{24}H_{21}NO$ (peso molecolare = 339,4).

Nome sistematico: 1-naftalenil[1-(4-penten-1-il)-1H-indol-3-il]-metanone.

Numero di registro CAS: 209414-16-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 218, 247, 316 nm.

Solubilità: alcol etilico, alcol metilico, dimetilsolfossido e dime-tilformammide⁽²⁾.

Uso

In Europa il JWH-022 è stato identificato in numerose preparazioni a base di miscele di erbe pubblicizzate come prodotti alternativi alla cannabis. In Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta rapida per le Droghe riferisce che il JWH-022 è stato identificato per la prima volta nel 2011 in un prodotto costituito da una miscela di materiale vegetale essiccato oggetto di sequestro, la cui destinazione d'uso, secondo quanto riportato in etichetta, risultava essere quella di incenso/profumatore ambientale⁽¹⁾.

Legislazione

In Italia il JWH-022 è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 3-(1-naftoil)indolo, con decreto dell'11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 122 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni⁽³⁾. La molecola al momento è posta sotto controllo nei seguenti Paesi: Austria, Irlanda, Lussemburgo, Regno Unito e Nuova Zelanda⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non sono disponibili informazioni sulle proprietà farmacotossicologiche della molecola JWH-022 nel modello animale o nell'uomo, nè dati relativi all'affinità della molecola per i recettori cannabinoidi CB1/CB2. Considerando la notevole similitudine strutturale con il cannabinoide sintetico JWH-018, è tuttavia possibile ipotizzare una potente attività di agonista dei recettori CB1 con eventuale rilascio di glutammato nei neuroni eccitatori dell'ippocampo⁽⁴⁾.

Tossicità

Non sono noti studi, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del JWH-022.

Effetti avversi

Non ci sono dati della letteratura disponibili sugli effetti avversi del JWH-022.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del JWH-022.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del JWH-022 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi del JWH-022 in matrici biologiche. In un recente studio vengono descritte le modalità d'isolamento e la successiva identificazione analitica del cannabinoide sintetico JWH-022 in una miscela di materiale vegetale essiccato⁽⁵⁾. Trattandosi dell'identificazione di un nuovo composto, gli autori hanno eseguito l'analisi utilizzando sia la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa per determinare il nuovo principio attivo in base solo al suo peso molecolare, sia la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa per la successiva identificazione dello stesso attraverso la caratterizzazione analitica dei suoi frammenti nello spettro di massa. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del JWH-022 in una miscela di materiale vegetale essiccato⁽⁵⁾

Estrazione del campione

A 6 g di materiale vegetale vengono aggiunti 100 ml di alcol metilico. La miscela così ottenuta viene sonicata per 30 minuti e una volta prelevata la fase liquida l'intera operazione viene ripetuta una seconda volta. L'alcol metilico raccolto viene filtrato e portato a secco. Al residuo vengono successivamente aggiunti 2 ml di cloroformio, quindi, dopo agitazione meccanica della soluzione, questa viene trasferita su una colonna di estrazione in fase solida (Chromatorex Q-PACK SI50, 60 µm x 100 mm x 27 mm). L'estrazione del campione avviene aggiungendo alla colonna 20 ml di una miscela di esano-acetato di etile (97:3 v/v).

Condizioni strumentali analisi in cromatografia liquida-spettrometria di massa

Colonna cromatografica: ACQUITY UPLC HSS T3 (50 mm x 2,1 mm x 1,8 µm) a 40°C

Fase mobile A: formato d'ammonio 5 mM - acetonitrile (95:5 v/v)

Fase mobile B: acido formico 0,1% in acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile B: 0% tra 0,0-0,5 min.; 90% tra 0,51-6,85 min.; 100% tra 6,85-8,85 min.; 0% tra 8,86-13,00 min.)

Flusso: 0,6 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura della sorgente: 150°C

Voltaggio del capillare: 40 V

Energia di collisione: non riportata

Tempi di ritenzione della sostanza ricercata

JWH-022: 5,80 min

Frammenti caratteristici della sostanza ricercata

JWH-022: $[M+H]^+$ 340,7

Condizioni strumentali dell'analisi in gas cromatografia-spettrometria di massa

Colonna cromatografica: Agilent HP-5MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 μ m)

Temperatura iniettore: 200°C

Gas: elio al flusso di 1 ml/min

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: temperatura iniziale di 50°C, poi da 50 a 315°C a 10°C/min, quindi 315°C per 5 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione della sostanza ricercata

JWH-022: 28,77 min

Frammenti caratteristici della sostanza ricercata

JWH-022: m/z 339, 155, 127, 212

Standard

Non viene riportato il nome della ditta presso la quale reperire lo standard analitico.

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione del JWH-022 (10, 50, 100, 250 e 500 μ g/ml) vengono preparati diluendo una soluzione madre di 1 mg/ml.

Risultati

Viene identificato e quantificato per la prima volta il cannabinoide sintetico JWH-022 alle concentrazioni rispettivamente di 15,0 e 18,4 mg/per confezione di materiale vegetale essiccato.

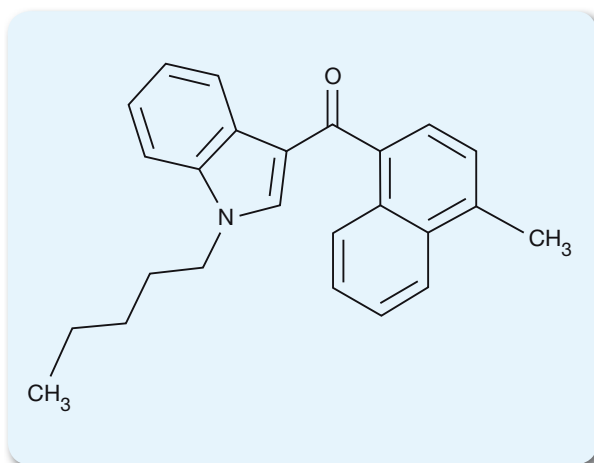
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
2. <https://www.caymanchem.com/msdss/10645m.pdf>
3. GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA Decreto Ministeriale del 11 maggio 2011 - G.U. Serie Generale n. 112 del 16/5/2011.
4. ATWOOD BK, HUFFMAN J, STRAIKER A, MACKIE K. JWH018, a common constituent of 'Spice' herbal blends, is a potent and efficacious cannabinoid CB receptor agonist. Br J Pharmacol. 2010; 160: 585-93.
5. NAKAJIMA J, TAKAHASHI M, SETO T, YOSHIDA M, KANAI C, SUZUKI J, HAMANO T. Identification and quantitation of two new naphthoylindole drugs-of-abuse, (1-(5-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone (AM-2202) and (1-(4-pentenyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone, with other synthetic cannabinoids in unregulated "herbal" products circulated in the Tokyo area. Forensic Toxicol. 2012; 30: 33-44.

2.2.2 JWH-122 e suoi analoghi

Il JWH-122 o 1-pentil-3-(1-(4-metil)naftoil)indolo è un cannabinoide sintetico appartenente al gruppo dei naftoilindoli, analogo del JWH-018, dal quale differisce per la presenza di un sostituito metile in posizione 4 sull'anello naftilico. Questa sostituzione diminuisce sostanzialmente l'affinità per il recettore CB1 rispetto a quella del JWH-018⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-122.

Sinonimo: 1-pentil-3-(1-(4-metil)naftoil)indolo.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{25}NO$ (peso molecolare = 355,4).

Nome sistematico: (4-metilnaftalene-1-il)-(1-pentilindolo-3-il) metanone.

Numero di registro CAS: 619294-47-2.

Punto di fusione: 93-98°C.

UVmax: 315 nm.

Solubilità: alcol etilico, dimetilsolfossido, dimetilformamide⁽¹⁾.

Uso

Il JWH-122 è stato individuato per la prima volta nel maggio 2010 in una polvere proveniente dalla Cina e sequestrata alla dogana di Riga in Lettonia. Al momento della individuazione, il cannabinoide era di libero commercio in molti stati dell'unione Europea e quindi vendibile su siti telematici, fino al 2011, quando è stato incluso nelle tabelle delle sostanze psicotrope illegali nella maggioranza degli stati europei ed extra europei. Viene utilizzato come prodotto alternativo alla cannabis, acquistabile nell'anonimato su siti telematici, con una affinità per il recettore CB1 ($K_i=0.69 \pm 0.05$ nM) inferiore a quella di molti analoghi⁽²⁾.

Legislazione

In Italia il JWH-122 è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 3-(1-naftoil)indolo, con decreto del 11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 122 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni⁽³⁾. La molecola al momento risulta sotto controllo in Austria, Bulgaria, Croazia, Repubblica Ceca, Finlandia, Danimarca, Ungheria, Irlanda, Lituania, Lussemburgo, Polonia, Slovacchia, Svezia, Turchia, Regno Unito, Federazione Russa, Germania, Portogallo Norvegia, Giappone e Stati Uniti⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il JWH-122 è un agonista selettivo del recettore CB1 in grado di produrre effetti cannabimimetici in chi lo assume⁽¹⁾.

Studi di citotossicità e genotossicità di quattro composti naftoilindolici (JWH-018, JWH-073, JWH-122 e JWH-210) e di un composto benzoilindolico (AM-694) effettuati su linee cellulari umane, hanno messo in evidenza danni a livello delle membrane cellulari del tessuto buccale e della mammella con concentrazioni superiori a 75-100 μ M; non sono stati osservati invece effetti citotossici a livello mitocondriale, della sintesi proteica e dell'attività lisosomiale⁽⁴⁾.

Tossicità

Dati relativi alla tossicità acuta del JWH-122 su modello animale ⁽⁵⁾.

| Specie | Modalità di somministrazione | DL50 |
|----------|------------------------------|------------|
| Ratto | Intravenosa | 2460 mg/kg |
| Coniglio | Cutanea | 2000 mg/kg |

DL50 = dose letale per il 50% degli animali testati.

Effetti avversi

L'utilizzo di elevati dosaggi di cannabinoidi sintetici tra cui il JWH-122 può provocare dolori addominali, nausea e vomito ⁽⁶⁾ ma anche tachicardia, stato di agitazione, allucinazioni ed ipertensione, mioclonia e psicosi acuta ⁽⁷⁾. Questi sintomi, dovuti ad una potente stimolazione dei recettori CB1, non sono osservabili neanche dopo il consumo di dosi elevate di cannabis. Pertanto si può dedurre che gli effetti avversi dopo il consumo di questi cannabinoidi sintetici siano pericolosi e protratti nel tempo ⁽⁷⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del JWH-122.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del JWH-122 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Per quanto riguarda la ricerca di cannabinoidi sintetici su materiale vegetale essiccato, la letteratura riporta un lavoro di spettrometria di massa associata ad un analizzatore a tempo di volo ⁽⁸⁾. Esistono metodologie analitiche per la determinazione dei cannabinoidi sintetici in urina ⁽⁹⁾ siero ⁽¹⁰⁾, saliva ^(11,12), capelli ⁽¹³⁾ utilizzando sempre la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem.

La metodica di seguito riportata analizza non solo il JWH-122, ma anche altri cannabinoidi sintetici trattati in questa pubblicazione. Si riportano quindi le informazioni relative a tali cannabinoidi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione di alcuni cannabinoidi sintetici sulle urine ⁽⁹⁾

Estrazione del campione

Ad 200 µl di urina vengono aggiunti 20 µl di una miscela di standard interni deuterati di cannabinoidi sintetici con concentrazione 10 µg/ml. Successivamente vengono aggiunti 0,3 ml di tampone ammonio acetato 400 mM a pH 4,0 e 40 µl di enzima β-glucuronidasi. Il campione viene incubato a 55°C per 2 ore e successivamente centrifugato per 5 minuti a 15000 rpm dopo l'aggiunta di 0,5 ml di acetonitrile. Il campione viene quindi trasferito su colonnine per estrazione in fase solida (RESprep C18 strata C8 e SLE in funzione dei cannabinoidi da determinare) dove gli analiti vengono eluiti con 6 ml di etile acetato. Successivamente, il campione viene portato a secco sotto flusso di azoto ed il residuo secco viene ricostituito con 150 µl di fase mobile, agitato e centrifugato per 5 minuti a 4000 giri e infine trasferito in un autocampionatore.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Ultra Biphenyl (100 mm x 2,1 mm x 3 µm)

Precolonna: Restek (100 mm x 2,1 mm)

Fase mobile A: acido formico 0,01% in acqua

Fase mobile B: acido formico 0,01% in acetonitrile:alcol metilico (50:50 v/v)

Modalità di separazione: **gradiente positivo** (fase mobile B 40% per 30 sec.; 90% da 0,30 a 14,5 min; 98% da 14,5 a 15,1 min; 98% da 15,6 a 17,6 min; 40% da 17,7 a 19,5 min); **gradiente negativo** (40% a per 30 sec; 90% da 0,30 a 6,5 min; 98% da 6,5 a 7,1min; 98% da 7,2a 9,5 min; 40% da 9,6 a 11,4 min)

Flusso variabile: **gradiente positivo** (da 0,5 ml/min a 1,0 ml/min in 15,2 min; ritorna a 0,5 ml/min a 18 min); **gradiente negativo** (da 0,5 ml/min a 1,0 ml/min in 7,3 min; ritorna a 0,5 ml/min a 9,9 min)

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva e negativa

Temperatura della sorgente: 500°C

Voltaggio del capillare: 5,5 KV in modalità positiva; 4,5 kV in modalità negativa

Energia di collisione: 33,9 V

Tempi di ritenzione della sostanza ricercata

JWH-122: 12,9 min

JWH-210: 13,5 min

JWH-200: 5,4 min

AM-2201: 11,4 min

AM-694: 10,40 min

MAM-2201: 12,0 min

UR-144 N-5 idrossi pentile: 7,8 min

UR-144 N acido pentanoico: 7,8 min

Transizioni caratteristiche della sostanze ricercate

JWH-122: m/z 356,1 → 169,0 (ione quantificatore)

m/z 356,1 → 115,0

JWH-200: m/z 385,0 → 155,1 (ione quantificatore)

m/z 385,0 → 126,8

JWH-210: m/z 370,1 → 183,1 (ione quantificatore)

m/z 370,1 → 214,1

JWH-398: m/z 377,0 → 188,8 (ione quantificatore)

m/z 377,0 → 126,0

AM-2201: m/z 360,1 → 155,1 (ione quantificatore)

m/z 360,1 → 127,2

AM-694: m/z 435,9 → 230,8 (ione quantificatore)

m/z 435,9 → 202,9

MAM-2201: m/z 374 → 169,0 (ione quantificatore)

m/z 374 → 115,0

UR-144 N-5 m/z 328 → 124,9 (ione quantificatore)

5 idrossi pentile m/z 328 → 97,0

UR-144 N-5 m/z 342 → 125,0 (ione quantificatore)

acido pentanoico m/z 342 → 244,1

Standard

Gli standard delle sostanze utilizzati per le analisi sono stati acquistati presso alla ditta Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA).

Curva di calibrazione

Le soluzioni standard di ciascun analita alla concentrazione di 1000 µg/ml vengono preparate in alcol metilico. Le soluzioni di lavoro sono preparate diluendo le soluzioni standard sempre con alcol metilico. Le curve di calibrazione vengono preparate aggiungendo alle urine prive di sostanze stupefacenti concentrazioni note di standard a concentrazione 10 µg/ml al fine di ottenere range di calibrazione da 0,1-50 ng/ml.

Risultati

La metodica è stata utilizzata per la determinazione di 53 cannabinoidi sintetici in campioni di urina di assuntori anonimi. Non vengono forniti risultati quantitativi.

Bibliografia

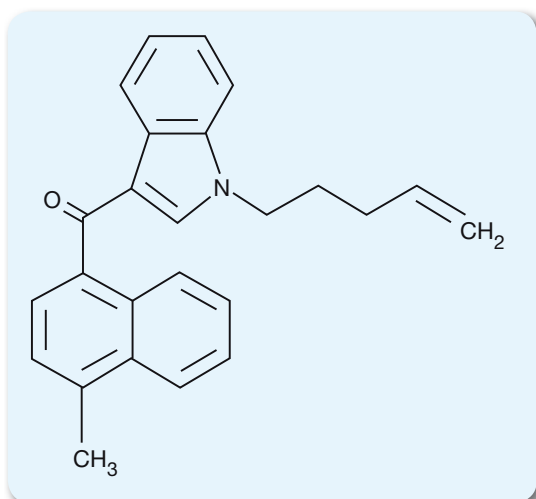
1. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
2. ELSOHLY MA, GUL W, WANAS A, RADWAN MM. Synthetic cannabinoids: analysis nd metabolites Life Science 2014; 97: 78-90.
3. GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA Decreto Ministeriale del 11 maggio 2011 - G.U. Serie Generale n. 112 del 16/5/2011.
4. KOLLER VJ, ZLABINGER GJ, AUWÄRTER V, FUCHS S, KNASMUELLER S Toxicological profiles of selected synthetic cannabinoids showing high binding affinity to the cannabinoid receptor subtype CB1. Arch. Toxicol. 2013; 87: 1287-1297.
5. REGULATION (EC) No 1907/2006 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 18 December 2006 Official Journal of the European Union L 136/29.5.2007.
6. CHRISTOPHER Y. A case of cannabinoid hyperemesis syndrome caused by synthetic cannabinoids. J Emerg Med. 2013; 45: 544-546.
7. HERMANNNS-CLAUSEN M, KNEISEL S, SZABO B, AUWÄRTER V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. Addiction 2013; 108: 534-544.
8. GOT TARDO R, CHIARINI A, DAL PRÀ I, SERI C, RIMONDO C, SERPELLONI G, ARMATO U, TAGLIARO F. Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS. J Mass Spectrom. 2012; 47: 141-146.
9. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. 2014 Jan 31; 1327: 105-117.
10. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. J Mass Spectrom. 2012; 47: 825-835.
11. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, "spice" and stimulants in oral fluid. J Chromatogr A. 2012; 1258: 37-42.
12. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. Drug Test Anal. 2013; 5: 657-669.
13. HUTTER M, KNEISEL S, AUWÄRTER V, NEUKAMM MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2012; 903: 95-101.

Analoghi del JWH-122

JWH-122 pentenil derivato

Il JWH-122 pentenil derivato è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei naftoilindoli ed è un composto analogo del JWH-122 dal quale differisce per la presenza sull'azoto di una catena pentenilica insatura al posto di una catena pentilica satura⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-122 pentenil derivato.

Sinonimo: JWH 122 N-(4-pentenil) analogo.

Formula Molecolare: C₂₅H₂₃NO (peso molecolare = 353,4).

Nome sistematico: (4-metilnaftalene-1-il)(1-(pent-4-en-1-il)-1H-indol-3-il)metanone.

Numero di registro CAS: 1445577-68-3.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 222,3 nm.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità⁽¹⁾.

Legislazione

In Italia il JWH-122 pentenil derivato è stato inserito in quanto analogo di struttura del JWH-122 con decreto ministeriale del 11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non sono disponibili informazioni sulla farmacologia e tossicologia della molecola JWH-122 pentenil derivato.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del JWH-122 pentenil derivato.

Effetti avversi

Non sono riportati dati relativi agli effetti avversi del JWH-122 pentenil derivato.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportati dati relativi alle interazioni farmacologiche del JWH-122 pentenil derivato.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del JWH-122 pentenil derivato in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti in letteratura lavori che riportano la determinazione del cannabinoide JWH-122 pentenil derivato in liquidi biologici di assuntori.

È presente un lavoro che riporta l'identificazione e la quantificazione del JWH-122 pentenil derivato in una miscela erbacea attraverso l'utilizzo simultaneo di cromatografia su strato sottile (TLC) per l'analisi qualitativa e di gas cromatografia associata alla spettrometria di massa con un analizzatore a tempo di volo per l'analisi quantitativa⁽²⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del JWH-122 pentenil derivato in una miscela di erbe⁽²⁾

Estrazione del campione per la caratterizzazione chimica

Per la caratterizzazione chimica delle sostanze aliquote da 1 a 3 g della miscela di erbe vengono estratte con 10-20 ml di diclorometano dopo aver posto la miscela in un bagno ad ultrasuoni per 10 minuti. Successivamente la fase organica viene filtrata e concentrata. Il residuo secco viene risospeso in 1 ml di diclorometano e purificato su colonna cromatografica in gel di silice (30 g SiO₂ 15x2 cm). Le sostanze vengono eluite inizialmente con 150 ml di diclorometano e successivamente con 150 ml di una miscela costituita da diclorometano e alcol metilico 100:1 (v/v). Vengono raccolte delle frazioni da 5-10 ml e esaminate mediante TLC a 254 nm.

Per il composto JWH-122 pentenil derivato è necessario effettuare una seconda estrazione utilizzando una colonna cromatografica in gel di silice (10 g RP-silica gel 5x1 cm) ed una miscela di eluizione di alcol metilico e acqua 1:1 (v/v) per 4 passaggi e alcol metilico al 100% nell'ultimo passaggio. Anche questa frazione viene raccolta e caratterizzata mediante TLC a 254 nm.

Estrazione del campione per l'analisi quantitativa

Per l'analisi quantitativa aliquote da 5-25 mg della miscela di erbe vengono estratte con 50 µl di cloroformio. Alla miscela, posta in un bagno ad ultrasuoni, viene aggiunto 1 ml di diclorometano e raccolta la fase organica. Questo procedimento viene ripetuto per quattro volte. La fase organica raccolta nei passaggi estrattivi viene portata a secco ed il residuo secco viene risospeso in 1 ml di cloroformio per le successive analisi gas cromatografiche.

Condizioni strumentali per la cromatografia ad alta risoluzione

Colonna cromatografica: ZB-5MS Phenomenex (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm)

Temperatura iniettore: non è riportato il valore della temperatura dell'iniettore

Gas: elio al flusso 1.0 ml/min

Modalità di iniezione: non è riportata la modalità di iniezione del campione

Programmata di Temperatura: 100°C per 3 min, 100°C-320°C a 10°C/min, 320°C per 10 min

Temperatura della sorgente: 200°C

Temperatura dell'interfaccia: 310°C

Rilevatore: spettrometro di massa a tempo di volo

Condizioni strumentali gas cromatografiche per l'analisi quantitativa

Colonna cromatografica: DB-1MS (15 m x 0.32 mm x 0.25 µm)

Temperatura iniettore: non è riportato il valore della temperatura dell'iniettore

Gas: elio al flusso 1.0 ml/min

Modalità di iniezione: non è riportata la modalità di iniezione del campione

Programmata di Temperatura: 100°C per 1 minuto, 100°C-330°C a 10°C/min, 320°C per 10 minuti

Temperatura della sorgente: 230°C

Temperatura dell'interfaccia: 290°C

Rilevatore: spettrometro di massa a singolo quadrupolo

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

Non sono riportati i tempi di ritenzione delle sostanze ricercate.

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

AM-1220: m/z 98, 127, 155

AM-1220 azepano: m/z 382, 127, 84

MAM-2201: m/z 373, 356, 298

AM-2201: m/z 359, 342, 127

AM-2232: m/z 352, 335, 225

JWH-122-pentenile: m/z 353, 336, 169

UR-144: m/z 312, 214, 125

XLR-11: m/z 330, 232, 125

STS-135: m/z 382, 232, 144

Standard

Tutti gli standard necessari per le analisi sono stati acquistati presso le ditte Fluka (Buchs, Svizzera) e Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Non viene riportata la preparazione della curva di calibrazione.

Risultati

Le concentrazioni dei cannabinoidi sintetici presenti nelle miscele erbacee esaminate sono le seguenti:

AM-1220: range 62-208 mg/g

AM-1220 azepano: range 12-42 mg/g

MAM-2201: range 6-194 mg/g

AM-2201: range 6-303 mg/g

AM-2232: 61 mg/g

JWH-122-pentenile: 12 mg/g

UR-144: range 3-5 mg/g

XLR-11: 15 mg/g

STS-135: range 47-49 mg/g

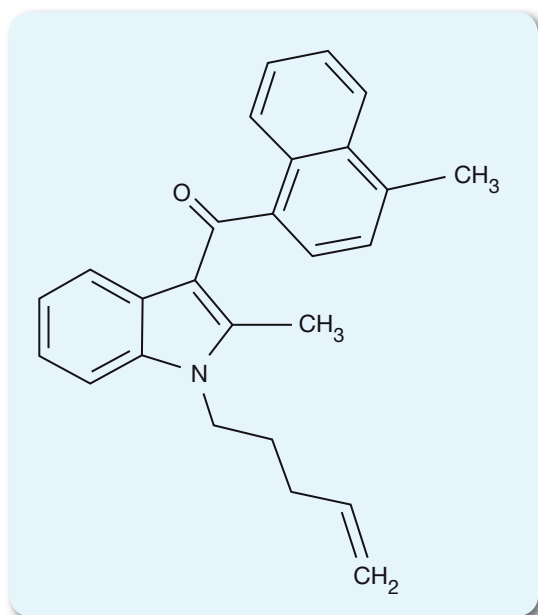
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf
2. LANGER N, LINDIGKEIT R, SCHIEBEL HM, ERNST L, BEUERLE T. Identification and quantification of synthetic cannabinoids in 'spice-like' herbal mixtures: A snapshot of the German situation in the autumn of 2012. Drug Test Anal. 2014; 6: 59-71.

JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato

Il JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei naftoilindoli ed è un composto analogo del JWH-122 dal quale differisce per la presenza di un metile in posizione 2 sull'anello indolico e di una catena pentenilica insatura al posto di una catena pentilica satura ⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato.

Formula Molecolare: C₂₆H₂₅NO (peso molecolare = 367,4).

Nome sistematico: (4-metilnaftalene-1-il)-(2-metil 1-(pent-4-en-1-il)-1H-indol-3-il) metanone.

Numero di registro CAS: non ci sono dati relativi al numero di registro CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi UV max.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità ⁽¹⁾.

Legislazione

In Italia il JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato è stato inserito in quanto analogo di struttura del JWH-122 con decreto ministeriale del 11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Al momento la molecola è posta sotto controllo solo in Lituania ⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non sono disponibili informazioni sulla farmacologia e tossicologia della molecola JWH-122 pentenil 2-metilindolo derivato.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato.

Effetti avversi

Non sono riportati dati relativi agli effetti avversi del JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportati dati relativi alle interazioni farmacologiche del JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non ci sono lavori pubblicati che riportano la determinazione del JWH-122 pentenil-2-metilindolo derivato in liquidi biologici o materiale vegetale.

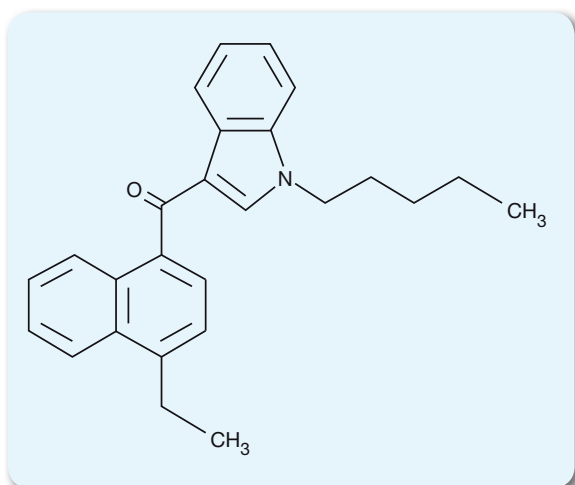
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf

JWH-210

Il JWH-210 o 1-pentil-3-(4-etil-1-naftoil)indolo è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei naftoilindoli ed è un composto analogo del JWH-122 dal quale differisce per la presenza di un gruppo etile al posto del gruppo metile sull'anello naftilico⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-210.

Formula Molecolare: $C_{26}H_{27}NO$ (peso molecolare = 369,4).

Nome sistematico: (4-etil-naftalene-1-il) (1-pentil-H-indol-3-il) metanone.

Numero di registro CAS: 824959-81-1.

Punto di fusione: 90,2°C.

UVmax: 222, 246, 313 nm.

Solubilità: etanolo, dimetilsolfossido, dimetilformammide⁽²⁾.

Legislazione

In Italia il JWH-210 è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 3-(1-naftoil)indolo, con decreto ministeriale del 11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola risulta sotto controllo in Austria, Belgio, Croazia, Danimarca, Finlandia, Germania, Ungheria, Irlanda, Lituania, Lussemburgo, Norvegia, Polonia, Portogallo, Slovacchia, Svezia, Regno Unito, Turchia, Federazione Russa⁽²⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il JWH-210 è un'agonista potente e selettivo sia dei recettori CB1 (costante di affinità $k_i=0,46$ nM) sia dei recettori CB2 (costante di affinità $k_i=0,69$ nM) in grado di produrre effetti cannabimimetici in chi lo assume⁽²⁾.

Studi di citotossicità e genotossicità di quattro composti naftoilindoli (JWH-018, JWH-073, JWH-122 e JWH-210) e di un composto benzoilindolo (AM-694) effettuati su linee cellulari umane, hanno messo in evidenza danni a livello delle membrane cellulari del tessuto buccale (TR146) e della mammella con concentrazioni superiori a 75-100 µM; non sono stati osservati effetti citotossici a livello mitocondriale, della sintesi proteica e dell'attività lisosomiale⁽³⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del JWH-210.

Effetti avversi

In letteratura sono riportati quattro casi di tossicità acuta in seguito all'assunzione di una miscela di erbe contenenti cannabinoidi sintetici tra cui il JWH-210. La sintomatologia presentata dai pazienti a carico del sistema nervoso centrale consisteva in alterazioni visive, allucinazioni, mentre a carico del sistema circolatorio i pazienti presentavano tachicardia ed ipertensione; erano inoltre presenti problemi di natura gastrointestinale⁽⁴⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportati dati relativi alle interazioni farmacologiche del JWH-210.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del JWH-210 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

La letteratura scientifica riporta metodologie analitiche per la determinazione di alcuni cannabinoidi sintetici tra cui il JWH-210 in urina⁽⁵⁾ siero⁽⁶⁾, saliva^(7,8), capelli⁽⁹⁾ utilizzando la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem. Per quanto riguarda la ricerca di JWH-210 su materiale vegetale essiccato la letteratura riporta un lavoro di spettrometria di massa associata ad un analizzatore a tempo di volo (MALDI-TOF MS)⁽¹⁰⁾.

I dettagli analitici della determinazione del cannabinoide JWH-210 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽⁵⁾.

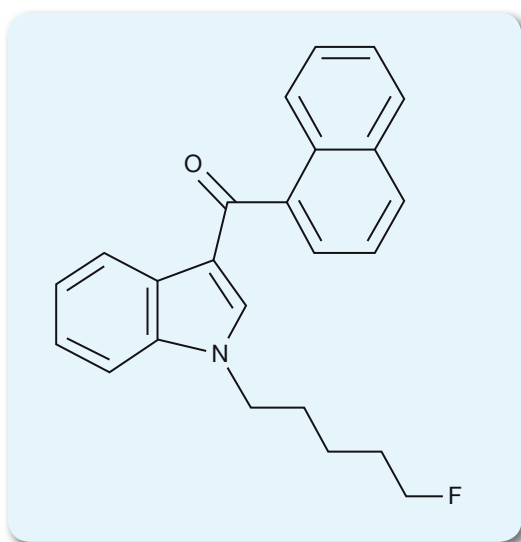
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf
2. <https://www.caymanchem.com/pdfs/10646.pdf>
3. KOLLER VJ, ZLABINGER GJ, AUWÄRTER V, FUCHS S, KNASMUELLER S. Toxicological profiles of selected synthetic cannabinoids showing high binding affinity to the cannabinoid receptor subtype CB1. *Arch Toxicol.* 2013; 87: 1287-1297.
4. HERMANN-CLAUSEN M, KNEISEL S, SZABO B, AUWÄRTER V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. *Addiction* 2013; 108: 534-544.
5. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2014 Jan 31; 1327: 105-117.
6. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 825-835.
7. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, "spice" and stimulants in oral fluid. *J Chromatogr A.* 2012; 1258: 37-42.
8. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 657-669.
9. HUTTER M, KNEISEL S, AUWÄRTER V, NEUKAMM MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012; 903: 95-101.
10. GOTTARDO R, CHIARINI A, DAL PRÀ I, SERI C, RIMONDO C, SERPELLONI G, ARMATO U, TAGLIARO F. Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 141-146.

2.2.3 AM-2201 e suo analogo

L'AM-2201 o 1-(5-fluoropentil)-3-(1-naftoil)indolo) è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei naftoilindoli, analogo del JWH-018 dal quale differisce per la presenza di un atomo di fluoro in posizione 5 della catena alchilica⁽¹⁾. La sua presenza in Europa è stata segnalata per la prima volta nel 2011 dalle autorità lettoni attraverso il Centro Europeo di Monitoraggio per le sostanze d'abuso e la tossicodipendenza (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA)⁽²⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: AM-2201.

Formula Molecolare: C₂₄H₂₂FNO (peso molecolare = 359,4).

Nome sistematico: [1-(5-fluoropentil)-1H-indol-3-il]-1-naftalenilmetanone.

Numero di registro CAS: 335161-24-5.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 314 nm.

Solubilità: in alcol etilico, dimetilsolfossido e dimetilformammide⁽³⁻⁴⁾.

Uso

In Europa l'AM-2201 è stato identificato in numerose preparazioni a base di miscele di erbe pubblicizzate come incensi o profumatori d'ambiente. In Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta rapida per le Droghe⁽⁵⁾ riferisce che l'AM-2201 è stato identificato per la prima volta nel 2011 in un prodotto costituito da una miscela di materiale vegetale essiccato, grossolanamente sminuzzato ed oggetto di sequestro.

Legislazione

In Italia l'AM-2201 è stato inserito in quanto un analogo di struttura derivante dal 3-(1-naftoil)indolo con decreto ministeriale dell'11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola risulta essere posta sotto controllo nei seguenti Paesi: Austria, Repubblica Ceca, Danimarca, Norvegia e Lussemburgo⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'AM-2201 è un cannabinoide sintetico con attività agonista sui recettori CB1 (ki=1,0 nM) e CB2 (ki=2,6 nM)⁽⁶⁾. Non ci sono tuttavia al momento studi di farmacologia, farmacocinetica e farmacodinamica relativi all'AM-2201 nel modello animale o nell'uomo. Uno studio recente ha identificato l'AM-2201 ed i suoi metaboliti idrossilati nelle urine di un paziente ricoverato in pronto soccorso a causa di convulsioni tonico-cloniche generalizzate. Nella sua urina, risultata negativa ai test di screening per le principali sostanze stupefacenti e/o psicotrope, sono stati rilevati tre metaboliti dell'AM-2201 idrossilati sia a livello dell'indolo che a livello dell'anello fenolico⁽⁷⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'AM-2201.

Effetti avversi

Alcuni effetti avversi legati all'uso dell'AM-2201 si possono estrapolare da uno studio che riporta l'identificazione dei metaboliti della sostanza in campioni di urina di un soggetto ricoverato in pronto soccorso a seguito di convulsioni tonico-cloniche⁽⁷⁾. Il soggetto in esame, affetto da diabete di tipo I non controllato e deficit della glucosio 6-fosfato deidrogenasi (G6PD), ha manifestato le convulsioni dopo aver fumato un prodotto ("Black Mamba") costituito da una miscela di materiale vegetale essiccato⁽⁷⁾. Al momento del ricovero, la crisi convulsiva si era risolta senza necessità di supporto farmacologico, mentre a livello clinico il paziente presentava una glicemia molto elevata (400 mg/dl).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche dell'AM-2201.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'AM-2201 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per la determinazione dell'AM-2201 o dei suoi metaboliti in siero⁽⁸⁾, urina^(9,10), saliva⁽¹¹⁾ e capelli⁽¹²⁾ che prevedono l'utilizzo di cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa tandem. Inoltre la letteratura riporta la determinazione dei cannabinoidi sintetici in miscele di erbe utilizzando spettrometria di massa associata ad un analizzatore a tempo di volo (MALDI-TOF MS)⁽¹³⁾.

I dettagli analitici della determinazione del cannabinoide AM-2201 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽¹⁰⁾.

Bibliografia

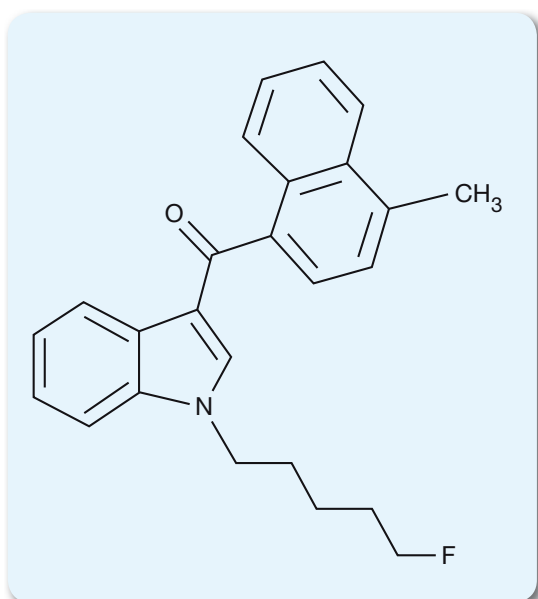
1. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
2. <http://www.emcdda.europa.eu/themes/new-drugs/early-warning>
3. DENOZ R, VANHEUGEN JC, FREDERICH M, DE TULLIO P, CHARLIER C. Identification and structural elucidation of four cannabimimetic compounds (RCS-4, AM2201, JWH-201 and JWH-210) in seized products. *J Anal Toxicol.* 2013; 37: 56-63.
4. <https://www.caymanchem.com/pdfs/10707.pdf>
5. [http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-alfabetico/report-sistema-di-allerta-2012/presentazione-\(1\).aspx](http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-alfabetico/report-sistema-di-allerta-2012/presentazione-(1).aspx)
6. Makriyannis A, Deng H, "Cannabimimetic indole derivatives", granted 2001-06-07: <http://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2001028557&recNum=1&maxRec=&office=&prevFilter=&sortOption=&queryString=&tab=PCTDescription>
7. MCQUADE D, HUDSON S, DARGAN PI. First European case of convulsions related to analytically confirmed use of the synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013; 69: 373-376.
8. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 825-835.
9. SOBOLEVSKY T, PRASOLOV I, RODCHENKOV G. Detection of urinary metabolites of AM-2201 and UR-144, two novel synthetic cannabinoids. *Drug Test Anal.* 2012 Oct 5. doi:0.1002/dta.1418. [Epub ahead of print]
10. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2014 Jan 31; 1327: 105-117.
11. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 657-659.
12. HUTTER M, KNEISEL S, AUWÄRTER V, NEUKAMM MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012; 903: 95-101.
13. LOGAN BK, REINHOLD LE, XU A, DIAMOND FX. Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends in the United States. *J Forensic Sci.* 2012; 57: 1168-1180.

Analogo dell'AM-2201

MAM-2201

Il MAM-2201 è un cannabinoide sintetico che appartiene alla famiglia dei naftoilindoli ed è un derivato metilico dell'AM-2201 in posizione 4 al gruppo naftile.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: MAM-2201.

Sinonimo: 1-(5 Fluoropentil)-3-(4-metil-1-naftoil) indolo.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{24}FNO$ (peso molecolare = 373,4).

Nome sistematico: 1- [5-fluoropentil]-1H-indol-3-il]-(4-metil-naftalen-1-il)-metanone.

Numero di registro CAS: 1354631-24-5.

Punto di fusione: 109,4°C.

UVmax: 221,3 nm⁽³⁾.

Solubilità: in alcol etilico, dimetilsolfossido⁽¹⁾.

Uso

Il MAM-2201 è stato segnalato in Italia nel 2012 in seguito ad una intossicazione da prodotto acquistato in un sito telematico come “cocaina legale”, contenente il cannabinoide sintetico MAM-2201 e benzocaina⁽²⁾. Molti siti di consumatori riportano gli effetti soggettivi correlati all'assunzione di MAM-2201; tali effetti risultano simili a quelli dell'analogo AM-2201, ma sembrano essere più duraturi⁽³⁾.

Legislazione

In Italia l'MAM-2201 è stato inserito, in quanto un analogo di struttura derivante dal 3-(1-naftoil)indolo, con decreto ministeriale dell'11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola è posta sotto controllo anche in Austria, Germania, Ungheria, Irlanda, Lituania, Lussemburgo, Portogallo, Turchia, Giappone⁽⁴⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il cannabinoide MAM-2201 presenta attività agonista sui recettori CB1 e CB2, per i quali presenta elevata affinità⁽²⁾. Non sono disponibili altre informazioni sulla farmacologia e la tossicologia della molecola MAM-2201 né in modello animale, né sull'uomo.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'MAM-2201.

Effetti avversi

Dopo aver fumato MAM-2201 contenuto in 300 mg di una miscela di erbe pubblicizzata come incenso, un consumatore di cannabinoidi sintetici è stato ospedalizzato per stato psicotico, agitazione, aggressività, ansia, emesi, midriasi, tachicardia ed ipertensione e sindrome simpatomimetica⁽⁵⁾. Il vomito profuso e stati allucinatori sono fra i sintomi comuni descritti per il MAM-2201 nei forum di consumatori⁽³⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del MAM-2201.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del MAM-2201 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per la determinazione del MAM-2201 o dei suoi metaboliti nel sangue⁽⁵⁾, nelle urine⁽⁶⁾, e nella saliva⁽⁷⁾ che prevedono l'utilizzo della cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa tandem.

I dettagli analitici della determinazione del cannabinoide MAM-2201 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽⁶⁾.

Bibliografia

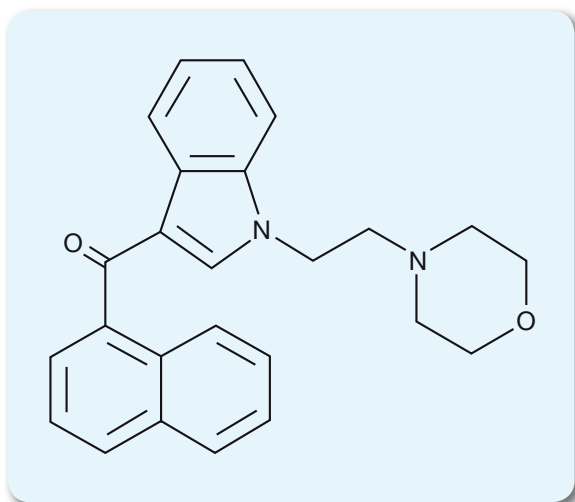
1. <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/9001219>
2. LONATI D, BUSCAGLIA E, PAPA P, VALLI A, COCCINI T, GIAMPRETI A, PETROLINI VA M, VECCHIO S, SERPELLONI G, LOCATELLI CA. MAM-2201 (analytically confirmed) intoxication after "synthacaine" consumption. *Ann Emerg Med.* 2014; 12. pii 90196-0644(14)00019-5.
3. <https://www.erowid.org/experiences/exp.php?ID=89294>
4. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
5. DERUNGS A, SCHWANINGER AE, MANSELLA G, BINGISSER R, KRAMER T, LIECHTI ME. Symptoms, toxicities and analytical results for a patient after smoking herbs containig the novel syntetic cannabinoid MAM-2201. *Forensic Toxicol.* 2013; 31: 164-171.
6. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2014 Jan 31; 1327: 105-117.
7. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry *Drug Test. Analysis* 2012; 5: 657-659.

2.3 Aminoalchilindoli

2.3.1 JWH-200

Il JWH-200 (1-(2-morfolin-4-iletil)indol-3-il)-naftalen-1-ilmetanone) è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia degli aminoalchilindoli che agisce come agonista per il recettore CB1 con elevata affinità e con effetti analoghi o superiori a quelli mostrati dal delta-9-tetraidrocannabinolo⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-200.

Sinonimo: WIN 55,225.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{24}N_2O_2$ (peso molecolare= 384,4).

Nome sistematico: 1-(2-morfolin-4-il)etil)indol - 3-il-naftalen-1-il-metanone.

Numero di registro CAS: 103610-04-4.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 219,3 nm.

Solubilità: dimetilsolfossido, dimetilformammide⁽²⁾.

Uso

In Europa il JWH-200 è stato identificato in numerose preparazioni a base di miscele di erbe pubblicizzate come prodotti alternativi alla cannabis. In Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta rapida per le Droghe riferisce che il JWH-200 è stato identificato per la prima volta nel 2011 in un prodotto costituito da una miscela di materiale vegetale essiccato oggetto di sequestro, la cui destinazione d'uso, secondo quanto riportato in etichetta, risultava essere quella di incenso/profumatore ambientale⁽³⁾.

Legislazione

In Italia il JWH-200 è stato inserito, in quanto analogo di struttura del 3-(1-naftoil)-indolo con decreto ministeriale dell'11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola è posta sotto controllo in Austria, Croazia, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Finlandia, Germania, Ungheria, Irlanda, Lituania, Lussemburgo, Polonia, Portogallo, Slovacchia, Svezia, Turchia, Regno Unito, Bielorussia e USA⁽³⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il JWH-200 presenta un'affinità di legame per il recettore CB1 pari a 42nM, circa la stessa di quella mostrata dal Δ -9-tetraidrocannabinolo⁽⁴⁾ ma con una potenza analgesica circa tre volte superiore⁽⁵⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del JWH-200.

Effetti avversi

L'utilizzo di elevati dosaggi del cannabinoide sintetico JWH-200 può causare alterazioni dell'umore e della percezione, aumento della frequenza cardiaca e in casi più gravi ipertensione, agitazione, tremori, paranoia, e allucinazioni⁽⁶⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del JWH-200.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del JWH-200 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

La letteratura scientifica riporta metodologie analitiche per la determinazione dei cannabinoidi sintetici tra cui il JWH-200 in urina⁽⁷⁾, siero⁽⁸⁾, saliva^(9,10) e capelli⁽¹¹⁾ utilizzando la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem. Per quanto riguarda la ricerca di cannabinoidi sintetici su materiale vegetale essiccato la letteratura riporta un lavoro di spettrometria di massa associata ad un analizzatore a tempo di volo⁽¹²⁾.

I dettagli analitici della determinazione analitica del cannabinoide JWH-200 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽⁷⁾.

Bibliografia

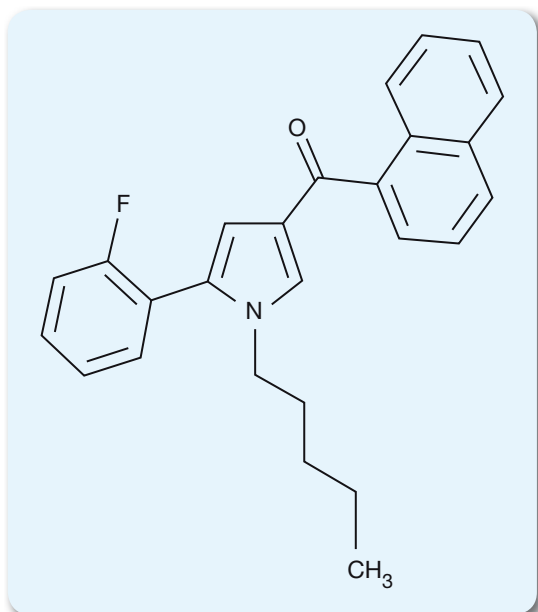
1. HUFFMAN JW, MABON R, WU MJ, LU J, HART R, HURST DP, REGGIO PH, WILEY JL, MARTIN BR. 3-indolyl-1-naphthylmethanes: New cannabimimetic indoles provide evidence for aromatic stacking interactions with the CB1 cannabinoid receptor. *Bioorg Med Chem* 2003; 11: 539-549.
2. www.caymanchem.com/pdfs/13171.pdf
3. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
4. HUFFMAN JW, PADGETT LW. Recent Developments in the Medicinal Chemistry of Cannabimimetic Indoles, Pyrroles and Indenes. *Curr Med Chem*. 2005; 12: 1395-1411.
5. COMPTON DR, GOLD LH, WARD SJ, BALSTER RL, MARTIN BR. "Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol". *J Pharmacol Exp Ther*. 1992; 263: 1118-1126.
6. GUNDERSON EW, HAUGHEY HM, AIT-DAOUD N, JOSHI AS, HART CL. Spice K2 herbal highs: a case series and systematic review of clinical effects and biopsychosocial implications of synthetic cannabinoid use in humans. *Am. J. Addict* 2012; 21: 320-326.
7. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2014 Jan 31; 1327: 105-117.
8. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J Mass Spectrom*. 2012; 47: 825-835.
9. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, "spice" and stimulants in oral fluid. *J Chromatogr A*. 2012; 1258: 37-42.
10. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal*. 2013; 5: 657-669.
11. HUTTER M, KNEISEL S, AUWÄRTER V, NEUKAMM MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2012; 903: 95-101.
12. GOTTARDO R, CHIARINI A, DAL PRÀ I, SERI C, RIMONDO C, SERPELLONI G, ARMATO U, TAGLIARO F. Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS. *J Mass Spectrom*. 2012; 47: 141-146.

2.4 Naftoilpirroli

2.4.1 JWH-307

Il JWH-307 è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei naftoilpirroli che agisce come agonista per il recettore CB1 e CB2 dei cannabinoidi⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: JWH-307.

Sinonimo: AK102850.

Formula Molecolare: C₂₆H₂₄FNO (peso molecolare = 385,4).

Nome sistematico: [5-(2-fluorofenil)-1-pentilpirrol-3-il]-1-naftalenil-metanone.

Numero di registro CAS: 914458-26-7.

Punto di fusione: 81,6°C.

UVmax: 217, 250 nm.

Solubilità: solubile in alcol etilico, dimetilformamide e in dimetil-solfossido. Scarsamente solubile in soluzioni acquose.

Uso

Il JWH-307 è stato identificato per la prima volta in una miscela di materiale vegetale essiccato nel 2012^(2,3). Sebbene il JWH-307 sia commercializzato da aziende a scopo di ricerca^(4,5) con indicazione da parte del fornitore di materiale nocivo in caso di ingestione, inalazione o assorbimento cutaneo, i consumatori di cannabinoidi sintetici affermano sui forum telematici di acquistare tale prodotto per usarlo come analgesico e/o per fumarlo a scopo ricreazionale^(6,7).

Legislazione

In Italia il JWH-307 non è inserito nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

La molecola è posta sotto controllo in Austria, Belgio, Irlanda, Lituania, Lussemburgo, Regno Unito⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il JWH 307 è un cannabinomimetico che attiva i recettori dei cannabinoidi sia a livello centrale (CB1) che a livello periferico (CB2)⁽⁸⁾. La costante di affinità (K_i) ha un valore di 7.7 nM per i recettori CB1 and 3.3 nM per i recettori CB2⁽⁸⁾. La recente letteratura nazionale ed internazionale non riporta, comunque, studi specifici sulle proprietà farmaco-tossicologiche del JWH-307.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'JWH-307.

Effetti avversi

Gli effetti avversi più frequentemente segnalati dopo l'abuso del cannabinoide JWH-307 sono tachicardia, sonnolenza, letargia, agitazione, irritabilità, vomito, allucinazioni/deliri, nausea, confusione, ipertensione, dolori al petto, capogiri e vertigini^(9,10).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del cannabinoide JWH-307.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati in letteratura dati sull'uso del JWH-307 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per la determinazione, mediante una tecnica separativa in cromatografia liquida accoppiata ad uno spettrometro di massa tandem, del JWH-307 in siero⁽³⁾ e nella saliva⁽¹¹⁾ di consumatori di miscele di erbe sostitutive della cannabis.

È inoltre presente in letteratura una metodica per la determinazione, mediante una tecnica separativa in gas cromatografia accoppiata ad uno spettrometro di massa, del JWH-307 in prodotti contenenti miscele di erbe essiccate⁽²⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del JWH-307 nel siero⁽³⁾

Estrazione del campione

Ad 1 ml di siero vengono aggiunti 0,5 ml di tampone fosfato e 1,5 ml di una miscela esano/acetato di etile (99:1 V/V). Dopo aver miscelato per 5 minuti, il campione viene centrifugato a 4000 rpm per 20 minuti. Un ml del supernatante viene evaporato a secchezza sotto leggera corrente di azoto a 40°C. Infine, il campione viene ricostituito in 100 µl di fase mobile (acqua con 0,2% di acido formico e di ammonio formiato 2 mM/alcol metilico, 50:50 v/v).

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Luna fenil-esil (50 mm x 2 mm, 5 µm)

Fase mobile A: acqua con 0,2% di acido formico e di ammonio formiato 2 mM

Fase mobile B: alcol metilico

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile B: 50% al tempo 0,00 minuti; fino al 90% nell'intervallo 0,01-7,00 minuti, mantenuto per 1,5 minuti; fino allo 0% nell'intervallo 8,51-9,00 minuti, mantenuto per 3 minuti)

Flusso: 0,4 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa tandem con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Voltaggio dell'ago: 2,5 kV

Temperatura della sorgente: 600°C

Energia di collisione: 30V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

JWH-307: 7,0 min

JWH-081-d₈ (standard interno): 7,0 min

Transazioni caratteristiche delle sostanze ricercate

JWH-307: m/z 386,2 → 155,1, 386,2 → 127,0

JWH-081-d, (standard interno): m/z 381,2 → 185,2

Standard

Lo standard del JWH-307 è reperibile presso la ditta Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione del JWH-307 (da 0,1 a 2,0 ng/ml) vengono preparati diluendo soluzioni standard a concentrazione nota con alcol etilico.

Risultati

L'analisi è stata eseguita su 833 campioni di siero inviati al laboratorio sia da unità cliniche per analisi di routine in casi psichiatrici (42%), di riabilitazione (45%), di indagine penale (10%) sia da unità di terapia intensiva nei casi di intossicazioni gravi (3%). Di questi casi, 8 sono risultati positivi al JWH-307. La concentrazione più alta riscontrata è di circa 53 ng/ml (concentrazione mediana di 0,49 ng/ml).

Bibliografia

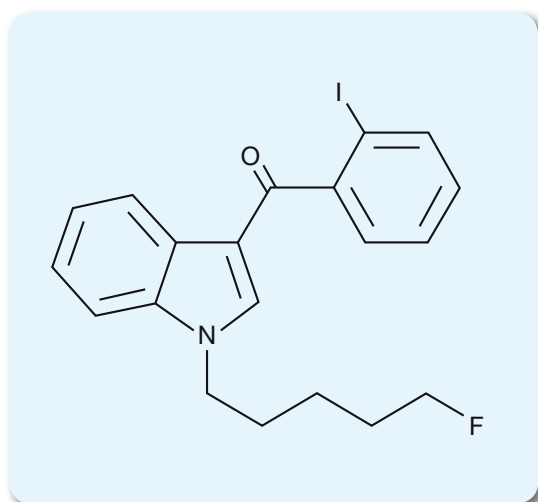
1. www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
2. ERNST L, KRÜGER K, LINDIGKEIT R, SCHIEBEL HM, BEUERLE T. Synthetic cannabinoids in "spice-like" herbal blends: First appearance of JWH-307 and recurrence of JWH-018 on the German market. *Forensic Science International*. 2012; 222: 216-222.
3. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *Journal of Mass Spectrometry* 2012; 47: 825-835.
4. <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/11957>
5. <https://www.deboralabs.com/glossary/jwh-307>
6. http://www.weiku.com/products/13729371/JWH_307.html
7. <http://www.big-daddi.com/jwh-307.html>
8. HUFFMAN JW, PADGETT LW, ISHERWOOD ML, WILEY JL, MARTIN BR. 1-Alkyl-2-aryl-4-(1-naphthoyl)pyrroles: New high affinity ligands for the cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2006; 16: 5432-5435.
9. GURNEY SMR, SCOTT KS, KACINKO SL, PRESLEY BC, LOGAN BK. Pharmacology, toxicology, and adverse effects of synthetic cannabinoid drugs. *Forensic Sci Rev*. 2014; 26: 53.
10. MUSSHOF F, MADEA B, KERNBACH-WIGHTON G, BICKER W, KNEISEL S, HUTTER M, AUWÄRTER V. Driving under the influence of synthetic cannabinoids ("Spice"): a case series. *Int J Legal Med*. 2014; 128: 59-64.
11. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal*. 2013; 5: 657-669.

2.5 Benzoilindoli

2.5.1 AM-694 e suoi analoghi

L'AM-694 o 1-[(5-fluoropentil)-1H-indol-3-il]-(2-iodofenil)metanone è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei benzoilindoli alogenato sulla catena alchilica dell'azoto indolico e sull'anello benzilico⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: AM-694.

Sinonimo: 1-(5-fluoropentil)-3-(2-iodobenzoil)indolo.

Formula Molecolare: C₂₀H₁₉FINO (peso molecolare = 435,3).

Nome sistematico: 1-[(5-fluoropentil)-1H-indol-3-il]-(2-iodofenil)metanone.

Numero di registro CAS: 335161-03-0.

Punto di fusione: 106-108°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: alcol etilico, dimetilformammide, dimetilsolfossido⁽²⁾.

Uso

In Europa l'AM-694 è stato identificato in diverse preparazioni a base di miscele di erbe vendute su siti telematici come "profumatori per ambiente" dove era stato introdotto surrettiziamente. In forum di utilizzatori della sostanza l'effetto riportato è simile a quello della cannabis, ma senza effetti secondari paranoidi⁽³⁾. In Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta rapida per le Droghe riferisce che l'AM-694 è stato identificato per la prima volta nel 2010 su segnalazione del Laboratorio di Tossicologia Forense della Seconda Università di Napoli a seguito del sequestro ed analisi di una polvere di colore bianco⁽⁴⁾ e descritto come molecola molto potente e con elevata selettività verso il recettore CB1 rispetto al recettore CB2⁽⁵⁾.

Legislazione

In Italia l'AM-694 è stato inserito con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

La molecola risulta posta sotto controllo in Belgio, Danimarca, Finlandia, Germania, Irlanda, Lussemburgo, Polonia, Portogallo, Svezia ed Ungheria. Non risulta essere posta sotto controllo in Lituania e nel Regno Unito⁽⁶⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'AM-694 è un agonista potente e selettivo del recettore CB1 e quindi, analogamente ad altri cannabinoidi sintetici della stessa famiglia, è in grado di produrre effetti cannabimimetici in chi lo assume⁽⁶⁾.

Studi di citotossicità e genotossicità di quattro derivati naftoilindolici (JWH-018, JWH-073, JWH-122 e JWH-210) e dell'AM-694 effettuati su linee cellulari umane, hanno messo in evidenza danni a livello delle membrane cellulari del tessuto buccale e della mammella; non sono stati osservati effetti citotossici a livello mitocondriale, della sintesi proteica e dell'attività lisosomiale⁽⁷⁾.

In seguito all'assunzione della molecola AM-694 per via orale o inalata attraverso il fumo è stato possibile identificare sei metaboliti, la cui escrezione a livello urinario è stata osservata fino a circa 5 giorni dopo l'assunzione con un picco massimo di escrezione del metabolita dopo 4 ore da un'assunzione per via orale o dopo 2 ore se inalata con il fumo⁽⁸⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'AM-694.

Effetti avversi

L'utilizzo di elevati dosaggi di cannabinoidi sintetici, fra cui l'AM-694, può provocare dolori addominali, nausea e vomito⁽⁹⁾ ma anche tachicardia, stato di agitazione, allucinazioni ed ipertensione⁽¹⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche dell'AM-694.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'AM-694 o in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

La letteratura scientifica riporta metodologie analitiche per la determinazione di diversi cannabinoidi sintetici fra cui l'AM-694 in urina, siero, saliva, capelli utilizzando cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem⁽¹¹⁻¹⁵⁾. Per quanto riguarda la ricerca di cannabinoidi sintetici su materiale vegetale essiccato la letteratura riporta un lavoro di spettrometria accoppiata ad un analizzatore a tempo di volo⁽¹⁶⁾.

I dettagli analitici della determinazione del cannabinoide AM-694 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽¹¹⁾.

Bibliografia

1. EMCDDA. Understanding the 'Spice' phenomenon, Thematic papers, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2009). http://www.drugsandalcohol.ie/12597/1/Understanding_the_Spice_phenomenon.pdf
2. CAYMAN CHEMICAL PRODUCTS- <https://www.caymanchem.com/pdfs/10900.pdf>
3. <http://www.drugs-forum.com/forum/showthread.php?t=132850>
4. [http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-alfabetico/report-sistema-di-allerta-2012/presentazione-\(1\).aspx](http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-alfabetico/report-sistema-di-allerta-2012/presentazione-(1).aspx)
5. MAKRIYANNIS H, DENG H. Cannabimimetic indole derivatives. WO 01/28557 A1 (2001), 1-25, PCT/UN00/28832.
6. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
7. KOLLER VJ, ZLABINGER GJ, AUWÄRTER V, FUCHS S, KNASMUELLER S. Toxicological profiles of selected synthetic cannabinoids showing high binding affinity to the cannabinoid receptor subtype CB1. Arch Toxicol. 2013; 87: 1287-1297.
8. GRIGORYEV A, SAVCHUK S, MELNIK A, MOSKALEVA N, DZHURKO J, ERSHOV M, NOSYREVA, VEDENIN A, IZOTOV B, ZABIROVA I, ROZHANETS V. Chromatography-mass spectrometry studies on the metabolism of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073, psychoactive components of smoking mixtures. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2011; 879: 1126-1136.
9. HOPKINS CY, GILCHRIST BL. A case of cannabinoid hyperemesis syndrome caused by synthetic cannabinoids. J Emerg Med. 2013; 45: 544-546.
10. HERMANN-CLAUSEN M, KNEISEL S, SZABO B, AUWÄRTER V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. Addiction 2013; 108: 534-544.
11. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. 2014; 1327: 105-117.

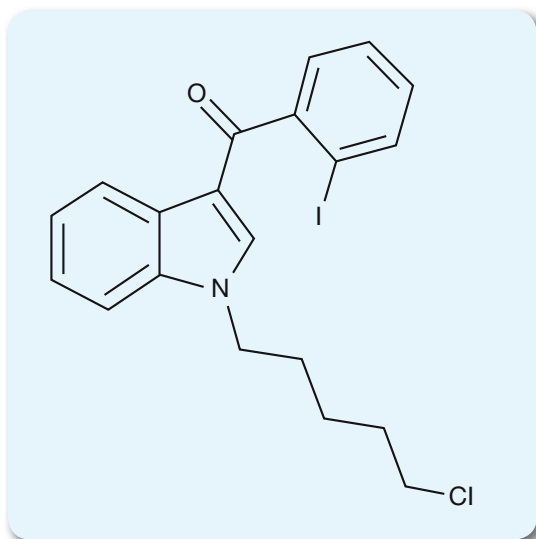
12. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 825-835.
13. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, "spice" and stimulants in oral fluid. *J Chromatogr A.* 2012; 1258: 37-42.
14. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 657-669.
15. HUTTER M, KNEISEL S, AUWÄRTER V, NEUKAMM MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012; 903: 95-101.
16. GOTTARDO R, CHIARINI A, DAL PRÀ I, SERI C, RIMONDO C, SERPELLONI G, ARMATO U, TAGLIARO F. Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 141-146.

Analoghi dell'AM-694

AM-694 cloro derivato

L'AM-694 cloro derivato o 1-(5-cloropentil)-3-(2-iodobenzoil)indolo è un cannabinoide sintetico che appartiene alla famiglia dei benzoilindoli ed è un cloro analogo del cannabinoide sintetico AM-694, poiché presenta un atomo di cloro al posto dell'atomo di fluoro⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: AM-694 cloro derivato.

Sinonimo: 1-(5-cloropentil)-3-(2-iodobenzoil)indolo.

Formula Molecolare: C₂₀H₁₉ClINO (peso molecolare = 451,7).

Nome sistematico: 1-[(5-cloropentil)-1H-indol-3-il]-(2-iodofenil)metanone.

Numero di registro CAS: non sono presenti dati relativi al numero di CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso

Non sono noti dati relativi all'uso del cannabinoide sintetico AM-694 cloro derivato.

Legislazione

In Italia l'AM-694 cloro derivato è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 3 benzoilindolo, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola risulta essere posta sotto controllo in Ungheria, Irlanda, Portogallo, Lituania e Turchia⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non sono disponibili informazioni sulla farmacologia e tossicologia del cannabinoide sintetico AM-694 cloro derivato.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'AM-694 cloro derivato.

Effetti avversi

Non sono noti dati relativi agli effetti avversi del cannabinoide sintetico AM-694 cloro derivato.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportati dati relativi alle interazioni farmacologiche dell'AM-694 cloro derivato.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'AM-694 cloro derivato derivato in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti in letteratura scientifica metodologie per la determinazione di tale principio attivo nei liquidi biologici.

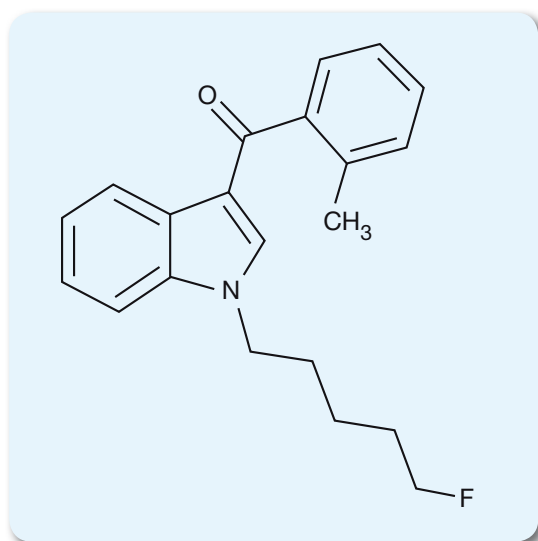
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf

AM-694 metil derivato

L'AM-694 metil derivato o 1-(5-fluoropentil)-3-(2-metilbenzoil)indolo è un cannabinoide sintetico che appartiene alla famiglia dei benzoilindoli ed è un analogo del cannabinoide sintetico AM-694, in cui l'atomo di iodio sul fenile è sostituito da un gruppo metile⁽¹⁾.

Formola chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: AM-694 metil derivato.

Sinonimo: 1-(5-fluoropentil)-3-(2-metilbenzoil)indolo.

Formola Molecolare: C₂₁H₂₂FNO (peso molecolare = 323,4).

Nome sistematico: 1-[(5-fluoropentil)-1H-indol-3-il]-(2-metilfenil)metanone.

Numero di registro CAS: non sono presenti dati relativi al numero di CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso

Non sono noti dati relativi all'uso del cannabinoide sintetico AM-694 metil derivato.

Legislazione

In Italia l'AM-694 metil derivato, in quanto analogo di struttura derivante dal 3 benzoilindolo, è stato inserito con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non sono disponibili informazioni sulla farmacologia e tossicologia del cannabinoide sintetico AM-694 metil derivato.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'AM-694 metil derivato.

Effetti avversi

Non sono noti dati relativi agli effetti avversi del cannabinoide sintetico AM-694 metil derivato.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportati dati relativi alle interazioni farmacologiche dell'AM-694 metil derivato.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'AM-694 metil derivato in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti in letteratura scientifica metodologie per la determinazione dell'AM-694 metil derivato nei liquidi biologici o in miscele erbacee o polveri.

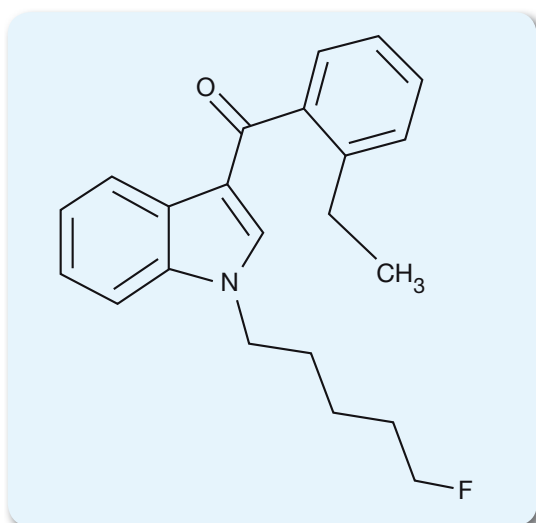
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf

AM-694 etil derivato

L'AM-694 etil derivato o 1-(5-Fluoropentil)-3-(2-etilbenzoi)indolo è un cannabinoide sintetico che appartiene alla famiglia dei benzoiindoli ed è un derivato del cannabinoide sintetico AM-694, in cui l'atomo di iodio sul fenile è sostituito da un gruppo etile⁽¹⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: AM-694 etil derivato.

Sinonimo: 1-(5-fluoropentil)-3-(2-etilbenzoi)indolo.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{24}FNO$ (peso molecolare = 337,4).

Nome sistematico: 1-[(5-fluoropentil)-1H-indol-3-il]-(2-etilfenil)metanone.

Numero di registro CAS: non sono presenti dati relativi al numero di CAS.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso

Non sono noti dati relativi all'uso del cannabinoide AM-694 etil derivato.

Legislazione

In Italia l'AM-694 etil derivato, in quanto analogo di struttura derivante dal 3 benzoilindolo, è stato inserito con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non sono disponibili informazioni sulla farmacologia e tossicologia del cannabinoide sintetico AM-694 etil derivato.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'AM-694 etil derivato.

Effetti avversi

Non sono noti dati relativi agli effetti avversi del cannabinoide sintetico AM-694 etil derivato.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportati dati relativi alle interazioni farmacologiche dell'AM-694 etil derivato.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati in letteratura dati relativi all'uso dell'AM-694 etil derivato in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti in letteratura scientifica metodologie per la determinazione dell'AM-694 etil derivato nei liquidi biologici, né in miscele erbacee o polveri.

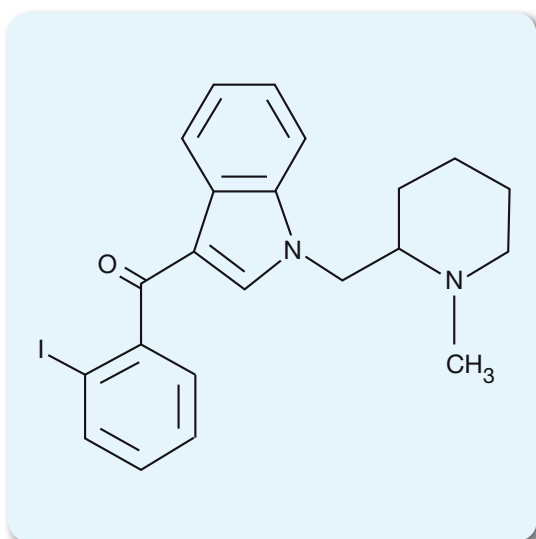
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf

2.5.2 AM-2233

L'AM-2233 o (2-iodofenil)[1-[(1-metil-2-piperidinil)metil]-1H-indol-3-il]metanone è un cannabinoide sintetico alogenato appartenente alla famiglia dei benzilindoli e strutturalmente correlato all'AM-694⁽¹⁾. La sua presenza in Europa è stata segnalata nel 2011 dalle autorità finlandesi, a seguito dell'identificazione della molecola in un sequestro di prodotti a base di erbe effettuato dalla locale Agenzia delle Dogane, attraverso il Centro Europeo di Monitoraggio per le sostanze d'abuso e la tossicodipendenza (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA)⁽²⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: AM-2233.

Sinonimo: 1-[(N-metil-2-piperidinil)metil]-3-(2-iodobenzil)-1H-indolo.

Formula Molecolare: C₂₂H₂₃IN₂O (peso molecolare = 358,3).

Nome sistematico: (2-iodofenil)[1-[(1-metil-2-piperidinil)metil]-1H-indol-3-il]metanone.

Numero di registro CAS: 444912-75-8.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: 213, 250, 314 nm⁽³⁾.

Solubilità: solubile in alcol etilico, dimetilformamide e in dimetilsolfossido. Scarsamente solubile in soluzioni acquose.

Uso

In Europa l'AM-2233 è stato identificato in diverse preparazioni a base di miscele di erbe pubblicizzate come incensi o profumatori d'ambiente, o sotto forma di polvere di colore bianco. In Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta rapida per le Droghe riferisce che l'AM-2233 è stato identificato per la prima volta nel 2012 in un prodotto costituito da una miscela di materiale vegetale essiccato, grossolanamente sminuzzato ed oggetto di sequestro, le cui indicazioni d'uso dichiarate in etichetta erano quelle di profumatore ambientale (pot-pourri)⁽¹⁾.

Legislazione

In Italia l'AM-2233 è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 3-benzilindolo con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola risulta essere posta sotto controllo in Lussemburgo, mentre non si hanno informazioni circa lo stato legale della molecola negli altri Paesi⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'AM-2233 è un cannabinoide sintetico con una forte attività agonista sui recettori CB1⁽⁴⁾. Poiché si tratta di una molecola otticamente attiva, è stato osservato *in vitro* come l'(R)-enantiomero sia il principale responsabile dell'affinità della molecola per i recettori CB1⁽⁴⁾.

In uno studio sull'animale di laboratorio (ratto), è stato inoltre osservato come sia il WIN 55,212-2 (un noto agonista dei recettori CB1) che l'AM-2233 (racemo) al dosaggio di 1 mg/kg, (i.v.) riducono del 60% l'attività locomotoria del ratto, mentre al dosaggio di 3 mg/kg inibiscono completamente l'attività dell'animale, confermando la natura di agonista dei recettori CB1 dell'AM-2233⁽⁵⁾. In particolare, l'isomero (R)-AM-2233, possiede una affinità per il recettore CB1 di circa 8 volte superiore rispetto al WIN 55,212-2⁽⁴⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'AM-2233.

Effetti avversi

Non sono riportati dati in letteratura relativi ai possibili effetti avversi del cannabinoide sintetico AM-2233.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche dell'AM-2233.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'AM-2233 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per l'analisi dell'AM-2233 nelle matrici biologiche di eventuali consumatori. In un recente studio vengono descritte le modalità d'isolamento e la successiva identificazione analitica del cannabinoide sintetico AM-2233 in una miscela di materiale vegetale essiccato utilizzando la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa⁽⁶⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del AM-2233 in una miscela di materiale vegetale essiccato⁽⁶⁾

Estrazione del campione

A 10 mg di materiale vegetale viene aggiunto 1 ml di alcol metilico. La miscela così ottenuta viene sonicata per 10 minuti e successivamente centrifugata per 10 minuti a 3000 rpm. Viene quindi prelevato il surnatante successivamente filtrato, portato a secco e ripreso in 50 µl di etile acetato. Un µl di solvente organico viene iniettato nel gas cromatografo.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Agilent HP-1MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 200°C

Gas: elio al flusso di 0,7 ml/min

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: temperatura iniziale di 80°C per 1,2 minuti, poi da 80 a 190°C a 5°C/min, quindi 190°C per 15 minuti, poi da 190°C a 310 a 10°C/min, quindi 310°C per 10 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione della sostanza ricercata

AM-2233: 52,8 min

Frammenti caratteristici della sostanza ricercata

AM-2233: m/z 458, 231, 98

Standard

Lo standard di AM-2233 utilizzato per le analisi è stato acquistato dalla ditta Cayman Chemical Company (Ann Arbor, Michigan, USA).

Curva di calibrazione

Il lavoro non riporta l'utilizzo di una curva di calibrazione.

Risultati

Il cannabinoide sintetico AM-2233 viene identificato in un prodotto erboristico, costituito da una miscela di erbe essiccate. Gli autori non riportano la determinazione quantitativa dell'AM-2233.

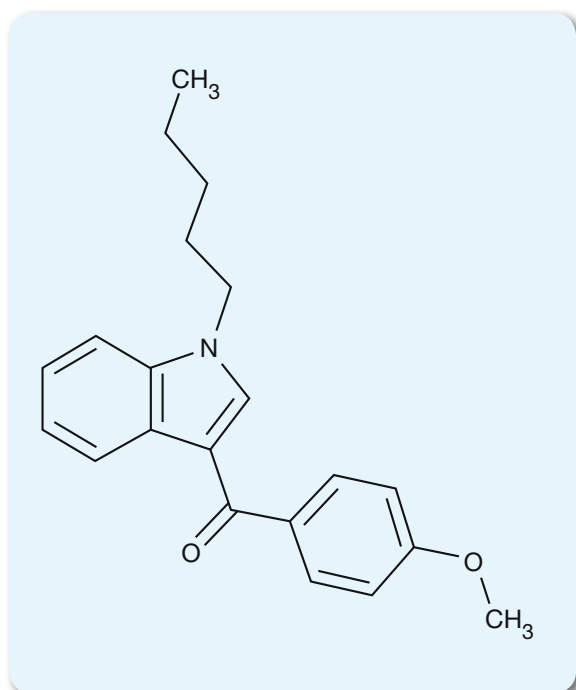
Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
2. <http://www.emcdda.europa.eu/themes/new-drugs/early-warning>
3. <https://www.caymanchem.com/pdfs/11008.pdf>
4. DENG H, GIFFORD AN, ZVONOK AM, CUI G, LI X, FAN P, DECHAMPS JR, FLIPPEN-ANDERSON JL, GATLEY SJ, MAKRIYANNIS A. Potent cannabinergic indole analogues as radioiodinatable brain imaging agents for the CB1 cannabinoid receptor. *J Med Chem.* 2005; 48: 6386-6392.
5. DHAWAN J, DENG H, GATLEY SJ, MAKRIYANNIS A, AKINFELEYE T, BRUNEUS M, DIMAIO AA, GIFFORD AN. Evaluation of the in vivo receptor occupancy for the behavioral effects of cannabinoids using a radiolabeled cannabinoid receptor agonist, R-[125/131] AM2233. *Synapse* 2006; 60: 93-101.
6. UCHIYAMA N, KAWAMURA M, KIKURA-HANAJIRI R, GODA Y. Identification of two new type synthetic cannabinoids, N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indole-3-carboxamide (APICA) and N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide (APINACA), and detection of five synthetic cannabinoids, AM-1220, AM-2233, AM-1241, CB-13 (CRA-13), and AM-1248, as designer drugs in illegal products. *Forensic Toxicol.* 2012; 30: 114-125.

2.5.3 RCS-4

L'RCS-4 o 4-metossifenil-(1-pentil-1H-indol-3-il)metanone) è un cannabinoide sintetico derivato dell'indolo ed appartenente alla sottoclasse dei benzoilindoli. La sua presenza in Europa è stata segnalata per la prima volta nel 2010 dalle autorità ungheresi attraverso il Centro Europeo di Monitoraggio per le sostanze d'abuso e la tossicodipendenza (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA)⁽¹⁾ ed il sistema di allerta rapido europeo per le nuove droghe (Early Warning System EWS)⁽²⁾. Successivamente è stato individuato in alcuni acquisti simulati effettuati in smart shops irlandesi⁽³⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: RCS-4.

Sinonimo: 3-(4-metossibenzoil)-1-pentilindolo; SR-19; OBT-199; BTM-4; Eric-4.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{23}NO_2$ (peso molecolare = 321,4).

Nome sistematico: 4-metossifenil-(1-pentil-1H-indol-3-il)metanone.

Numero di registro CAS: 1345966-78-0.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: in alcol etilico, dimetilsolfossido e dimetilformamide⁽⁴⁾.

Uso

In Europa l'RCS-4 è stato identificato in numerose preparazioni a base di miscele di erbe pubblicizzate come prodotti alternativi alla cannabis. In Italia, il Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta rapida per le Droghe⁽⁵⁾ riferisce che l'RCS-4 è stato identificato per la prima volta nel 2012 in un prodotto costituito da una miscela di materiale vegetale secco sequestrato dall'Agenzia delle Dogane, la cui destinazione d'uso, secondo quanto riportato in etichetta, risultava essere quella di fertilizzante per piante.

Legislazione

In Italia l'RCS-4 è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 3-benzoilindolo, con decreto del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La molecola risulta essere posta sotto controllo nei seguenti Paesi: Danimarca, Estonia, Lussemburgo, Polonia, Svezia⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non ci sono al momento studi di farmacologia, farmacocinetica e farmacodinamica relativi all'RCS-4 in modello animale o nell'uomo. Non sono pertanto disponibili dati relativi all'affinità della molecola per i recettori cannabinoidi CB1 e/o CB2, sebbene i consumatori abbiano dichiarato che l'assunzione di una dose 3-5 mg di sostanza sia in grado di indurre effetti sovrapponibili a quelli prodotti dalla cannabis⁽³⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né su modello animale né sull'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica dell'RCS-4.

Effetti avversi

Studi recenti hanno identificato l'RCS-4 ed i suoi metaboliti in urine di pazienti ricoverati in ospedale a causa di una sintomatologia ascrivibile ad uno stato di intossicazione acuta da sostanza stupefacente (vomito, paranoia, stato allucinatorio). Il primo studio, sebbene non fornisca indicazioni circa le modalità ed i tempi di assunzione del cannabinoide sintetico da parte del soggetto esaminato, riporta l'identificazione nella sua urina di 3 metaboliti principali: il primo, è un metabolita idrossilato a livello dell'indolo, gli altri due, sono metaboliti idrossilati a livello dell'anello fenolico⁽⁶⁾.

In un secondo studio⁽³⁾, vengono riportati i risultati relativi alle determinazioni analitiche effettuate sulle urine di sette pazienti ricoverati per intossicazione acuta da RCS-4 (anche in questo caso, non vengono fornite informazioni circa la modalità ed i tempi di assunzione del cannabinoide). Gli autori dello studio hanno isolato ed identificato sedici metaboliti: tra questi, gli stessi autori indicano gli O-demetilati come i metaboliti principali dell'RCS-4. Dei 7 soggetti presi in esame nello studio, due pazienti (un maschio ed una femmina di circa 20 anni) presentavano paranoia, stato allucinatorio e vomito, mentre 5 pazienti (due maschi di 20 anni, uno di 40, e due donne rispettivamente di 30 e 40 anni) presentavano disartria e congiuntive arrossate⁽³⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche dell'RCS-4.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'RCS-4 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti nella letteratura scientifica metodologie per la determinazione dell'RCS-4 o dei suoi metaboliti in siero⁽⁷⁾, urina^(3,6,8), saliva⁽⁹⁾ e capelli⁽¹⁰⁾ utilizzando cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem. Per quanto riguarda la ricerca di cannabinoidi sintetici tra cui l'RCS-4 su materiale vegetale essiccato, la letteratura riporta un lavoro dove gli autori hanno utilizzato differenti metodologie analitiche per l'analisi quali-quantitativa dei vari prodotti erboristici di loro interesse: la gas cromatografia associata alla spettrometria di massa, la cromatografia su strato sottile e la cromatografia liquida associata allo spettrometro di massa MALDI-TOF⁽¹¹⁾.

I dettagli analitici della determinazione analitica del cannabinoide dell'RCS-4 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽⁸⁾.

Bibliografia

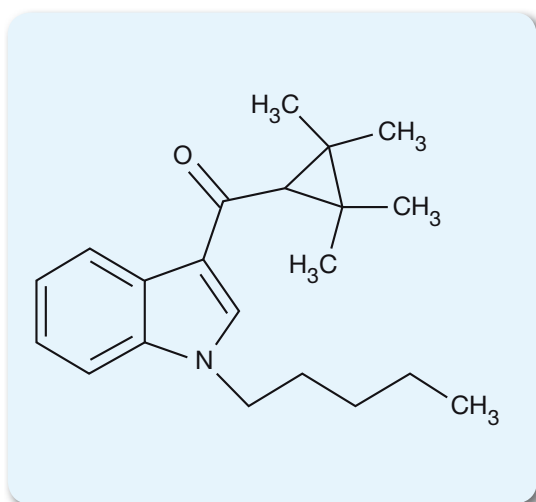
1. <http://www.emcdda.europa.eu/>
2. <http://www.emcdda.europa.eu/themes/new-drugs/early-warning>
3. KAVANAGH P, GRIGORYEV A, MELNIK A, SIMONOV A. The identification of the urinary metabolites of 3-(4-methoxybenzoyl)-1-pentylindole (RCS-4), a novel cannabimimetic, by gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 2012; 36: 303-311.
4. <https://www.caymanchem.com/msdss/10645m.pdf>
5. http://www.politicheantidroga.it/media/605118/3.1_cannabinoidi_a.pdf
6. HUTTER M, BROECKER S, KNEISEL S, AUWÄRTER V. Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in 'herbal mixtures' using LC-MS/MS techniques. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 54-65.
7. KNEISEL S, AUWÄRTER V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J Mass Spectrom.* 2012; 47: 825-835.
8. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2014 Jan 31; 1327: 105-117.
9. KNEISEL S, AUWÄRTER V, KEMPF J. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in oral fluid using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 657-669.
10. HUTTER M, KNEISEL S, AUWÄRTER V, NEUKAMM MA. Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012; 903: 95-101.
11. LOGAN BK, REINHOLD LE, XU A, DIAMOND FX. Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends in the United States. *J Forensic Sci.* 2012; 57: 1168-1180.

2.6 Ciclopropilindolchetoni

2.6.1 UR-144

L'UR-144 è un cannabinoide sintetico appartenente alla famiglia dei ciclopropil-indol-chetoni⁽¹⁾. L'UR-144 presenta affinità per i recettori cannabinoidi, con spiccata selettività verso i recettori CB2. L'attivazione selettiva dei recettori CB2 potrebbe produrre effetti analgesici senza gli effetti psicotropici associati; pertanto al momento non è ancora chiaro se tale molecola possenga proprietà psicoattive oltre che analgesiche⁽²⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: UR-144.

Sinonimo: KM X-1.

Formula Molecolare: C₂₁H₂₉NO (peso molecolare = 311,4).

Nome sistematico: (1-pentil-1H-indol-3-il)- (2,2,3,3-tetrametil-ciclopropil)metanone.

Numero di registro CAS: 1199943-44-6.

Punto di fusione: 68°C.

UVmax: 219, 247, 304 nm.

Solubilità: alcol etilico, dimetilsolfossido e dimetilformammide⁽²⁾.

Uso

L'UR-144, inizialmente utilizzato nei laboratori di ricerca come molecola prototipo per lo studio dei recettori cannabinoidi su modello animale, è stato successivamente identificato tra i componenti di miscele vegetali fumate in Nuova Zelanda e in Russia nel 2012 per gli effetti cannabis simili⁽³⁾.

Legislazione

In Italia l'UR-144 non è inserito nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

La molecola è posta sotto controllo in Danimarca, Ungheria, Portogallo⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'UR-144 appartiene alla categoria degli agonisti sintetici dei recettori cannabinoidi ed imita gli effetti del Δ-9-tetraidrocannabinolo legandosi al recettore CB1 e con affinità maggiore al CB2 dei cannabinoidi nel cervello e organi periferici⁽⁴⁾. La costante di inibizione (K_i) ha un valore di 1,8 nM per i recettori CB2 e 150 nM per i recettori CB1⁽⁵⁾.

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del UR-144.

Effetti avversi

A causa del limitato effetto psicotropo del cannabinoide UR-144, si tende ad utilizzare dosaggi elevati che possono provocare tachicardia, nausea, vomito, sonnolenza, midriasi^(6,7).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del UR-144.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso dell'UR-144 in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

La letteratura scientifica riporta metodologie analitiche per la determinazione dell'UR-144 come tale nella saliva⁽⁸⁾ e dei suoi metaboliti UR-144 N-5 idrossi pentile e UR-144 N acido pentanoico in urina⁽⁹⁾ mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem.

I dettagli analitici della determinazione analitica dei metaboliti del cannabinoide UR-144 nei liquidi biologici di assuntori sono riportati nella monografia del cannabinoide sintetico JWH-122⁽⁹⁾.

Bibliografia

1. http://www.politicheantidroga.it/media/605128/3.1_cannabinoidi_b.pdf
2. Expert Committee on Drug Dependence Thirtysixth Meeting Geneva, 16-20 June 2014. http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/4_8_Review.pdf
3. SOBOLEVSKY T, PRASOLOV I, RODCHENKOV G. Detection of urinary metabolites of AM-2201 and UR-144, two novel synthetic cannabinoids". *Drug Test Anal.* 2012; 10: 745-753.
4. POSO A, HUFFMAN JW. Targeting the cannabinoid CB2 receptor: modelling and structural determinants of CB2 selective ligands. *Br J Pharmacol.* 2008; 153: 335-346.
5. FROST JM, DART MJ, TIETJE KR, GARRISON TR, GRAYSON GK, DAZA AV, EL-KOUHEN OF, YAO BB, HSIEH GC, PAI M, ZHU CZ, CHANDRAN P, MEYER MD. Indol-3-ylcycloalkyl ketones: effects of N1substituted indole side chain variations on CB(2) cannabinoid receptor activity". *J Med Chem.* 2010; 53: 295-315.
6. MAULER F, MITTENDORF J, HORVATH E, DE VRY J. Characterization of the diarylether sulfonylester (-)-(R)-3-(2-hydroxymethylindanyl-4-oxy) phenyl-4,4,4-trifluoro-1-sulfonate (BAY 38-7271) as a potent cannabinoid receptor agonist with neuroprotective properties. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002; 302: 359-368.
7. HERMANN-CLAUSEN M, KNEISEL S, SZABO B, AUWARTER V. Acute toxicity due to the confirmed consumption of synthetic cannabinoids: clinical and laboratory findings. *Addiction* 2013; 108: 534-544.
8. AMARATUNGA P, THOMAS C, LEMBERG BL, LEMBERG DJ. Quantitative measurement of XLR11 and UR-144 in oral fluid by LC-MS-MS. *Anal Toxicol.* 2014; 38: 315-321.
9. SCHEIDWEILER KB, HUESTIS MA. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2014; 1327: 105-117.

3

Cationi
sintetici

3.1 Introduzione

Nel 2011 circa i due terzi delle nuove “designer drugs” segnalate dall’Osservatorio Europeo delle Droghe e delle Tossicodipendenze (European Monitoring centre for Drugs and Drug addiction, EMCDDA)⁽¹⁾ erano rappresentate dai catinoni sintetici, analoghi strutturali del 2-amino-1-fenil-1-propanone o catinone, alcaloide di origine naturale presente nelle foglie della pianta *Catha edulis* o Khat. Si tratta di derivati fenetilaminici che presentano un gruppo carbonilico di tipo chetonico nella posizione β della catena alchilaminica. Il primo catinone sintetico comparso nel mercato farmaceutico, il metcatinone, fu sintetizzato nel 1928 negli Stati Uniti ed in seguito brevettato dalla compagnia farmaceutica Parke Davis per essere principalmente utilizzato in Unione Sovietica durante gli anni 1930-40 come antidepressivo⁽²⁾.

Attualmente queste sostanze, hanno larga diffusione come droghe psicostimolanti ed allucinogene tra i giovani; sono commercializzate soprattutto su siti telematici come “prodotti chimici di ricerca”, “sali da bagno” e “fertilizzanti”, ed etichettati come prodotti non adatti al consumo umano, per ovviare a divieti legali a tale eventuale consumo^(3,4).

Proprio il mercato su siti web ha contribuito in modo significativo alla diffusione di queste beta-keto amfetamine o beta-keto designer drugs con proprietà psicostimolanti simili a quelle proprie delle amfetamine⁽⁵⁾.

Il catinone sintetico attualmente più popolare, anche per le cronache legate a numerosi decessi registrati in alcuni paesi europei e correlati alla sua assunzione, è il mefedrone (4-metilmetcatinone, 4-MMC)⁽⁶⁾, ma tra i più venduti ed utilizzati secondo le notizie che appaiono su siti web di consumatori di tali sostanze- ci sono il butilone, il metilone e il metilendiossirovalerone. La popolarità di queste sostanze è dovuta a varie ragioni: gli effetti stimolanti amfetamino-simili con aggiunte proprietà allucinogene, la facile reperibilità (acquisto su internet con carta di credito nell’anonimato), il prezzo accessibile, la libera vendita delle nuove molecole messe in commercio quando ancora non sono inserite nelle Tabelle legislative che ne vietano commercializzazione ed uso, l’impossibilità di identificarle nelle matrici biologiche dei consumatori poiché non esistono test rapidi a disposizione delle forze di Polizia o dei pronto soccorsi. Questo li rende attraenti per le persone che vogliono utilizzare psicostimolanti e allucinogeni, ma hanno paura delle conseguenze legali.

I catinoni sintetici possono essere ingeriti, sniffati, fumati o assunti per via iniettiva o rettale. I dati di letteratura e le informazioni su siti web specializzati indicano che questi composti possono produrre una grave intossicazione acuta con elevato rischio di conseguenze fatali collegate alla stimolazione potente del sistema catecolaminergico^(7,8). Inoltre, la stimolazione dopaminergica potrebbe spiegare lo sviluppo di tolleranza, abuso, dipendenza e sindrome da astinenza dopo il consumo frequente di tali composti⁽⁹⁾.

Attualmente in Italia sono stati registrati alcuni casi (età compresa tra 18 e 36 anni) di intossicazione acuta da catinoni sintetici. I sintomi presentati sono stati: midriasi, ansia, panico, allucinazioni visive e uditive, agitazione psicomotoria e atteggiamento violento. In un caso l’assunzione (ingestione/sniffing) del prodotto acquistato in uno smart-shop (come concime per piante) ha determinato, oltre ad effetti sistemici, anche iperemia del cavo orale, edema della glottide e dell’ugola. Tutti i pazienti sono stati trattati in modo sintomatico e dimessi dopo 24-48 ore di osservazione⁽¹⁰⁾.

I dati attualmente disponibili mostrano inequivocabilmente che l’uso ricreativo di catinoni sintetici deve essere considerato altamente pericoloso per la salute pubblica. L’attenzione della comunità scientifica, le informazioni farmacologiche e tossicologiche attualmente disponibili in merito a questa nuova classe di sostanze d’abuso, sono di grande importanza al fine di monitorare e prevenire la diffusione di queste nuove designer drugs⁽¹¹⁾.

Come sopra menzionato, queste sostanze psicoattive sono strutturalmente correlate all’alcaloide naturale catinone che insieme al suo analogo idrossilato, la catina, si trova nelle foglie dell’arbusto africano Khat, o Qat, ed è responsabile dei principali effetti psicoattivi che derivano dalla masticazione delle foglie di questa pianta⁽¹²⁾.

Bibliografia

1. EMCDDA 2011, <http://www.emcdda.europa.eu>
2. HYDE JF, BROWNING E, ADAMS R. Synthetic homologs of d, l-efedrina. *J Am Chem Soc.* 1928; 50: 2287-2292.
3. SPILLER HA, RYAN ML, WESTON RG, JANSEN J. Clinical experience with and analytical confirmation of bath salts and legal highs (synthetic cathinones) in the United States. *Clin Toxicol. (Phila.)* 2011; 49: 499-505.
4. BRANDT SD, FREEMAN S, SUMMALE HR, MEASHAM F, COLE J. Analysis of NRG legal highs in the UK: identification and formation of novel cathinones. *Drug Test Anal.* 2011; 3: 569-575.
5. SCHIFANO F, RICCIARDI A, CORAZZA O, DELUCA P, DAVEY Z, RAFANELLI C. New drugs of abuse on the web: the role of the psychonaut web mapping project. *Riv Psichiatr.* 2010; 45: 88-93.
6. SCHIFANO F, ALBANESE A, FERGUS S, STAIR JL, DELUCA P, CORAZZA O, DAVEY Z, CORKERY J, SIEMANN H, SCHERBAUM N, FARRE M, TORRENS M, DEMETROVICS Z, HAMID GHODSE A. Mephedrone (4-methylmethcathinone; 'meow meow'): chemical, pharmacological and clinical issues Psychonaut Web Mapping & ReDNet Research Groups. *Psychopharmacol* 2011; 214: 593-602.
7. MELTZER PC, BUTLER D, DESCHAMPS R, MADRAS BK. 1-(4-Methylphenyl)-2-pyrrolidin-1-yl-pentan-1-one (pyrovalerone) analogues: a promising class of monoamine uptake inhibitors. *J Med Chem.* 2006; 49: 1420-1432.
8. DURHAM M. Ivory wave: the next mephedrone? *Emerg Med J.* 2011; 28: 1059-1060.
9. ROSS S, PESELOW E. The neurobiology of addictive disorders. *Clin. Neuropharmacol.* 2009; 32: 269-276.
10. LONATI D, BUSCAGLIA E, VECCHIO S, GIAMPRETI A, PETROLINI VM, MAZZOLENI M, CHIARA F, ALOISE M, MANZO L, VALLI A, ROCCHI L, PAPA P, ROLANDI L, RIMONDO C, SERI C, SERPELLONI G, LOCATELLI CA. Cannabinoidi e catinoni sintetici: aspetti clinici <http://www.sitox.org/congresso12/imgs/logo.jpg>
11. DAVIES S, WOOD DM, SMITH G, BUTTON J, RAMSEY J, ARCHER R, ET AL. Purchasing legal highs on the Internet-is there consistency in what you get? *QJM.* 2010; 103: 489-493.
12. HALBACH H. Khat-The problem today. *NIDA Research Monograph.* 1979; 27: 318-319.

3.2 Catha edulis

(Khat, Qat)



Nome: *Catha edulis* L.

Famiglia: *Celestraceae*

Genere: *Catha*

Specie: *Catha edulis*

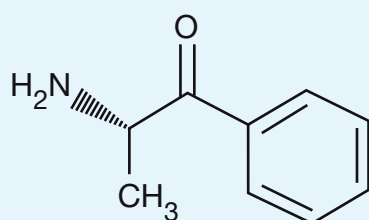
Sinonimi: «Qat» (Yemen), «jad» o «chad» (Etiopia, Somalia), «miraa» (Kenya) e «marungi» (Ruanda, Uganda).

Provenienza: è una pianta originaria delle regioni orientali dell'Africa (probabilmente dell'Etiopia), ma assai diffusa nella penisola Arabica.

Principi attivi: catina, catinone.

Il Khat è una pianta che cresce nei paesi limitrofi al Mar Rosso e alla costa orientale dell'Africa e della Penisola Arabica, ma è coltivata anche in Tanzania, Yemen, Etiopia e Kenia. Può assumere vari gradi di sviluppo che vanno dal piccolo arbusto di 1-3 metri ad una forma arborea capace di raggiungere i 18 metri di altezza. Per le loro proprietà psicoattive, da secoli le foglie e i germogli teneri della pianta del Khat (*Catha edulis*), vengono masticati a lungo dalle popolazioni di queste aree in quanto il consumo moderato e continuo nella giornata allevia la fatica e diminuisce l'appetito⁽¹³⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: catinone.

Formula Molecolare: $C_9H_{11}NO$ (peso molecolare = 149,2).

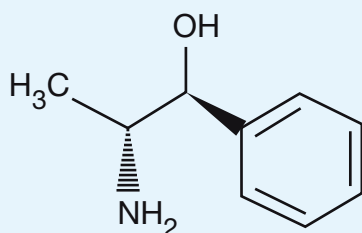
Nome sistematico: S-(-)-2-amino-1-fenil-1-propanone.

Numero di registro CAS: 71031-15-7.

Punto di fusione: 189-190°C (cloridrato).

UVmax: 251 nm.

Solubilità: cloroformio, etere.



Nome: catina.

Formula Molecolare: $C_9H_{13}NO$ (peso molecolare = 151,2).

Nome sistematico: (1S,2S)-2-amino-1-fenilpropanolo, (+)-Nor-pseudoefedrina.

Numero di registro CAS: 36393-56-3.

Punto di fusione: 77-78°C.

UVmax: 251 nm.

Solubilità: cloroformio, etere.

Uso storico

Le foglie del Khat vengono tipicamente usate nei paesi arabi e se ne ha notizia documentata a partire dal XIV secolo. La profondità dei legami che uniscono il consumo di Khat alle tradizioni locali è testimoniato dal tramandarsi di numerosi “miti di fondazione” che ne vorrebbero giustificare in senso religioso l'introduzione e il persistere dell'uso. Tra i consumatori di Khat nella città di Mogadiscio (Somalia), si narra come la pianta fosse cresciuta spontaneamente sulla tomba di un santone, di nome Shek-abaadir, vissuto durante il periodo della diffusione dell'Islam in Somalia (XI-XII sec.) e assai venerato dalla popolazione. Alcuni seguaci, dopo averne assaggiato le foglie ed averne sperimentato gli effetti di potenziamento della memoria e di diminuzione del senso di fatica, che permettevano loro di recitare a memoria i versetti del Corano e di pregare tutta la notte, dedussero che la pianta era stata donata ai fedeli dal santone perché potessero meglio onorare Allah⁽¹⁻³⁾.

Uso attuale

Le foglie di Khat devono essere utilizzate entro due o tre giorni dalla raccolta, a causa della rapida deperibilità del loro maggiore principio psicoattivo, il catinone. Durante l'essiccamento delle foglie, infatti, il catinone si trasforma in catina depotenziando l'effetto psicostimolante delle foglie.

Sebbene siano consumate anche sotto forma di infusi (il cosiddetto tè abissino), la modalità usuale di assunzione delle foglie di Khat consiste nella masticazione prolungata, fino a formarne un bolo che viene mantenuto all'interno della guancia e continuamente rinnovato. L'effetto si manifesta dopo circa tre ore di consumo ed è caratterizzato da uno stato di euforia che il consumatore definisce di felicità, serenità ed energia.

Il Khat è una tipica droga “sociale” nel mondo africano e in quello arabo. Il consumo avviene in gruppi amicali e grande attenzione viene posta ad elementi culturali che contribuiscano allo sviluppo ed al mantenimento dei suoi effetti: indossare vesti tradizionali, ascoltare musica etnica, conversare piacevolmente, bruciare incenso, fumare sigarette, bere tè caldo o bevande contenenti caffeina. Un interessante aspetto di questo rituale consiste nel creare nell'ambiente una temperatura elevata serrando porte e finestre, nella consapevolezza empiricamente acquisita che il caldo aumenta gli effetti del Khat, così come di ogni altro anfetaminico⁽²⁻⁴⁾. Il contesto ambientale in cui il consumo avviene è così importante per la sperimentazione degli effetti positivi del Khat, che la mancanza di idonee condizioni scatena l'insorgenza di spiacevoli stati disforici o addirittura di psicosi⁽⁵⁾.

Legislazione

In Italia la pianta di *Catha edulis*, il catinone e la catina in essa contenuti, sono inseriti nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. La maggior parte degli stati europei (Olanda, Danimarca, Francia, Germania, Polonia, Norvegia, Islanda) considera illegale e penalmente perseguibile l'uso e il commercio della pianta di *Catha edulis* e del catinone e catina in essa contenuti; anche negli Stati Uniti e in Canada la pianta e i suoi principi attivi sono considerati illegali⁽⁶⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il catinone e la catina sono due fenilalchilamine, strutturalmente simili all'amfetamina, responsabili dei principali effetti psicoattivi che derivano dalla masticazione delle foglie di *Catha edulis* (Khat). Entrambi stimolano principalmente il rilascio di due neurotrasmettitori del sistema nervoso centrale: dopamina e noradrenalina.

L'attività farmacologica del Khat è strettamente dipendente dal suo contenuto in catinone, un composto altamente instabile che si decompone con l'essiccamento del materiale vegetale. Tipicamente, nel giro di 3-4 giorni il contenuto in catinone si riduce fino a rendere non più commerciabile il Khat. Conosciuto anche come “amfetamina naturale”, il catinone produce una stimolazione simpaticomimetica del sistema nervoso centrale analoga a quella dell'amfetamina, ma con una potenza e durata minore. Similmente ad essa, il catinone induce il rilascio di dopamina dal tessuto striatale⁽⁷⁾ con una conseguente aumentata vigilanza, euforia, resistenza alla fatica, riduzione dell'appetito, insonnia, oltre agli effetti della stimolazione simpatica, quali aumento della pressione arteriosa, della frequenza cardiaca e della temperatura corporea⁽⁸⁾. Il secondo

principio attivo, la catina o (+)-norpseudoefedrina, è più stabile, ma farmacologicamente molto meno attivo del catinone. La catina isolata anche nelle piante del genere *Efedra*, che presentano infatti effetti simili a quelli del Khat, ha una azione psicostimolante significativamente più moderata e con una durata d'azione più breve rispetto al catinone. La catina gioca quindi un ruolo minore nell'azione psicostimolante della pianta, ma è responsabile dei principali effetti indesiderati, quali tachipnea, dispnea, tubercolosi, secchezza delle fauci, gastriti croniche, ulcera gastrica, costipazione, anoressia, dimagrimento, incrementato rischio di patologie maligne gastrointestinali⁽⁹⁾.

Tossicità

Un paziente consumatore di Khat può giungere ad osservazione per il manifestarsi di effetti tossici acuti di grado più o meno severo. Vi è tuttavia anche la possibilità che il paziente manifesti una sintomatologia riferibile a consumo cronico di Khat senza essere, al momento dell'osservazione, in uno stato di intossicazione acuta. Un corretto orientamento diagnostico deve avvalersi dei seguenti criteri quali: dichiarata assunzione di Khat, provenienza etnica da (o recente viaggio in) regioni geografiche in cui il consumo di Khat è diffuso; riferita diminuzione dell'appetito con perdita di peso, alterazioni del sonno e dell'umore (ansia, depressione, irritabilità).

Per quanto riguarda la sintomatologia, nell'intossicazione acuta, i segni di attivazione simpatica generalizzata sono caratterizzati da midriasi, tachicardia, tachipnea, ipertensione arteriosa, aumento della temperatura corporea. Può indirizzare la diagnosi, se presente, il riscontro di infiammazione del cavo orale, nonché, nel caso di consumatori di lunga data, la presenza di discromie dentali. Lesioni infiammatorie e traumatiche del cavo orale sono di comune riscontro nei consumatori di Khat. L'infiammazione è probabilmente riferibile all'azione irritativa dei terpeni e del tannino contenuti nelle foglie, mentre la natura coriacea del materiale è responsabile delle abrasioni della mucosa. La cronicizzazione del processo infiammatorio rende conto dell'aumentata incidenza di periodontiti e cheratosi nei consumatori cronici.

Inoltre, una intossicazione acuta da Khat può manifestarsi con una sintomatologia psichica più o meno grave (ansia, depressione, attacchi di panico, psicosi di tipo paranoideo o maniacale, allucinazioni).

La presenza nei liquidi biologici del catinone costituisce la prova incontrovertibile dell'avvenuta assunzione di Khat. La terapia dell'intossicazione acuta da Khat è assimilabile a quella dell'intossicazione acuta da amfetamina ed è quindi caratteristicamente sintomatica. L'agitazione psicomotoria è controllata dalle benzodiazepine e/o da un neurolettico. Al nitroprussiato sodico ci si rivolge invece in caso di crisi ipertensiva. Le aritmie sopraventricolari sono trattate, solo in caso di deficit emodinamico, con verapamil o propranololo, mentre quelle ventricolari con lidocaina. Il dantrolene si associa ai presidi fisici in caso di ipertermia. L'escrezione delle catamine (catinone e catina) è accelerata dalla somministrazione di cloruro d'ammonio con conseguente acidificazione delle urine fino ad ottenimento di un pH inferiore a 6.6^(10,4).

Dati relativi alla tossicità acuta del catinone

Nel topo - DL50 dopo somministrazione orale: 400 mg/kg⁽¹¹⁾

Dati relativi alla tossicità acuta della catina

Nel topo - DL50 dopo somministrazione subcutanea: 275 mg/kg⁽¹¹⁾

Effetti avversi

I dati scientifici attualmente disponibili mostrano che il consumo frequente di catinoni induce tolleranza, sindrome di dipendenza e sindrome da astinenza dopo la sospensione improvvisa dell'uso^(12,13).

I sintomi associati ad un'intossicazione con foglie di Khat sono rappresentati da: vertigini, disturbi della concentrazione, insonnia, emicrania, midriasi, congestione congiuntivale, disturbi del coordinamento motorio, tremori, comportamento stereotipato⁽¹³⁾.

Interazioni farmacologiche

Negli assuntori cronici di Khat si associa spesso l'abuso di alcol utilizzato per contrastare gli effetti stimolanti e l'insonnia causati dal Khat⁽⁸⁾.

L'uso degli inibitori delle monoamino ossidasi nei consumatori di Khat può portare a livelli pericolosi di stimolazione simpaticomimetica con la possibilità di generare crisi ipertensive. Nei consumatori cronici di Khat si possono manifestare reazioni all'anestesia chirurgica durante il periodo post-operatorio quali agitazione e sovraeccitazione⁽⁸⁾.

Effetti in gravidanza

Nei neonati di madri consumatrici di Khat in gravidanza si osserva un basso peso alla nascita, la possibilità di nascita prematura, e difficoltà nell'allattamento al seno⁽⁸⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono descritte in letteratura scientifica metodologie per l'analisi dei principi attivi della *Catha edulis* nell'urina e in matrice cheratinica⁽²⁵⁻²⁶⁾.

Di questi metodi analitici, il primo utilizza un cromatografo gassoso accoppiato ad uno spettrometro di massa per la determinazione e quantificazione del catinone e della catina in campioni di urina di soggetti consumatori *Catha edulis*, risultati positivi ad uno screening immunochimico alle anfetamine; il secondo, utilizza un cromatografo gassoso accoppiato ad uno spettrometro di massa per la determinazione e quantificazione del catinone e della catina in campioni di capelli di 24 masticatori di Khat Yemeniti. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del catinone e della catina nelle urine⁽¹⁶⁾

Estrazione del campione

Una aliquota di 0,2 ml di urina viene diluita con 4 ml di tampone fosfato pH 6, 1M, e addizionata con 100 µl di standard interno (MDA-d₅ in alcol metilico). I campioni diluiti sono stati estratti in fase solida utilizzando le colonnine Bond Elut Certify HF (Varian). Il protocollo di estrazione è il seguente: condizionamento con 2 ml di alcol metilico e 3 ml di tampone fosfato, applicazione del campione sulla colonna, risciacquo con 2 ml di 0,1 M di acido acetico e 3 ml di alcol metilico, eluizione degli analiti con 3 ml di una soluzione preparata di cloruro di metilene-2-propanolo-ammoniacca (80:20:2 v/v). Gli estratti sono stati evaporati e derivatizzati con 40 µl di N-metil-bis-epptafluorobutiramide (MBHFBA) per 30 min a 60°C.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: HP-1 MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 260°C

Gas: elio con un flusso di 1,0 ml/min

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: 120°C per 0.5 minuti, 10°C/min-170°C a 30°C/min, 310°C per cinque minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

catinone HFBA: 4,56 min

catina bis-HFBA: 4,60 min

MDA-d₅ (standard interno) HFBA: 4,58 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

catinone HFBA: m/z 240, 105, 77

catina bis-HFBA: m/z 330, 303, 240

MDA-d₅ (standard interno) HFBA: m/z 167, 166, 136

Standard

Gli standard di catina e catinone possono essere acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina è stata preparata in un range di concentrazioni da 0 a 10 µg/ml.

Risultati

Nella Tabella 1 sono riportate le quantità di catinone e catina riscontrate nell'urina di 6 soggetti, indagati per guida sotto l'effetto di sostanze d'abuso, che avevano ammesso di avere masticato foglie di *Catha edulis* nelle ore precedenti alla guida.

Tabella 1. Concentrazioni urinarie (µg/ml) di catinone e catina in soggetti consumatori di foglie di Khat

| Campione | Catinone (µg/ml) | Catina (µg/ml) |
|----------|------------------|----------------|
| 1 | 2,7 | 100,5 |
| 2 | 1,6 | 221,3 |
| 3 | 3,3 | 107,6 |
| 4 | 16,9 | 30,9 |
| 5 | 28,8 | >300 |
| 6 | 8,9 | 46,3 |

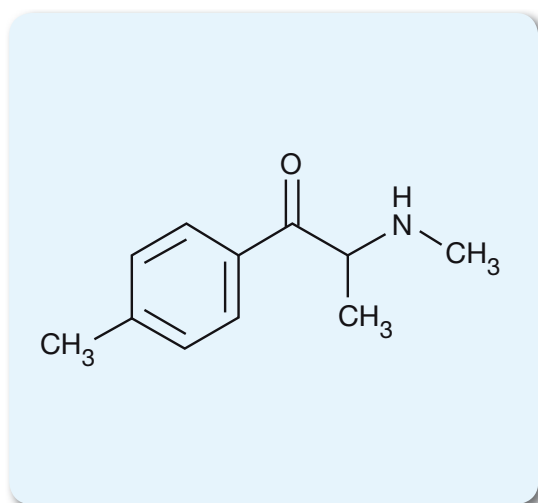
Bibliografia

- MURRAY CD, LE ROUX CW, EMMANUEL AV, HALKET JM, PRZYBOROWSKA AM, KAMM MA, MURRAY-LYON IM. The effect of khat (*Catha edulis*) as an appetite suppressant is independent of ghrelin and PYY secretion. *Appetite* 2008; 51: 747-750.
- NENCINI P, AHMED AM, AMICONI G, ELMAS AS. Tolerance develops to sympathetic effects of khat in humans. *Pharmacology* 1984; 28: 150-154.
- NENCINI P, GRASSI MC, BOTAN AA, ASSEYR AF, PAROLI E. Khat chewing spread to the Somali community in Rome. *Drug Alcohol Depend.* 1989; 23: 255-258.
- NENCINI P, GRAZIANI M, Le droghe degli "altri": il Khat. *SOS Droga* 2007. Disponibile su: <http://www.droga.it/sistematica/graziani2/index.htm>
- GRIFFITHS P, LOPEZ D, SEDEFOV R, GALLEGOS A, HUGHES B, NOOR A, ROYUELA L. Khat use and monitoring drug use in Europe: The current situation and issues for the future», *J Ethnopharmacol.* 2010; 132: 578-583.
- Drug Enforcement Administration (DEA). Khat (Chapter 5). In: *Drugs of abuse*. US Department of Justice, DEA, 2005.
- KALIX P, "Cathinone, an alkaloid from Khat leaves with an amphetamine-like releasing effect". *Psychopharmacology* 1981; 74: 269-270.
- COX G, RAMPES H. Adverse effects of Khat: a review. *Advances in Psychiatric Treatment* 2003; 9: 456-463.
- FEYISSA AM, KELLY JP. A review of the neuropharmacological properties of Khat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 1147-1166.
- HALBACH H. Khat: The problem today. *NIDA Res Monogr.* 1979; 27: 318-319.
- <http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html>
- COPPOLA M, MONDOLA R. 3,4-Methylenedioxypropylvalerone (MDPV): chemistry, pharmacology and toxicology of a new designer drug of abuse marketed online. *Toxicol Lett.* 2012; 5: 12-15.
- WINSTOCK AR, MITCHESON LR, DELUCA P, DAVEY Z, CORAZZA O, SCHIFANO F. Mephedrone, new kid for the chop? *Addiction* 2011; 106: 154-161.
- PAUL BD, COLE KA. Cathinone (khat) and methcathinone (CAT) in urine specimens: a gas chromatographic-mass spectrometric detection procedure. *J Anal Toxicol.* 2001; 25: 525-530.
- SPORKERT F, PRAGST F, BACHUS R, MASUHR F, HARMS L. Determination of cathinone, cathine and norephedrine in hair of Yemenite khat chewers. *Forensic Sci Int.* 2003; 133: 39-46.
- TOENNES SW, KAUERT GF. Excretion and detection of cathinone, cathine, and phenylpropanolamine in urine after khat chewing. *Clin Chem.* 2002; 48: 1715-1719.

3.3 Mefedrone

Il mefedrone (4-metilmecatino), il più conosciuto e diffuso tra i catinoni sintetici, derivato del metcatino o efedrone e strutturalmente correlato al catino (il principio attivo della pianta del Khat), fu sintetizzato per la prima volta, secondo l'Osservatorio Europeo delle Droghe e delle Tossicodipendenze (European Monitoring centre for Drugs and Drug addiction, EMCDDA), nel 1929 da Saem de Burnaga Sanchez, con la denominazione "toluile-alfa-monometilaminoetilacetone", come sostanza fertilizzante⁽¹⁾. Il composto non fu mai realmente utilizzato come fertilizzante, però per le sue proprietà psicoattive è stato inserito di recente nel mercato telematico degli stimolanti sintetici come "fertilizzante" o "alimento vegetale"⁽²⁾. Il mefedrone è a tutt'oggi annoverato tra le sostanze psicoattive sintetiche stimolanti assimilabile alle fenetilamine entactogeniche (la 3,4 metilendioossimetamfetamina, MDMA, in primis) con le quali condivide, anche se in misura meno intensa, gli effetti. Si tratta, come sopra riportato, di una molecola di sintesi, caratterizzata dalla presenza di un sostituente metilico in posizione para all'anello aromatico del corrispondente metcatino. Comparso per la prima volta disponibile per l'acquisto su internet nel 2007, ha guadagnato velocemente grande popolarità tra i giovani, con un conseguente rapido incremento della domanda⁽³⁾. Tra il 2009 e il 2010 c'è stato un picco nell'abuso di tale sostanza e di altri catinoni sintetici, iniziato nel Regno Unito e in seguito diffuso nel resto d'Europa, negli Stati Uniti e in Canada⁽⁴⁻⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: mefedrone (4-metilmecatino).

Sinonimi: 4MMC, Meow Meow, 'M-Cat.

Formula Molecolare: C₁₁H₁₅NO (peso molecolare = 177,2).

Nome sistematico: 2-(metilamino)-1-(p-tolil)propan-1-one; (RS)-2-metilamino-1-(4-metilfenil)propan-1-one; 2-(metilamino)-1-(4-metilfenil)-1-propanone; 4-metilefedrone; (RS)-2-metilammino-1-(4-metilfenil)propan-1-one.

Numero di registro CAS: 1189805-46-6.

Punto di fusione: 66,6°C.

UVmax: 258 nm.

Solubilità: acqua, alcol metilico.

Uso

Il mefedrone cloridrato si presenta come polvere bianca; la forma base è un liquido giallastro, può avere un odore di pesce o di urine⁽⁶⁾.

Il mefedrone viene assunto come sostanza ricreazionale perché induce euforia, socievolezza, stimolazione, eccitazione sessuale, miglioramento dell'umore, allucinazioni, decremento di ostilità e insicurezza; presenta inoltre effetti più graduali sia nel momento dell'eccitazione che nel seguente momento di perdita dell'euforia rispetto a derivati anfetaminici quali ad esempio la 3,4 metilendioossimetamfetamina (MDMA) e assenza di postumi nel giorno successivo al consumo⁽⁷⁾. Solitamente commercializzato sotto forma di polvere o di compresse, viene assunto per via intranasale, per bocca, per via rettale e anche per via iniettiva⁽⁸⁾. Le dosi riportate in letteratura variano dai 15 ai 250 mg per l'uso orale e dai 5 ai 125 mg per via intranasale⁽⁹⁾.

A volte il mefedrone viene venduto e consumato in associazione con il metilone (altro catino sintetico) in un prodotto chiamato "bubbles" (bolle) nel Regno Unito⁽¹⁰⁾ ma sono state anche identificate preparazioni di mefedrone in associazione con altri catinoni quali etilcatino, butilone, fluorometcatino⁽⁶⁻¹⁰⁾.

Legislazione

Il mefedrone è stato inserito, con decreto ministeriale del 16 giugno 2010 (G.U. Serie Generale n. 146 del 25 giugno 2010), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Nel Regno Unito tale composto è stato vietato a partire dall'aprile 2010⁽¹¹⁾. Ad oggi, il commercio, la detenzione e l'uso del mefedrone sono vietati in Francia, Danimarca, Svezia, Germania, Norvegia, Croazia, Estonia e Romania, Stati Uniti e Canada.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le informazioni circa gli effetti farmacologici determinati dal mefedrone provengono dai forum di discussione di utilizzatori su siti telematici, dal riferito dei pazienti intossicati e dai report clinici di tali soggetti. Secondo tali fonti, il mefedrone sembrerebbe avere effetti simpatomimetici simili a quelli prodotti dai derivati amfetaminici⁽¹²⁾.

Il mefedrone è in grado di indurre un rapido rilascio ed eliminazione della dopamina nel sistema di ricompensa del cervello, caratteristica che contribuirebbe alle sue potenti proprietà di rinforzo. Recentemente uno studio condotto sui ratti con l'obiettivo di esaminare gli effetti di una somministrazione acuta di mefedrone sui livelli extracellulari di dopamina e di serotonina, in una specifica area del cervello denominata *nucleus accumbens*, ha dimostrato per la prima volta che l'assunzione di dosi elevate di mefedrone induce un rapido rilascio sia di dopamina che di serotonina in tale nucleo. Questa caratteristica potrebbe spiegare le proprietà di rinforzo del mefedrone e la tendenza, riportata dai consumatori, di assumere più dosi ripetute in una unica occasione⁽¹³⁾. Diversi soggetti riportano effetti di tipo stimolante, con proprietà entattogene, come quelle sperimentate dopo assunzione di metcatinone, metilone o 2-metilammino-1-(3,4-metilendioossifenil) butan-1-one (bk-MBDB), ma di durata inferiore⁽¹⁴⁾. Sulla base della struttura chimica della sostanza si può supporre un meccanismo d'azione simile a quello di altre droghe stimolanti (blocco della ricaptazione o stimolazione del rilascio di neurotrasmettitori quali serotonina, dopamina e norepinefrina). Tali osservazioni sono supportate dagli effetti simpatomimetici simili a quelli dovuti all'uso di altre droghe stimolanti, come la cocaina o le amfetamine (es. pupille dilatate, tachicardia, ipertensione, agitazione) che si manifestano con l'uso del mefedrone⁽¹⁵⁾.

Tossicità

Analogamente ad altri stimolanti, si può supporre che il rischio di tossicità del mefedrone sia correlato alle dosi utilizzate ma non si hanno le necessarie informazioni per definire una dose minima di tossicità⁽¹⁶⁾. Come per altre sostanze stimolanti, i decessi sono generalmente connessi a tossicità simpatomimetica accompagnata da problemi cardiaci ed emorragie cerebrali.

Effetti avversi

L'ingestione di mefedrone comporta effetti avversi che si manifestano dopo 15-45 minuti dall'assunzione. Nel caso di consumo per via intranasale, gli effetti si manifestano immediatamente, con picchi di intensità nell'arco di 30 minuti⁽¹⁷⁾. Tra gli effetti primari che durano circa 2-3 ore dopo l'assunzione orale si osservano pupille dilatate, agitazione, difficoltà di concentrazione, digrignamento dei denti, allucinazioni e deliri⁽⁸⁻¹⁸⁾. Gli effetti secondari includono insonnia e il desiderio impellente di riassumere il mefedrone, con la conseguenza di assunzione ripetuta fino anche ad 1 g per singola sessione⁽¹⁸⁾. In campioni post mortem di sangue e/o urina è stato rilevato dagli screening tossicologici; in campioni postmortem di sangue e/o urine il mefedrone è stato identificato in 90 casi di giovani di sesso maschile (età media, 28,8 anni) con una precedente storia di abuso di droga⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche utilizzate per l'identificazione del mefedrone in liquidi biologici prevedono l'impiego di estrazione della sostanza sia in fase solida che con solventi, seguite da processi di derivatizzazione dell'estratto (es. acilazione) e da determinazione in gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa ad impatto elettronico o in ionizzazione chimica positiva⁽²²⁻²⁴⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del mefedrone nelle urine, nel sangue, nel contenuto gastrico e nella bile⁽²⁵⁾

Estrazione del campione

Una aliquota di 1 ml di urina e sangue, 0,5 g di bile e di contenuto gastrico vengono addizionati con 2 µg di mefedrone d_3 come standard interno, alcalinizzati a pH 9-10 con NaOH 1 N, e il mefedrone estratto con 4 ml di acetato di etile. La fase organica viene portata a secco sotto flusso di azoto a 40°C e il residuo ripreso con 50 µl acetato di etile.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: HP-5MS (0,25 mm x 17 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 280°C

Gas: elio al flusso di 1 ml/min

Modalità di iniezione: split

Programmata di temperatura: 80°C per un minuto, 80°C - 290°C a 20°C/min, 300°C per cinque minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

mefedrone: 8,90 min

mefedrone d_3 (standard interno): 8,92 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

mefedrone: m/z 177, 118, 58

mefedrone d_3 (standard interno): 180, 121, 61

Standard

Gli standard di mefedrone e mefedrone d_3 possono essere acquistati dalla ditta Cerilliant (Sigma-Aldrich, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione è stata preparata utilizzando un campione di urina di controllo addizionato con concentrazioni crescenti (0, 25, 40 ng/ml) di mefedrone.

Risultati

Nella Tabella 1 sono riportate le quantità di mefedrone riscontrate nell'urina, nel sangue, nella bile e nel contenuto gastrico di un soggetto maschio di 43 anni morto durante un rave-party dopo l'ingestione di mefedrone e acido gammaidrossibutirico (GHB).

Tabella 1. Quantità di mefedrone nei liquidi biologici del soggetto deceduto

| Campione | Mefedrone (µg/ml) |
|--------------------|-------------------|
| Urina | 14,8 |
| Sangue | 0,5 |
| Bile | 1,9 |
| Contenuto gastrico | 1,9 |

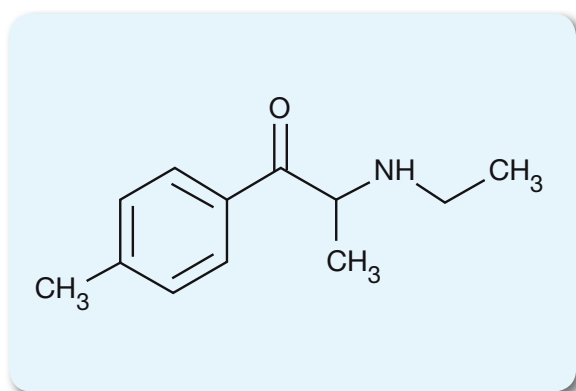
Bibliografia

1. Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze: Europol–EMCDDA. Joint Report on a new psychoactive substance: 4-methylmethcathinone (mephedrone) 2010. http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_132203_EN_2010_Mephedrone_Joint%20report.pdf
2. FLEMING N. "Briefing: Should miaow-miaow be banned? NewScientist; 2010: <http://www.newscientist.com/article/dn18672-briefing-should-miaowmiaow-be-banned.html#.VBbpYCjgYbU>
3. MCEL RATH K, O'NEILL C. Experiences with mephedrone pre- and post-legislative controls: Perceptions of safety and sources of supply. *Int J Drug Policy*. 2011; 22: 120-127.
4. WINDERG S, STERN N, HOSANAGAR A. Are "Bath Salts" the next generation of stimulant abuse? *J Subst Abuse Treat*. 2013; 44: 42-45.
5. PROSSER JM, NELSON LS. The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. *J Med Toxicol* 2012; 8: 33-42.
6. SUMNALL H, WOODING O. Mephedrone an update on current knowledge. North West Public health observatory. 2009: <http://www.southend-cdrp.co.uk/documents/IMGmephedrone.pdf>
7. COPPOLA M, MONDOLA R. Synthetic cathinones: Chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as "bath salts" or "plant food. *Toxicol Lett* 2012; 211: 144-149.
8. LEAT, REYNOLDS R, DE WIT J. Mephedrone use among same-sex attracted young people in Sydney, Australia. *Drug Alcohol Rev*. 2011; 30: 438-440.
9. DOWARD J, SHAH O. "There are many drugs that help people get out of their minds yet stay within the law – they're called 'legal highs'". *The Guardian*. The Observer 2010: <http://www.theguardian.com/politics/2009/apr/26/drugs-legal-substances-highs>.
10. LÓPEZ-ARNAU R, MARTÍNEZ-CLEMENTE J, PUBILL D, ESCUBEDO E, CAMARASA J. Comparative neuropharmacology of three psychostimulant cathinone derivatives: butylone, mephedrone and methylone. *Br J Pharmacol*. 2012; 167: 407-420.
11. MEASHAM F, MOORE K, NEWCOMBE R, SMITH Z. Tweaking, bombing, dabbing and stockpiling: the emergence of mephedrone and the perversity of prohibition. *Drugs Alcohol Today* 2010; 10: 14-21.
12. ROUSSEL O, PERRIN M, HERARD PH, CHEVANCE M, ARPINO P. La 4-méthyléphédronne sera-t-elle une "Ecstasy" du XXIème siècle ? *Ann Toxicol Anal*. 2009; 21: 169-177.
13. KEHR J, ICHINOSE F, YOSHITAKE S, GOINY M, SIEVERTSSON T, NYBERG F, YOSHITAKE T. Mephedrone, compared with MDMA (ecstasy) and amphetamine, rapidly increases both dopamine and 5-HT levels in nucleus accumbens of awake rats. *Br J Pharmacol*. 2011; 164: 1949-1958.
14. SCHIFANO F, ALBANESE A, E FERGUS S, STAIR J L, DELUCA P, CORAZZA O, AVEY Z, CORKERY J, SIEMANN H, SCHERBAUM N, FARRE' M', TORRENS M, DEMETROVICS Z, GHODSE AH, PSYCHONAUT WEB MAPPING, REDNET RESEARCH GROUPS. Mephedrone (4-methylmethcathinone; 'meow meow'): chemical, pharmacological and clinical issues. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; 214: 593-602.
15. VARNER KJ, DAIGLE K, WEED PF, LEWIS PB, MAHNE SE, SANKARANARAYANAN A, WINSAUER PJ. Comparison of the behavioral and cardiovascular effects of mephedrone with other drugs of abuse in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013; 225: 675-685.
16. DARGAN PI, SEDEFOV R, GALLEGOS A, WOOD DM. The pharmacology and toxicology of the synthetic cathinone mephedrone (4-methylmethcathinone). *Drug Test Anal*. 2011; 3: 454-463.
17. WINSTOCK A, MARSDENJ, MITCHESON L. What should be done about mephedrone? *BMJ* 2010; 340: c1605.
18. BENTUR Y, BLOOM-KRASIK A, RAIKHLIN-EISENKRAFTB. Illicit cathinone ("Hagigat") poisoning. *Clin Toxicol (Phila)*. 2008;46: 206-210.
19. WINSTOCK AR, MITCHESON LR, DELUCA P, DAVEY Z, CORAZZA O, SCHIFANO F. Mephedrone, new kid for the chop? *Addiction*. 2011; 106: 154-161.
20. WOOD DM, DAVIES S, PUCHNAREWICZ M, BUTTON J, ARCHER R, OVASKA H, RAMSEY J, LEE T, HOLT DW, DARGAN PI. Recreational use of mephedrone (4-methylmethcathinone, 4-MMC) with associated sympathomimetic toxicity. *J Med Toxicol*. 2010; 6: 327-330.
21. SCHIFANO F, CORKERY J, GHODSE AH. Suspected and confirmed fatalities associated with mephedrone (4-methylmethcathinone, "meow meow") in the United Kingdom. *J Clin Psychopharmacol*. 2012; 32: 710-714.
22. DAVIES S, PUCHNAREWICZ M, BUTTON J, DARGAN PI, WOOD DM, ARCHER R, RAMSEY J, LEE T, HOLT DW. Two cases of confirmed ingestion of the novel designer compounds: 4-methylmethcathinone (mephedrone) and 3-fluoromethcathinone. *Ann Toxicol Anal*. 2009; 21: S1.
23. MEYER MR, WILHELM J, PETERS FT, MAURER HH. Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography–mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2010; 397: 1225-1233.
24. DICKSON AJ, VORCE SP, LEVINE B, PAST MR. Multiple-drug toxicity caused by the coadministration of 4-methylmethcathinone (mephedrone) and heroin. *J Anal Toxicol*. 2010; 34: 162-168.
25. AROMATARIO MR, BOTTONI E, SANTONI M, CIALELLA C. New "Lethal highs": A case of a deadly cocktail of GHB and mephedrone. *Fo-rensic Sci Int*. 2012; 223: e38-41.

3.4 4-metilecatinone

Il 4-metilecatinone (4-MEC) è uno stimolante empatogeno, commercializzato da solo o in miscela con altri catinoni sostituiti con il nome di “NRG-2”; è un analogo del mefedrone, dal quale differisce per la presenza di un gruppo etile al posto del gruppo metile sull’atomo di azoto⁽¹⁻⁴⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: 4-metilecatinone.

Sinonimi: 4-MEC, NRG-2.

Formula Molecolare: C₁₂H₁₇NO (peso molecolare = 191,3).

Nome sistematico: 2-etilamino-1-(4-metilfenil) propan-1- one.

Numero di registro CAS: 1225617-18-4.

Punto di fusione: 221-223°C.

UVmax: 262,8 nm.

Solubilità: alcol metilico.

Uso

Il 4-metilecatinone viene venduto su siti telematici specifici, sotto forma di polvere bianca e di cristalli bianchi o gialli, come prodotto chimico di ricerca in quantità che variano da un grammo ad un chilogrammo. Può essere sniffato, bevuto o iniettato⁽⁵⁾. Il 4-metilecatinone è venduto anche in miscela con altre sostanze psicoattive, in particolare altri catinoni sostituiti (metilendiossiprovalerone, pentedrone, benzedrone e altre sostanze)⁽⁶⁾.

Un forum di consumatori di droghe riporta che la sostanza in polvere può essere irritante per il tratto respiratorio superiore, per la cute e per gli occhi. Alcuni consumatori dichiarano di provare leggera euforia e leggera empatia 40 minuti dopo l’assunzione per via intranasale di 75 mg di 4-MEC e fino ad una ora dall’inizio degli effetti⁽⁷⁾.

Legislazione

In Italia il 4-metilecatinone è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 2-amino-1-fenil-1-propanone, per una o più sostituzioni sull’anello aromatico e/o sull’azoto e/o sul carbonio terminale, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 poi modificato dal decreto ministeriale dell’11 giugno 2012 (G.U. Serie Generale n. 142 del 20 giugno 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all’articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

La molecola è posta sotto controllo in Bulgaria, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Ungheria, Irlanda, Lituania, Polonia, Portogallo, Svezia, Russia, e nel Regno Unito, mentre è di libera vendita a Malta ed in Grecia⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I dati farmacocinetici e farmacodinamici relativi all’uomo dei principali catinoni sintetici sono purtroppo molto scarsi. Non sono disponibili informazioni sulla farmacologia e tossicologia del 4-metilecatinone in modello animale e nell’uomo.

Tossicità

Non ci sono dati della letteratura disponibili sulla tossicità acuta e cronica né in modello animale né nell’uomo.

Effetti avversi

I dati aneddotici suggeriscono che gli effetti avversi sono simili a quelli del mefedrone ma di più breve durata, e senza intensi effetti euforici. Gli effetti negativi più comunemente riportati sono debolezza, letargia, confusione, ansia, nistagmo, tremore, tachicardia, sudorazione, nausea, vomito e dolore nasale. Il 4-MEC è talvolta usato in combinazione con alcol o con creatina per alleviare gli effetti sgradevoli che compaiono durante l'insufflazione per via nasale. È possibile che il 4-MEC come il mefedrone, possa sviluppare dipendenza, infatti gli utenti tendono a consumarne dosi sempre maggiori⁽⁵⁻⁸⁾.

Il Sistema Nazionale di Allerta Precoce ha registrato ad oggi due casi di intossicazione acuta correlati all'assunzione di 4-MEC, con conferma analitica in campioni biologici e manifestazione di sintomi quali tachicardia, agitazione, allucinazioni, ansia e bruciore alle coane nasali⁽⁹⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura interazioni farmacologiche note.

Effetti in gravidanza

Non sono riportati dati in letteratura sull'uso del 4-metiletcatinone in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche utilizzate per l'identificazione del 4-MEC in liquidi biologici prevedono una separazione in cromatografia liquida con rivelazione in assorbimento di luce ultravioletta⁽¹⁰⁾ o in spettrometria di massa tandem⁽¹¹⁻¹³⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del 4-metiletcatinone in urina e sangue⁽¹³⁾

Estrazione dei campioni

Una aliquota di 200 µl di sangue e urina, viene addizionata di 20 µl di una soluzione mefedrone d_3 , quale standard interno; 200 µl di tampone carbonato (pH 11) 0,5 M e 1 ml di n- butile cloruro. I campioni vengono centrifugati per 5 min e la fase organica trasferita in una provetta. Alla fase organica vengono aggiunti 100 µl di HCl 0,025 M, ed evaporati a 40-45°C. L'estratto evaporato viene ripreso con 100 µl di fase mobile ed iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: SB C18 (150 x 2,1 mm x 1,8 µm)

Fase Mobile A: 50% di acido formico in acetonitrile e 50% di acido formico in acqua

Fase Mobile B: acetato di ammonio 5 mM

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile A: tra 0.00-6.00 minuti, al 10%; tra 6.01-7,00 minuti al 100%; tra 7,01-17 minuti mantenuto al 10%)

Flusso: 0,3 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa tandem in modalità positiva

Temperatura del gas di evaporazione: 325°C

Pressione del gas di nebulizzazione: 40 psi

Voltaggio del capillare: 3500 V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

4-MEC: 4,21 min

mefedrone d₃: 3,4 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

4-MEC: m/z 192,1 → 174,1; 192,1 → 145,1; 192,1 → 91,1

mefedrone d₃: m/z 181,1 → 163,1; 192,1 → 181,1; 181,1 → 91,1

Standard

Gli standard utilizzati per le analisi, 4-MEC e mefedrone-d₃ sono stati acquistati presso la ditta LGC Standards (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina e plasma è stata preparata coprendo un range di concentrazioni 10-1000 ng/ml.

Risultati

Le analisi vengono eseguite su campioni di sangue e urina in tre diversi casi medico-legali: il primo riguarda un uomo morto in un incidente stradale, il secondo descrive una morte associata all'assunzione di più farmaci, il terzo un vivente arrestato per possesso di sostanze d'abuso illecite tra cui il 4 MEC. Il 4-metilecatinone identificato e quantificato nei campioni di sangue provenienti dai tre casi sopra riportati presenta concentrazioni di 152, 56 e 46 ng/ml, rispettivamente. Inoltre nei campioni di urina prelevati dal cadavere del primo caso, il 4 MEC è stato riscontrato in quantità di 14,3 mg/ml.

Bibliografia

1. http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_191982_EN_TDAS12001ENN.PDF
2. JANKOVICS P, VÁRADI A, TÖLGYESI L, LOHNER S, NÉMETH-PALOTÁS J, KOSZEGI-SZALAI H. Identification and characterization of the new designer drug 4'-methylethcathinone (4-MEC) and elaboration of a novel liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) screening method for seven different methcathinone analogs. *Forensic Sci Int.* 2011; 210: 213-220.
3. BRANDT SD, SUMNALL HR, FIONA MEASHAM, COLE J Analyses of second-generation 'legal highs' in the UK: Initial findings. *Drug Test Anal.* 2010; 2: 377-382.
4. ZUBA D, BYRSKA B. Prevalence and co-existence of active components of "legal highs". *Drug Test Anal.* 2013; 5: 420-429.
5. <http://talk.hyperreal.info>
6. Erowid. The Vaults of Erowid. 4-Methylethcathinone (4-MEC). https://www.erowid.org/chemicals/4_methylethcathinone/
7. <http://www.drugs-forum.com>
8. <http://www.bluelight.ru>
9. Sistema Nazionale di Allerta Precoce, Dipartimento Politiche Antidroga. (Prot. EWS 199/11 del 13/12/2011; Prot. EWS 247/12 del 05/12/2012).
10. MAYER M, BENKO A, HUSZÁR A, SIPOS K, LAJTAI A, LAKATOS A, PORPÁČZY Z. Simultaneous determination of 4-substituted cathinones (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC) in human urine by HPLC-DAD. *J Chromatogr Sci.* 2013; 51: 861-866.
11. SWORTWOOD MJ, BOLAND DM, DECAPRIO AP. Determination of 32 cathinone derivatives and other designer drugs in serum by comprehensive LC-QQQ-MS/MS analysis. *Anal Bioanal Chem.* 2013; 405: 1383-1397.
12. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, "spice" and stimulants in oral fluid. *J Chromatogr A.* 2012; 1258: 37-42.
13. GIL D, ADAMOWICZ P, SKULSKA A, TOKARCZYK B, STANASZEK R. Analysis of 4-MEC in biological and non-biological material-three case reports. *Forensic Sci Int.* 2013; 228: 11-15.

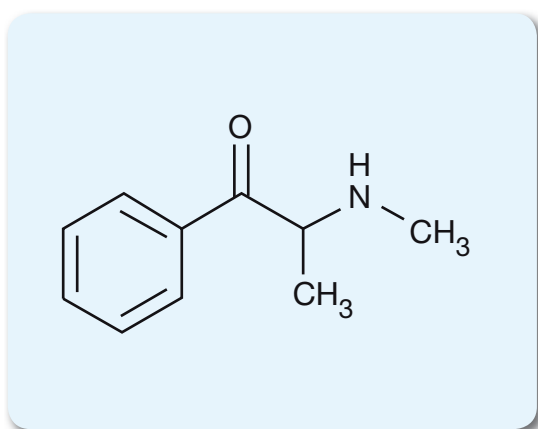
3.5 Efedrone

L'efedrone o metcattone (2-metilammino-1-fenilpropano), è analogo metilato del catinone, conosciuto anche col nome di Jeff e sintetizzato per la prima volta negli Stati Uniti nel 1928⁽¹⁾. Chiamato anche "Burn" (fuoco), a causa dell'irritazione alle prime vie aeree che l'inalazione della droga può provocare⁽²⁾.

Venne utilizzato in Unione Sovietica durante gli anni 1930-40 come antidepressivo⁽³⁾. Nel 1957, l'industria farmaceutica Parke-Davis aveva ottenuto il brevetto per utilizzare l'efedrone come anoressizzante, ma dopo la gravità degli effetti collaterali riscontrati negli animali da laboratorio (convulsioni tonico-cloniche, tremori, spasticità, incoordinamento dei movimenti), venne ritirato dall'iter della registrazione⁽⁴⁾.

Negli anni ottanta del ventesimo secolo, in seguito alla sottrazione dei microfilm della formula da parte di un gruppo di studenti dell'Università di Ann Arbor nel Wisconsin-Stati Uniti, si diffuse una produzione illecita di efedrone consumato insieme alle amfetamine, ai funghi allucinogeni contenenti psilocibina e alla fenciclidina⁽⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: efedrone.

Formula Molecolare: C₁₀H₁₃NO (peso molecolare = 163,2).

Sinonimi: Jeff, Burn.

Nome sistematico: 2-metilamino-1-fenil-propan-1-one.

Numero di registro CAS: 5650-44-2.

Punto di fusione: 176°C.

UVmax: 247,0 nm.

Solubilità: alcol metilico.

Uso

L'efedrone si presenta come polvere biancastra con qualche vena blu o gialla, dall'odore e sapore aspro. L'efedrone è di solito sniffato, fumato, iniettato o assunto per via orale⁽⁶⁾.

Se sniffato i suoi effetti si manifestano tra i 10 e i 20 minuti dopo l'assunzione; se ingerito tra i 30 e i 45 minuti, mentre se fumato dopo solo alcuni secondi. A seconda dei dosaggi, l'efedrone ha effetti che perdurano dalle 3-5 ore fino alle 24 ore⁽²⁾.

Legislazione

L'efedrone in Italia è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 2-amino-1-fenil-1-propanone, per una o più sostituzioni sull'anello aromatico e/o sull'azoto e/o sul carbonio terminale, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 poi modificato dal decreto ministeriale dell'11 giugno 2012 (G.U. Serie Generale n. 142 del 20 giugno 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

L'efedrone risulta essere sotto controllo negli Stati Uniti, in Olanda e nel Regno Unito^(7,8).

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'efedrone è un anoressizzante potente, ma pericolosissimo per l'elevata tossicità⁽²⁾. Aumenta la tolleranza per l'alcol, ed è soprattutto utilizzato come stimolante delle performance fisiche e sessuali⁽²⁾. L'efedrone rimuove il senso di stanchezza e di appetito, esalta la capacità di movimento e le prestazioni fisiche, genera stati d'euforia e di grande loquacità, nonché una

tendenza alla socializzazione e allo scardinamento dei freni inibitori con momenti di agitazione interiore e di iperattività. I dati farmacocinetici e farmacodinamici dell'efedrone nell'uomo sono purtroppo molto scarsi. Al momento si dispone di una conoscenza molto parziale dei meccanismi d'azione e del metabolismo di questi catinoni sintetici che possono comunque essere assimilati nel meccanismo d'azione alle feniletilammine (es. MDMA). Avrebbero quindi la capacità di modulare il rilascio di serotonina, generando pertanto effetti psicoattivi differenti⁽⁹⁾.

Tossicità

Una sindrome parkinsoniana persistente, associata all'uso illecito, per via endovenosa, è stata identificata in molti assuntori di efedrone⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

Tuttavia, piuttosto che la droga stessa, alcuni studiosi ritengono che ne sia responsabile la soluzione contenente manganese usata per miscelare il farmaco⁽¹¹⁾.

Uno studio condotto su 23 adulti consumatori di efedrone per via iniettiva che avevano sviluppato sintomi extrapiramidali quali disturbi dell'andatura e della parola, ha rilevato modificazioni del segnale dei gangli basali alla risonanza magnetica ed elevati livelli ematici di manganese⁽¹¹⁾.

Altri studi confermano che il permanganato di potassio usato nel processo di ossidazione di efedrina o pseudoefedrina per formare metcatinone è la fonte di manganese alla base degli effetti neurotossici⁽¹²⁾.

Effetti avversi

L'efedrone danneggia il sistema circolatorio. Inizialmente i suoi effetti appaiono minimi, ma è facile incorrere nel rischio di sovradosaggio dopo ripetute assunzioni. Un sovradosaggio può causare palpitazioni, disturbi gastrici, irrequietezza e disturbi del sonno⁽¹³⁾.

Alcuni consumatori lamentano un aumento dello stimolo e difficoltà ad urinare, altri cadono in stati depressivi con lo svanire degli effetti.

Esiste il pericolo di dipendenza per un uso prolungato. Nel caso di assunzioni frequenti, i rischi fisici e psichici e le modalità di consumo sono simili a quelli, della cocaina o della amfetamina e metamfetamina. In laboratorio è stato osservato su cavie animali anche il cosiddetto "craving" (forte impulso ad aumentare continuamente il consumo)⁽¹⁴⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura interazioni farmacologiche note.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le tecniche analitiche utilizzate per l'identificazione dell'efedrone in urina prevedono l'impiego di estrazioni liquido/liquido, seguite da processi di derivatizzazione (acilazione) e di determinazione con gas cromatografia associata alla spettrometria di massa ad impatto elettronico; l'identificazione nel plasma prevede l'estrazione della sostanza in fase solida e determinazione mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa tandem⁽¹⁵⁻¹⁹⁾. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dell'efedrone nelle urine⁽²⁰⁾

Estrazione dei campioni

2 ml di urina, addizionati con 100 µl di amfetamina d_6 e metamfetamina d_9 , vengono portati a pH 10 con 1,5 ml di Na_2CO_3 1,5M ed estratti con 3 ml di clorobutano. Alla fase organica vengono aggiunti 2 ml di H_2SO_4 . Dopo centrifugazione la fase organica viene eliminata, alla soluzione acida vengono aggiunti 0,3 ml di NaOH 1M ed 1ml Na_2CO_3 1,5M, fino a raggiungere pH 10 e 3 ml di clorobutano. Dopo centrifugazione, la fase organica è portata a secco sotto flusso di azoto, e derivatizzata con 50 µl di 4-carboetossiesafuorobutirril cloruro (4CB).

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: DB-5 J & W Scientific (0,25 mm x 15 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 250°C

Gas: elio al flusso di 1 ml/min

Modalità di iniezione: splitless

Programmata di temperatura: 140°C a 220°C a 20°C/min, 250°C 30°C/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

catinone: 4,60 min

efedrone: 4,56 min

amfetamina d_6 (standard interno): 3,88 min

metamfetamina d_9 (standard interno): 4,30 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

catinone: m/z 294, 266, 248, 105

efedrone: m/z 308, 280, 262, 105

amfetamina d_6 (standard interno): m/z 298, 270

metamfetamina d_9 (standard interno): m/z 315, 287

Standard

Gli standard utilizzati per le analisi sono stati acquistati presso la Radian Internationalb (Austin, Texas, USA).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni da 12,5-5000 ng/ml.

Risultati

Questa metodica è stata applicata per testare 66 campioni di urina di consumatori di psicostimolanti positivi a metodologie di screening per amfetamina e metamfetamina. Di questi, sette sono risultati positivi all'efedrone (13-91 ng/ml), e tre positivi al catinone (118 e 3266 ng/ml).

Bibliografia

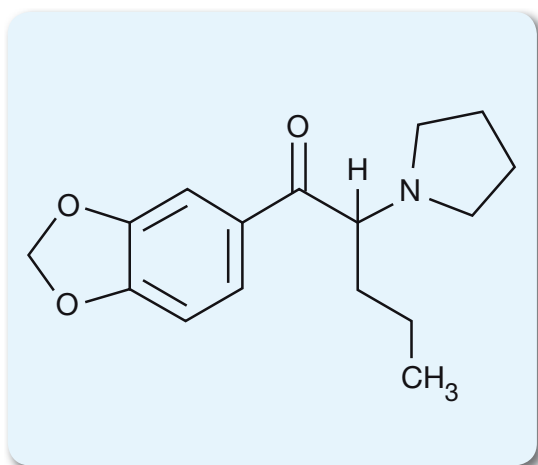
1. HYDE JF, BROWNING E, ADAMS R. "Synthetic Homologs of d,l-Ephedrine". *J Am Chem Soc.* 1928; 50: 2287-2292.
2. CALKINS RF, AKTAN GB, HUSSAIN KL. Methcathinone: The Next Illicit Stimulant Epidemic? *Journal of Psychoactive Drugs.* 1995; 27: 277-285.
3. EMERSON TS, CISEK JE. Methcathinone: a Russian designer amphetamine infiltrates the rural midwest. *Ann Emerg Med.* 1993; 22: 1897-1903.
4. GLENNON RA, YOUNG R, MARTIN BR, DAL CASON TA. Methcathinone ("cat"): an enantiomeric potency comparison. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995; 50: 601-606.
5. SIEGEL RK. New trends in drug use among youth in California. *Bull Narc.* 1985; 37: 7-17.
6. BONANO JS, GLENNON RA, DE FELICE LJ, BANKS ML, NEGUS SS. Abuse-related and abuse-limiting effects of methcathinone and the synthetic "bath salts" cathinone analogs methylenedioxypropylvalerone (MDPV), methylone and mephedrone on intracranial self-stimulation in rats *Psychopharmacology* 2014; 231: 199-207.
7. <http://www.drugfree.org/drug-guide/methcathinone>
8. https://www.unodc.org/pdf/convention_1971_en.pdf
9. COX G, RAMPES H. Adverse effects of khat: a review. *Adv Psychiatr Treat* 2003; 9: 456-463.
10. STEPENS A, LOGINA I, LIGUTS V, ALDINS P, EKSTEINA I, PLATKAJIS A, MARTINSONE I, TERAUDS E, ROZENTALE B, DONAGHY M. Parkinsonian syndrome in methcathinone users and the role of manganese. *N Engl J Med.* 2008; 358: 1009-1017.
11. STEPENS A, STAGG CJ, PLATKAJIS A, BOUDRIAS MH, JOHAN SEN-BERG H, DONAGHY M. White matter abnormalities in methcathinone abusers with an extrapyramidal syndrome. *Brain* 2010; 133: 3676-3684.
12. SIKK K, HALDRE S, AQUILONIUS SM, ASSER A, PARIS M, ROOSE A, PETERSON J, ERIKSSON SL, BERGQUIST J, TABA P. Manganese-induced parkinsonism in methcathinone abusers: bio-markers of exposure and follow-up. *Eur J Neurol.* 2013; 20: 915-920.
13. COPPOLA M, MONDOLA R. Synthetic cathinones: Chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as "bath salts" or "plant food". *Toxicol Lett.* 2012; 211: 144-149.
14. DEIK A, SAUNDERS-PULLMAN R, LUCIANO MS. Substance abuse and movement disorders: complex interactions and comorbidities. *Curr Drug Abuse Rev.* 2012; 5: 243-253.
15. MEYER MR, WILHELM J, PETERS FT, MAURER HH. Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 397: 1225-1233.
16. DAVIES S, ARCHER R, RAMSEY J. Analytical profiles of Methcathinone related compounds. London Toxicology Group 2009.
17. BEYER J, PETERS FT, KRAEMER T, MAURER HH. Detection and validated quantification of nine herbal phenalkylamines and methcathinone in human blood plasma by LC-MS/MS with electrospray ionization. *J. Mass Spectrom.* 2007; 42: 150-160.
18. CZARNY RJ, HORNBECK CL. Quantitation of methamphetamine and amphetamine in urine by capillary GC/MS. Part II. Derivatization with 4-carboethoxyhexafluorobutryl chloride. *J Anal Toxicol.* 1989; 13: 257-262.
19. PICHINI S, PUJADAS M, MARCHEI E, PELLEGRINI M, FIZ J, PACIFICI R, ZUCCARO P, FARRE M, DE LA TORRE R. Liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation electrospray mass spectrometry determination of 'hallucinogenic designer drugs' in urine of consumers. *J Pharmacol Biomed Anal.* 2008; 47: 335-342.
20. PAUL BD, COLE KA. Cathinone (Khat) And Methcathinone (CAT) In Urine Specimens: A Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Detection Procedure. *J Anal Toxicol.* 2001; 25: 525-530.

3.6 Metilendiossirovalerone

Il Metilendiossirovalerone (MDPV) introdotto sul mercato tedesco nel 2007 come nuova sostanza psicoattiva di sintesi al tempo legale, è un catinone sintetico analogo del pirovalerone, sintetizzato per la prima volta nel 1969 per il trattamento della fatica cronica e come anoressizzante, ritirato poi dal mercato per problemi di abuso e dipendenza^(1,2). Differisce dal pirovalerone per la presenza sull'anello aromatico, in sostituzione del 4-metile, del gruppo 3,4-metilendiossi, comune ai 3,4-metilendiossi-derivati-amfetaminici psicostimolanti⁽³⁾. Il metilendiossirovalerone è venduto su siti telematici come "sale da bagno" (es: "Ivory wave", "Vanilla sky", "White Rush", "Bath salt") con l'indicazione "per uso esterno".

Questo catinone sintetico è stato segnalato per la prima volta nel 2008 al Sistema di Allerta Rapido Europeo dal Regno Unito e dalla Finlandia dopo essere stato associato ad una serie di effetti avversi per la salute⁽⁴⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: metilendiossirovalerone (3,4-metilendiossirovalerone).

Sinonimi: MDPK, MTV, Magic, Maddie, PV.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{21}NO_3$ (peso molecolare = 275,3).

Nome sistematico: (*RS*)-1-(benzo[d][1,3]diossol-5-il)-2-(pirrolidin-1-il) pentan-1-one.

Numero di registro CAS: 687603-66-3.

Punto di fusione: 209,3°C.

UVmax: 231 nm.

Solubilità: alcol metilico.

Uso

La sostanza appare come una polvere bianca, igroscopica e con un leggero odore, che aumenta quando la polvere è esposta all'aria con un contemporaneo imbrunimento del colore. Nonostante la sua somiglianza strutturale a metilendiossiderivati della metamfetamina, quale la 3,4-metilendiossimetamfetamina (MDMA), l'MPDV è in grado di produrre effetti puramente stimolanti. È noto per la sua tendenza a causare necessità compulsiva di riassunzione e alcuni utenti segnalano eccitazione sessuale come uno fra i maggiori effetti⁽⁵⁾.

Legislazione

Il metilendiossirovalerone è stato inserito con decreto ministeriale dell'11 maggio 2011 (G.U. Serie Generale n. 112 del 16 maggio 2011) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Inoltre, il metilendiossirovalerone, risulta essere una sostanza posta sotto controllo in: Svezia, Danimarca, Finlandia, Regno Unito, Romania, Irlanda, Germania e negli Stati Uniti.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il metilendiossirovalerone è stato sintetizzato per la prima volta nell'ambito della ricerca di molecole della serie degli 1-[(3,4-metilendiossi)fenil]-2-pirrolidino-1-alcanoni, per valutarne l'azione stimolante, a causa di una potenziale capacità di penetrare la barriera ematoencefalica più elevata rispetto ad altri suoi analoghi⁽¹⁾. Una ricerca condotta su ratti,

ai quali sono stati somministrati 0.05, 0.1 o 0.2 mg/kg di metilendiossiprovalerone per valutare le eventuali proprietà di dipendenza, ha dimostrato che questa sostanza attiva la trasmissione della noradrenalina e della dopamina esercitando dipendenza in modo analogo a quanto osservato per la metamfetamina, suggerendo un potenziale di abuso e dipendenza nell'uomo⁽⁶⁻⁸⁾.

Nonostante possieda una struttura simile ai metilendiossi derivati amfetaminici, gli effetti dell'MDPV differiscono dagli altri derivati fenilalchilaminici come la MDMA, in quanto sono prevalentemente psicostimolanti senza le proprietà entactogeniche e di empatia proprie di questi ultimi derivati⁽⁹⁾.

Esperimenti in vitro e su animali, hanno dimostrato che l'MDPV prolunga gli effetti di due importanti neurotrasmettitori, la dopamina e la norepinefrina, bloccandone il riassorbimento nel cervello, conducendo ad iperattività, tachicardia ed un aumento della pressione sanguigna, sintomi che possono rivelarsi molto pericolosi per gli assuntori⁽²⁾. In genere assunto per inalazione o per via orale, gli effetti durano tra le due e le sette ore con un picco tra i trenta minuti e le due ore. Come già descritto, gli assuntori tendono a riassumere la molecola per rinnovare le sensazioni soggettive psicostimolanti di euforia, socialità, produttività ed energia. Dati aneddotici riportano che la molecola già attiva alla dose di 3-5 mg, ma le dosi tipiche assunte per os o per inalazione variano tra i 5 e i 20 mg. Il metilendiossiprovalerone perde parte della sua efficacia se messo in soluzione^(10,11).

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici, né in modello animale né nell'uomo, volti a stabilire la tossicità acuta e cronica del metilendiossiprovalerone.

Effetti avversi

I più comuni effetti avversi riportati a seguito dell'assunzione di catinoni sintetici includono importanti sintomatologie cardiache, psichiatriche e neurologiche⁽¹¹⁾.

Gli effetti sul sistema nervoso centrale durano approssimativamente 3 o 4 ore, con effetti postumi quali tachicardia, ipertensione e modesta stimolazione che persistono dalle 6 alle 8 ore⁽¹²⁾. Ad alti dosaggi la sostanza può provocare intensi e prolungati attacchi di panico, episodi di psicosi gravi ed infine è stato anche osservato un caso di emiplegia^(13,14). Studi su modello animale hanno dimostrato che il metilendiossiprovalerone blocca il trasportatore di monoamine con maggiore potenza e selettività rispetto alla cocaina nel caso specifico delle catecolamine⁽¹⁵⁾. La potente stimolazione dopaminergica spiega gli effetti avversi osservati negli utilizzatori di alte dosi di questa sostanza, effetti che hanno portato anche ad un caso di decesso⁽¹⁶⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche del metilendiossiprovalerone.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Recenti studi in vitro su microsomi epatici hanno permesso di mettere in luce il metabolismo del metilendiossiprovalerone sia di fase I ad opera del CYP450, che di fase II ad opera di uridina 5'-difosfoglucuronosiltransferasi (UGT) e di sulfotransferasi (SULT). L'identificazione dei principali metaboliti è stata effettuata in gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa dopo estrazione in ambiente alcalino, neutro e acido e successiva derivatizzazione per ottenere i TMS-derivati. L'identificazione dei metaboliti è stata confermata in cromatografia liquida-spettrometria di massa a tempo di volo con misurazione della massa esatta. I risultati hanno evidenziato che il MDPV viene metabolizzato solo per un 20% del farmaco parente a catecol- e metilcatecol-pirovalerone, intermedi che vengono coniugati successivamente

come sulfonati e glucuronati⁽¹⁷⁾. È stato inoltre recentemente dimostrato che il MDPV fornisce una falsa positività alla fenilciclidina, quando si usano alcuni kit immunologici per la identificazione rapida di sostanze d'abuso nelle urine⁽¹⁸⁾. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del metilendiossiprovalerone nelle urine e nel sangue⁽¹⁹⁾

Estrazione dei campioni

Ad 1 ml di campione (urina, sangue) vengono aggiunti 50 µl di standard interno (MDPV_d), 50 µl di idrossido di ammonio, e pochi granuli di cloruro di sodio per evitare l'emulsione nella successiva estrazione liquido-liquido. Il campione viene estratto con 3 ml di cloruro di metilene-cloruro di n-butile 1:4 v/v. Dopo centrifugazione, la fase organica viene portata a secco sotto flusso di azoto e il residuo ripreso con 200 µl di alcol metilico, di cui 10 µl vengono iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Agilent XDB-C18 (150 x 4,6 mm x 3 µm)

Fase Mobile A: 50% di alcol metilico e 50% acetonitrile

Fase Mobile B: acetato di ammonio 5 mM

Modalità di separazione: gradiente lineare (fase mobile A: tra 0.00-6.00 minuti, al 50%; tra 6.01-6.50 minuti dal 50% al 90%; tra 6.51-10.0 minuti mantenuto al 90%; tra 10.01- 10.5 minuti dal 90% al 50%; tra 10.5-12 minuti mantenuto al 50%)

Flusso: 0,8 ml/min

Temperatura del gas di evaporazione: 350°C

Pressione del gas di nebulizzazione: 50 psi

Voltaggio del capillare: 3500 V

Rivelatore: spettrometro di massa tandem in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

metilendiossiprovalerone: 7,94 min

metilendiossiprovalerone d₈ (standard interno): 6,65 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

metilendiossiprovalerone: m/z 276,2 → 276,2; 276,2 → 175,0

metilendiossiprovalerone d₈ (standard interno): m/z 284,0 → 149,0

Standard

Gli standard utilizzati per le analisi sono stati acquistati dalla Lipomed (Cambridge, Massachusetts, USA).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in sangue e urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni da 5 a 200 ng/ml.

Risultati

La quantità di metilendiossiprovalerone nei campioni di sangue di soggetti intossicati con la sostanza variava da 6 a 368 ng/ml, mentre nel caso di campioni di sangue post mortem la concentrazione variava da 10 a 640 ng/ml. Nel caso delle urine, la concentrazione di MDVP variava da 200 ad oltre 6100 mg/ml.

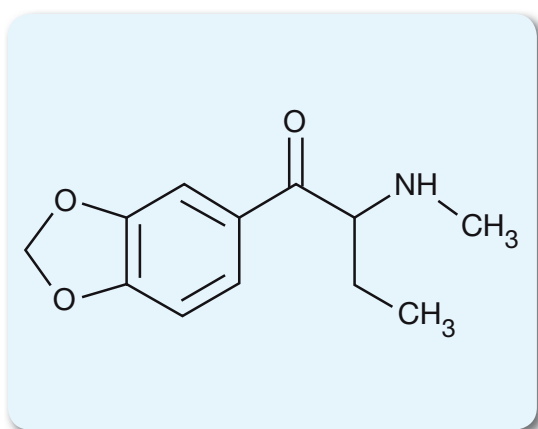
Bibliografia

1. Boehringer Ingelheim Patent for MDPV (http://catbull.com/alamut/bibliothek/Boehringer_MVPV_patent.htm).
2. COPPOLA M, MONDOLA R. "3,4-Methylenedioxypropylvalerone (MDPV): Chemistry, pharmacology and toxicology of a new designer drug of abuse marketed online". *Toxicol Lett.* 2012; 208: 12-15.
3. BRANDT SD, FREEMAN S, SUMNALL HR, MEASHAM F, COLE J. Analysis of NRG 'legal highs' in the UK: identification and formation of novel cathinones. *Drug Test Anal.* 2011; 3: 569-575.
4. European Monitoring Centre for drugs and drug addiction and European Police office, "EMCDDA-Europol 2010 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA Lisbon 2011.
5. http://www.erowid.org/chemicals/mdpv/mdpv_effects.shtml
6. SIMMLER LD, BUSER TA, DONZELLI M, SCHRAMM Y, DIEU LH, HUWYLER J, CHABOZ S, HOENER MC, LIECHTI ME. Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. *Br J Pharmacol.* 2013; 168: 458-470.
7. WESTPHAL F, JUNGE T, RÖSNER P, SÖNNICHSEN F, SCHUSTER F. 'Mass and NMR spectroscopic characterization of 3,4-methylenedioxypropylvalerone: a designer drug with alpha pyrrolidinophenone structure. *Forensic Sci Intern.* 2009; 190: 1-8.
8. BONANO JS, GLENNON RA, DE FELICE LJ, BANKS ML, NEGUS SS. Abuse-related and abuse-limiting effects of methcathinone and the synthetic "bath salts" cathinone analogs methylenedioxypropylvalerone (MDPV), methylone and mephedrone on intracranial self-stimulation in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2014; 231: 199-207.
9. WATTERSON LR, KUF AHL PR, NEMIROVSKY NE, SEWALIA K, GRABENAUER M, THOMAS BF, MARUSICH JA, WEGNER S, OLIVE MF. Potent rewarding and reinforcing effects of the synthetic cathinone 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV). *Addict Biol.* 2014; 19: 165-174.
10. SPILLER HA, RYAN ML, WESTON RG, JANSEN J. Clinical experience with and analytical confirmation of "bath salts" and "legal highs" (synthetic cathinones) in the United States. *Clin Toxicol.* 2011; 49: 499-505.
11. ROSS EA, WATSON M, GOLDBERGER B. "Bath salts" intoxication. *N Engl J Med.* 2011; 365: 967-968.
12. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Emergency department visits after use of a drug sold as "bath salts"--Michigan, November 13, 2010-March 31, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2011; 60: 624-627.
13. BOSHUISEN K, ARENDS JE, RUTGERS DR, FRIJNS CJ. A young man with hemiplegia after inhaling the bath salt "Ivory wave". *Neurology.* 2012; 78: 1533-1534.
14. MELTZER PC, BUTLER D, DESCHAMPS JR, MADRAS BK. 1-(4-Methylphenyl)-2-pyrrolidin-1-yl-pentan-1-one (Pyrovalerone) analogues: a promising class of monoamine uptake inhibitors. *J Med Chem.* 2006; 49: 1420-1432.
15. BAUMANN MH, PARTILLA JS, LEHNER KR, THORNDIKE EB, HOFFMAN AF, HOLY M, ROTHMAN RB, GOLDBERG SR, LUPICA CR, SITTE HH, BRANDT SD, TELLA SR, COZZI NV, SCHINDLER CW. Powerful cocaine-like actions of 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV), a principal constituent of psychoactive 'bath salts' products. *Neuropsychopharmacology.* 2013; 38: 552-562.
16. WYMAN JF, LAVINS ES, ENGELHART D, ARMSTRONG EJ, SNELL KD, BOGGS PD, TAYLOR SM, NORRIS RN, MILLER FP. Postmortem Tissue Distribution of MDPV Following Lethal Intoxication by "Bath Salts" *J Anal Toxicol.* 2013; 37: 182-185.
17. STRANO-ROSSI S, CADWALLADER AB, DE LA TORRE X, BOTRÈ F. Toxicological determination and in vitro metabolism of the designer drug methylenedioxypropylvalerone (MDPV) by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun in Mass Spectrom.* 2010; 24: 2706-2714.
18. MACHER AM, PENDERS TM. False-positive phencyclidine immunoassay results caused by 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV). *Drug Test Anal.* 2013; 5: 130-132.
19. MARINETTI LJ, ANTONIDES HM. Analysis of synthetic cathinones commonly found in bath salts in human performance and postmortem toxicology: method development, drug distribution and interpretation of results. *J Anal Toxicol.* 2013; 37: 135-146.

3.7 Butilone

Il butilone (beta cheto MBDB o bkMBDB) è un catinone sintetico, beta-cheto analogo dell'1,3-benzodiossoli-N-metilbutanamina (o MBDB) metildiossiderivato amfetaminico psicoattivo dalla quale differisce per la presenza di un gruppo chetonico in posizione β all'ammina. In questo senso, è strutturalmente correlato all'entactogeno MBDB come il metilone lo è alla 3,4 metilendiossimetamfetamina (MDMA)⁽¹⁾. Sintetizzato da Koeppel, Ludwig e Zeile nel 1967, è rimasto un prodotto sconosciuto fino al 2005, quando è stato commercializzato da una società di approvvigionamento di sostanze chimiche giapponese e da allora ha continuato ad essere venduto su siti telematici come prodotto chimico ad uso esclusivo di ricerca⁽²⁾. In realtà, nei siti di utilizzatori di sostanze psicoattive, il butilone viene pubblicizzato e consigliato come composto psicoattivo stimolante con effetti assimilabili alle fenetilamine entactogeniche⁽³⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: butilone.

Sinonimi: supercoke, bk-MBDB.

Formula Molecolare: $C_{12}H_{15}NO_3$ (peso molecolare = 221,2).

Nome sistematico: 2-Metilamino-1-(3,4-metilendiossifenil)butan-1-one; 1-(1,3-benzodiossol-5-il)-2-(metilamino)butan-1-one.

Numero di registro CAS: 17762-90-2.

Punto di fusione: 243°C (sale cloridrato).

UVmax: 234 nm.

Solubilità: alcol metilico.

Uso

Il butilone è principalmente reperibile sul mercato online e viene venduto generalmente sotto forma di capsule da 1, 10 o 20 g come “fertilizzante per bonsai”⁽³⁾. Il cloridrato si presenta come polvere bianca fina e cristallina⁽³⁾.

Viene assunto come sostanza ricreazionale per i suoi effetti empatogeni ed euforizzanti, simili ma meno potenti di quelli prodotti dai 3,4 metilendiossi derivati amfetaminici (MDMA ed MBDB). Non esistono comunque in letteratura studi clinici controllati sul butilone, ma solo notizie aneddotiche riportate dai consumatori sui forum telematici⁽³⁾.

Le esperienze riportate descrivono il butilone come una sostanza non particolarmente efficace se consumata da sola; sembra risultare, invece, altamente stimolante se mescolata al metilone, il metil-analogo del butilone. Le due sostanze mescolate vengono consumate per via nasale (sniffate)⁽⁴⁾. Secondo quanto riportato dai consumatori, l'effetto per assunzioni inferiori al grammo dura circa un paio d'ore ed è un effetto di tipo euforizzante che amplifica i suoni, le luci e le sensazioni tattili⁽⁵⁾.

Legislazione

Il butilone, è stato inserito, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 (G.U. Serie Generale n. 3 del 4 gennaio 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Ad oggi, il commercio, la detenzione e l'uso del butilone sono vietati in Danimarca, Norvegia, Romania, Svezia, Regno Unito, Irlanda e Stati Uniti⁽⁶⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Al momento si dispone di una conoscenza molto parziale ed aneddotica, non supportata da studi clinici su modello animale e/o umano, riguardo i meccanismi d'azione e metabolismo del butilone. Similmente ai 3,4 metilendiossiderivati delle amfetamine, questi catinoni hanno la capacità di modulare il rilascio di serotonina, generando pertanto effetti psicoattivi differenti⁽⁷⁾.

La via metabolica principale del butilone vede la demetilazione dell'anello metilendiossi, seguita da O-metilazione operata dalla catecol-O-metiltrasferasi (COMT) che trasforma la molecola parente nel corrispondente 4-idrossi-3-metossi metabolita. Questo metabolita viene quindi parzialmente coniugato a metabolita glucuronato e solfato. Una via metabolica secondaria sembra essere rappresentata dalla N-dealchilazione della molecola parente⁽⁷⁾.

Tossicità

Analogamente ad altri stimolanti, si può supporre che il rischio di tossicità del butilone sia correlato alle dosi utilizzate, ma non esistono studi su modello animale o sull'uomo che stabiliscano una dose minima di tossicità⁽⁸⁾. Come per altre sostanze stimolanti serotoninergiche, i decessi sono generalmente connessi a tossicità simpatomimetica accompagnata da problemi cardiaci ed emorragie cerebrali⁽⁸⁾.

Effetti avversi

Le scarse informazioni di tipo aneddotico riportano che il butilone provoca intossicazioni simili a quelle dei metilendiossiderivati anfetaminici con sintomi quali: eccitazione, tachicardia, rialzo pressorio, sudorazione, bruxismo⁽³⁾.

I più comuni effetti avversi riportati a seguito dell'assunzione di catinoni sintetici includono importanti sintomatologie cardiache, psichiatriche e neurologiche⁽⁷⁾. Un significativo aumento di intossicazioni da catinoni sintetici è stato segnalato in Europa a partire dal 2010^(9,10).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche note.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche presenti in letteratura internazionali per la determinazione del butilone e dei suoi metaboliti prevedono l'uso combinato di cromatografia liquida e gassosa accoppiata alla spettrometria di massa per l'identificazione della sostanza parente e dei metaboliti nelle urine umane e di ratto^(11,12). Esiste poi una metodologia in cromatografia-liquida spettrometria di massa tandem per la determinazione simultanea di butilone e metilone ed altre "designer drugs" psicostimolanti nelle urine di assuntori⁽¹³⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del butilone e del metilone nelle urine⁽¹³⁾

Estrazione dei campioni

Una aliquota di 1 ml di urina viene centrifugata per 5 min. Dopo l'eliminazione dell'eventuale sedimento, vengono aggiunti 50 µl di una soluzione di 3,4 metilendiossietilamfetamina deuterata (MDEA-d₅, 10 pg/ml) quale standard interno. Il campione viene agitato su vortex per 10 minuti e quindi diluito 1:4 (v/v) con una soluzione al 98% di acetato di ammonio 20 mM, portato a pH con acido formico 0,1% e 2% acetonitrile. Il campione così diluito viene iniettato direttamente nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Acquity UPLC BEH C18 (2,1 × 50 mm x 0,2 μm)

Temperatura della colonna: 35°C

Fase mobile A: Ammonio Formiato 20 mM/ Acido Formico 0,1%

Fase mobile B: Acetonitrile/ Acido Formico 0,1%

Modalità di separazione: gradiente lineare (dal 2% di B al 25% di B in 2,5 minuti e mantenuto al 25% per 1 minuto. Dal 25% di B al 40% di B in 4.2 minuti. Dal 40% di B al 2% di B in 4.3 minuti).

Flusso: 0,4 ml/min

Temperatura del gas di evaporazione: 400°C

Temperatura della sorgente 120°C

Voltaggio del capillare: 1.00 kV

Rivelatore: spettrometro di massa tandem in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

butilone: 2,17 min

metilone: 1,79 min

MDEA-d₅ (standard interno): 2,28 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

butilone: m/z 222,0 → 173,9; 222,0 → 203,9

metilone: m/z 208,0 → 131,9; 208,0 → 159,0

MDEA-d₅ (standard interno): m/z 213,0 → 163,0

Standard

Gli standard utilizzati nelle analisi si possono acquistare presso la ditta Sigma Aldrich (Poole, Dorset, Regno Unito).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni da 500 a 2000 ng/ml sia per il butilone che per il metilone.

Risultati

Il butilone ed il metilone risultano presenti in uno solo dei campioni di urina tra quelli esaminati. È stata effettuata la sola identificazione delle sue sostanze e non la quantificazione.

Analisi di un fertilizzante per piante denominato “Fiore”

(a cura del Laboratorio di analisi del Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping del Dipartimento del Farmaco dell’Istituto Superiore di Sanità).

Il Prodotto “Fiore” sottoposto a sequestro da parte dei Carabinieri per la tutela della salute (NAS) in quanto sospettato di contenere catinoni sintetici si presentava come una confezione in plastica con etichetta e conteneva all'interno 15 capsule di colore verde e giallo. L’etichetta riportava la seguente composizione: “Concime minerale composto N azoto 35%, O ossigeno 35%, H idrogeno 30%. Contiene una miscela di elementi di traccia vitamine, enzimi e ormoni vegetali e naturali. Dose consigliata: una capsula con 1 litro d’acqua. Prodotto non destinato ad uso umano. Somministrare alla formazione dei germogli, inserire ed innaffiare. Per una migliore fioritura può essere utilizzato con composta di vermi, Bio Upgrade o sterco”. Il sequestro era motivato da una indagine relativa ad una allerta di grado 3, diramata dal Ministero della Salute e correlata ad un caso di intossicazione acuta, a seguito dell’utilizzo improprio del concime denominato “Fiore”.

Analisi per la ricerca di sostanze con attività farmacologica o dopante, con particolare riferimento ai catinoni sintetici

L'analisi del prodotto è stata effettuata mediante l'utilizzo di un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa.

Estrazione dei campioni

10 mg di prodotto (polvere bianca) vengono solubilizzati in 5 ml di alcol metilico. La soluzione così ottenuta viene divisa in quattro aliquote: una che viene immediatamente iniettata nel gas cromatografo, una dopo derivatizzazione 30 min a 70°C con 50 µl N-Metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamide, una dopo derivatizzazione 30 min a 70°C con 50 µl di anidride trifluoroacetica e una dopo derivatizzazione 30 min a 70°C con 50 µl dianidride pentafluoropropionica.

Condizioni strumentali

Colonna Cromatografica: 1DB-MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura Iniettore: 260°C

Gas: Elio a 11,60 psi

Modalità di iniezione: Split:15:1

Programmata di temperatura: 100°C per 2 minuti, 100°C-230°C a 18C°/minuto per 2 minuti, 230°C-290°C a 20C°/minuto per 3 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

butilone: 10,1 min

metilone: 9,5 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

butilone: m/z 221, 149, 121, 72

metilone: m/z 207, 149, 121, 58

Curva di calibrazione

Poiché il laboratorio non era in possesso di standard analitici certificati delle due sostanze, non è stato possibile effettuare una curva di calibrazione.

Risultati

Il butilone ed il metilone sono stati identificati sul materile in polvere, sia dopo la solubilizzazione in alcol metilico che dopo le tre derivatizzazioni, mediante il confronto tra gli spettri di massa registrati con gli spettri di massa riportati in letteratura⁽¹⁷⁾.

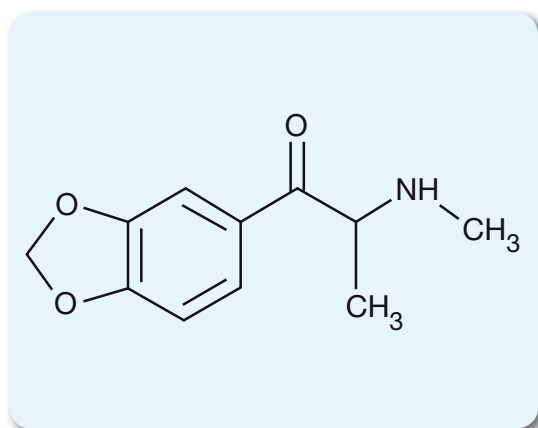
Bibliografia

1. EMCDDA, EDND database, Butylone, 2011.
2. UCHIYAMA N, KIKURA-HANAJIRI R, KAWAHARA N, GODA Y. Analysis of designer drugs detected in the products purchased in fiscal year 2006. *Yakugaku Zasshi*. 2008; 128: 1499-1505.
3. http://www.erowid.org/chemicals/bk_mbdb/bk_mbdb.shtml.
4. Dipartimento Politiche Antidroga - Informativa "Rinvenuta in Val di Susa (TO) capsula contenente butilone (bk-MBDB).
5. PROSSER JM, NELSON LS. The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. *J Med Toxicol*. 2012; 8: 33-42.
6. DEA moves to emergency control synthetic stimulants. <http://www.justice.gov/dea/pubs/pressrel/pr090711.html>. Last accessed 09/07/2011
7. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Emergency department visits after use of a drug sold as "bath salts"--Michigan, November 13, 2010-March 31, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011; 60: 624-627.
8. WOOD DM, DAVIES S, CUMMINS A, BUTTON J, HOLT DW, RAMSEY J, DARGAN PI. Energy-1 ('NRG-1'): don't believe what the newspapers say about it being legal. *Emerg Med J*. 2011; 28: 1068-1070.
9. CENTER, U.S.D.O.J.N.D.I. Synthetic cathinones (bath salts): an emerging domestic threat. 2011
10. FRÖHLICH S, LAMBE E, O'DEA J. Acute liver failure following recreational use of psychotropic "head shop" compounds. *Ir J Med Sci*. 2011; 180: 263-264.
11. ZAITSU K, KATAGI M, KAMATA HT, KAMATA T, SHIMA N, MIKI A, TSUCHIHASHI H, MORI Y. Determination of the metabolites of the new designer drugs bk-MBDB and bk-MDEA in human urine. *Forensic Sci Int*. 2009; 188: 131-139.
12. MEYER MR, WILHELM J, PETERS FT, MAURER HH. Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2010; 397: 1225-1233.
13. BELL C, GEORGE C, KICMAN AT, TRAYNOR A. Development of a rapid LC-MS/MS method for direct urin alysis of designer drugs. *Drug Test Anal*. 2011; 3: 496-504.
14. PICHINI S, PUJADAS M, MARCHEI E, PELLEGRINI M, FIZ J, PACIFICI R, ZUCCARO P, FARRE M, DE LA TORRE R. Liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation electrospray mass spectrometry determination of 'hallucinogenic designer drugs' in urine of consumers. *J Pharmacol Biomed Anal*. 2008; 47: 335-342.
15. EICHHORST JC, ETTER ML, ROUSSEAU N, LEHOTAY DC. Drugs of abuse testing by tandem mass spectrometry: a rapid, simple method to replace immunoassays. *Clin. Biochem*. 2009; 42: 1531-1542.
16. MARINETTI LJ, ANTONIDES HM. Analysis of synthetic cathinones commonly found in bath salts in human performance and postmortem toxicology: method development, drug distribution and interpretation of results. *J Anal Toxicol*. 2013; 37: 135-146.
17. WESTPHAL F, JUNGE T, RÖSNER P, GIRRESER U, FRITSCH R. Massenspektrometrische, infrarotspektroskopische und NMR-spektroskopische Daten von Mephedron, Butylon und Methylon sowie einigen ihrer Derivate. *Toxichem Krimtech*. 2010; 77: 95-116.

3.8 Metilone

Il metilone (beta cheto MDMA o bk-MDMA) è un catinone sintetico, beta cheto analogo della 3,4 metilendirossimetamfetamina dalla quale differisce per la presenza di un gruppo chetonico in posizione beta all'ammina. Inoltre, il gruppo 3,4 metilendirossi del metilone sostituisce il metile in 4 sull'anello aromatico del mefedrone, il catinone sintetico più diffuso nel mercato telematico⁽¹⁻³⁾. Brevettata da Jacob Peyton III e Alexander Shulgin nel 1996 come antidepressivo⁽⁴⁾, la molecola non è mai entrata in commercio, ma è comparsa negli smart shops olandesi e sul mercato telematico alla fine del 2004 come una sostanza psicoattiva legale, venduta come profumo ambientale dal nome "Explosion", in provette di plastica contenenti circa 5 ml di liquido giallastro. Nella maggior parte dei casi però la sostanza si presenta come polvere cristallina bianca e raramente sotto forma di compressa⁽⁵⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: metilone.

Sinonimi: Explosion, bk-MDMA, Ease, M1.

Formula Molecolare: $C_{11}H_{13}NO_3$ (peso molecolare = 207,2).

Nome sistematico: 1-(1,3-Benzodiossol-5-il)-2-(metilamino)-1-propanone

Numero di registro CAS: 186028-79-5.

Punto di fusione: 244°C.

UVmax: 232 nm.

Solubilità: alcol metilico, acqua.

Uso

Il metilone è reperibile sul mercato come polvere cristallina che viene sniffata o fumata, sebbene si stia diffondendo rapidamente l'ingestione in forma liquida di fiale già pronte. La dose tipica, riportata dai consumatori, è di 100 mg in quanto dosi maggiori causerebbero soltanto effetti collaterali più rilevanti senza aumentare gli effetti cognitivi empatici simili a quelli della MDMA, ma di intensità inferiore⁽⁶⁾. Poiché la durata massima degli effetti è in media tra le due e le tre ore, alcuni consumatori ripetono il consumo entro le due ore dalla prima dose con quantità minori (30-50 mg) per prolungare l'effetto fino a 5-7 ore. Le esperienze riportate dai consumatori descrivono il raggiungimento di effetti euforici stimolanti circa tre ore dopo l'assunzione⁽⁶⁾.

Legislazione

In Italia il metilone è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 2-amino-1-fenil-1-propanone, per una o più sostituzioni sull'anello aromatico e/o sull'azoto e/o sul carbonio terminale, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 poi modificato dal decreto ministeriale dell'11 giugno 2012 (G.U. Serie Generale n. 142 del 20 giugno 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Negli Stati Uniti, anche se il consumo umano era ritenuto illegale ai sensi della Federal Analogue Act del 1986; solo nel settembre 2011 la DEA (Drug Enforcement Administration), ha messo temporaneamente sotto controllo il metilone⁽⁷⁾.

Ad oggi, il commercio, la detenzione e l'uso del metilone sono vietati in Danimarca, Finlandia, Slovenia, Germania, Regno Unito, Romania, Svezia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

I dati farmacocinetici e farmacodinamici dei principali catinoni sintetici (incluso il metilone) nell'uomo sono molto scarsi⁽⁸⁻⁹⁾ e le conseguenze della somministrazione cronica di tali sostanze non sono note⁽¹⁰⁾. Al momento si dispone di una conoscenza molto parziale dei meccanismi d'azione e del metabolismo di queste nuove droghe e le informazioni derivano essenzialmente da studi *in vitro* o sull'animale di laboratorio⁽¹¹⁾.

Così come gli altri derivati feniletilamminici (es. i metilendiossi derivati quali l'MDMA), queste molecole possiedono la capacità di modulare il rilascio di serotonina, generando pertanto effetti psicoattivi quali quelli riportati aneddoticamente dagli utilizzatori: sensazione di benessere, sentimenti di amore ed empatia, sensazione di vicinanza agli altri, maggiore volontà di comunicare, aumentato apprezzamento della musica, voglia di abbracciare e baciare la gente^(6,12).

Studi *in vitro*, utilizzando i sinaptosomi cerebrali di ratto, hanno dimostrato che i derivati metcatinonici ed in particolare il metilone agiscono sull'inibizione della ricaptazione della serotonina ma con una potenza di azione almeno tre volte inferiore a quella della metamfetamina o dell'MDMA^(13,14).

Tossicità

Si sa pochissimo degli effetti a lungo termine potenzialmente nocivi del metilone, ma casi clinici suggeriscono una pletera di effetti dannosi psicologici e fisici^(13,15,16).

Studi *in vitro* e *in vivo* su modello animale dimostrano che questa sostanza ha la capacità di dare dipendenza ed ha effetti neurotossici⁽¹⁷⁾.

Una serie di test comportamentali sui topi, hanno dimostrato che il metilone sembra avere un effetto a lungo termine sia su indicatori comportamentali che biochimici di neurotossicità⁽¹⁸⁾.

Dai dati pubblicati in caso di decessi causati da metilone, sembrerebbe che la quantità di tale sostanza rilevata nel sangue post mortem sia significativamente inferiore alle concentrazioni ematiche di MDMA riportate nei decessi MDMA-correlati⁽¹⁹⁻²⁰⁾. Tali evidenze suggerirebbero che la tossicità del metilone è notevolmente sottovalutata dagli utenti.

Effetti avversi

Tra gli effetti negativi a breve termine gli utilizzatori della sostanza segnalano: aumento della temperatura corporea e del battito cardiaco, dilatazione delle pupille, tensioni muscolari e dolori, vertigini, confusione, paranoia e paura⁽⁶⁾.

In generale, i più comuni effetti avversi riportati a seguito dell'assunzione di catinoni sintetici includono sintomatologie cardiache di tipo iperadrenergico (eccitazione, tachicardia, rialzo pressorio, sudorazione), psichiatriche e neurologiche⁽¹⁵⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche note.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Nell'ultimo biennio sono state messe a punto tre metodologie di analisi del metilone sia in urina che nel sangue⁽²¹⁻²³⁾. Due di esse si basano su una tecnica separativa in cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa o alla spettrometria di massa tandem. La terza utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia e una tecnica di rivelazione in spettrometria di massa.

Si rimanda alla monografia del butilone per i dettagli analitici della determinazione simultanea del metilone e del suo analogo butilone in cromatografia-liquida spettrometria di massa tandem⁽²³⁾.

Bibliografia

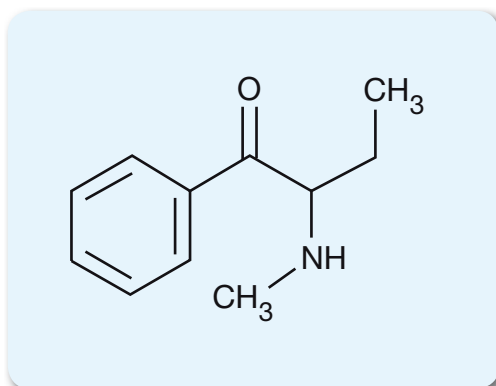
1. EMCDDA, EDND database, metilone 2012.
2. PROSSER JM, NELSON LS. The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. *J Med Toxicol.* 2012; 8: 33-42.
3. COPPOLA M, MONDOLA R. Synthetic cathinones: chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as "bath salts" or "plant food". *Toxicol Lett.* 2012; 211: 144-149.
4. PEYTON J, SHULGIN A. Novel n-substituted-2-amino-3',4'-methylene-dioxypropiofenones NTII 1996; 1-17.
5. Methylone sold under "Explosion" and "Inpact" brand names in the Netherlands and Japan by Uil & Erowid v1.2 - 2005 www.erowid.org
6. http://www.erowid.org/chemicals/methylone/methylone_dose.shtml
7. Schedules of controlled substances: extension of temporary placement of methylone into schedule I of the Controlled Substances Act. Final order DEA Fed Regist. 2012; 77: 64032-640333.
8. KAMATA HT, SHIMA N, ZAITSU K, KAMATA T, MIKI A, NISHIKAWA M, KATAGI M, TSUCHIHASHI H. Metabolism of the recently encountered designer drug, methylone, in humans and rats. *Xenobiotica* 2006; 36: 709-723.
9. MEYER MR, WILHELM J, PETERS FT, MAURER HH. Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 397: 1225-1233.
10. BOSSONG MG, VAN DISK JP, NIESNK RS. Methylone and mCPP, two new drugs of abuse? *Addict Biol.* 2005; 10: 321-323.
11. SIMMLER LD, BUSER TA, DONZELLI M, SCHRAMM Y, DIEU LH, HUWYLER J, CHABOZ S, HOENER MC, LIECHTI ME. Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro *Br J Pharmacol.* 2013; 168: 458-470.
12. BAUMANN MH, AYESTAS MA J, PARTILLA JS, SINK JL, SHULGIN AT, DALEY PF, BRANDT SD, ROTHMAN RB, RUOHO AE, COZZI NV. The designer methcathinone analogs, mephedrone and methylone, are substrates for monoamine transporters in brain tissue. *Neuropsychopharmacology.* 2012; 37: 1192-1203.
13. BOREK H.A, HOLSTEGE CP. Hyperthermia and multiorgan failure after abuse of "bath salts" containing 3,4-methylenedioxypropylvalerone *Ann. Emerg. Med.*, 2012; 60: 103-105.
14. MIYAZAWA M, KOIJMA T, NAKAJI S. Behavioral and rewarding effects of methylone, an analog of MDMA in mice Hirosaki. *Med. J.* 2011; 62: 56-71.
15. COZZI NV, SIEVERT MK, SHULGIN AT, JACOB P 3RD, RUOHO AE. Inhibition of plasma membrane monoamine transporters by beta-ketoamphetamines. *Eur J Pharmacol.* 1999; 381: 63-69.
16. KOVÁCS K, TÓTH AR, KERESZTY EM A new designer drug: methylone related death. *Orv Hetil.* 2012; 153: 271-276.
17. BAUMANN MH, PARTILLA JS, LEHNER KR. Psychoactive "bath salts": not so soothing. *Eur J Pharmacol.* 2013; 698: 1-5.
18. DEN HOLLANDER B, ROZOV S, LINDEN AM, UUSI-OUKARI M, OJANPERÄ I, KORPI ER. Long-term cognitive and neurochemical effects of "bath salt" designer drugs methylone and mephedrone. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013; 103: 501-509.
19. CARBONE PN, CARBONE DL, CARSTAIRS SD, LUZI SA. Sudden cardiac death associated with methylone use. *Am J Forensic Med Pathol.* 2013; 34: 26-28.
20. PEARSON JM, HARGRAVES TL, HAIR LS, MASSUCCI CJ, FRAZEE CC 3RD, GARG U, PIETAK BR. Three fatal intoxications due to methylone. *J Anal Toxicol.* 2012; 36: 444-451.
21. MARINETTI LJ, ANTONIDES HM. Analysis of Synthetic Cathinones Commonly Found in Bath Salts in Human Performance and Postmortem Toxicology: Method Development, Drug Distribution and Interpretation of Results. *J Anal Toxicol.* 2013; 37: 135-146.
22. REITZEL LA, DALSGAARD PW, MULLER IB, CORNETT C. Identification of ten new designer drugs by GC-MS, UPLC-QTOF-MS, and NMR as part of a police investigation of a Danish internet company. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 342-354.
23. BELL C, GEORGE C, KICMAN AT, TRAYNOR A. Development of a rapid LC-MS/MS method for direct urinalysis of designer drugs. *Drug Test Anal.* 2011; 3: 496-504.

3.9 Bufedrone

Il bufedrone è un catinone analogo all'efedrone, dal quale differisce per la presenza di un gruppo etile al posto del gruppo metile sulla catena alchilica^(1,2).

Il bufedrone è stato sintetizzato nell'ambito di uno studio su analoghi sintetici dell'efedrina⁽³⁾, ma negli ultimi anni, è stato commercializzato su siti telematici per le sue proprietà psicoattive⁽⁴⁾. In letteratura scientifica i dati sul bufedrone sono scarsissimi⁽⁵⁾ e i pochi articoli esistenti descrivono i numerosi problemi di identificazione^(6,7).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: bufedrone.

Sinonimi: 1-fenil-2-metilaminobutan-1-one, 1-fenil-2-metilamino-1-butanone.

Formula Molecolare: C₁₁H₁₅NO (peso molecolare = 177,2).

Nome sistematico: 2 - (metilammino)-butirrofenone.

Numero di registro CAS: 408332-79-6.

Punto di fusione: 209,1°C.

UVmax: 249 nm.

Solubilità: alcol metilico.

Uso

Il bufedrone risulta facilmente acquistabile su siti telematici che commerciano i catinoni sintetici surrettiziamente come standard chimici per la sola ricerca scientifica⁽⁸⁾.

Le poche informazioni disponibili sui forum dei consumatori riportano che il bufedrone, assunto ad una dose di 10-40 mg, per via orale, o ad una dose di 5-30 mg per via nasale, produce effetti simili, ma di potenza superiore al metcatinone; i consumatori descrivono un'azione rapida dopo assunzione orale ed una durata degli effetti che va da 3 a 5 ore⁽³⁻⁹⁾.

Legislazione

Il bufedrone è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 2-amino-1-fenil-1-propanone, per una o più sostituzioni sull'anello aromatico e/o sull'azoto e/o sul carbonio terminale, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 poi modificato dal decreto ministeriale del 11 giugno 2012 (G.U. Serie Generale n. 142 del 20 giugno 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Nel Regno Unito, con il Misuse of Drugs Act 1971 Amendment Order 2010, approvato il 16 aprile 2010, sia il bufedrone che il mefedrone e altri derivati, sono stati inseriti nell'elenco delle sostanze d'abuso poste sotto controllo. Il bufedrone è inoltre attualmente posto sotto controllo in Bulgaria, Finlandia, Lituania, Svezia, Regno Unito e Russia^(3,10,11).

Proprietà farmaco-tossicologiche

I dati farmacocinetici e farmacodinamici del bufedrone, così come dei principali catinoni sintetici sono ancora molto scarsi^(12,13). Viene tuttavia riportato che alcune molecole analoghe al bufedrone quali ad esempio il metcatinone, inibiscono la ricaptazione della dopamina, serotonina e noradrenalina *in vitro*⁽¹⁴⁾. Secondo le dichiarazioni dei consumatori, il bufedrone ha un effetto principalmente psicostimolante, ma le dichiarazioni sono contrastanti poiché alcuni utilizzatori non riportano effetti ed altri addirittura riportano mancanza di erezione peniena durante l'uso⁽¹⁵⁾.

Tossicità

Non ci sono dati di letteratura relativi alla tossicità acuta e cronica del bufedrone.

Effetti avversi

I più comuni effetti avversi riportati a seguito dell'assunzione di catinoni sintetici includono importanti sintomatologie cardiache, psichiatriche e neurologiche^(11,12). Quelle più comunemente riportate sono: agitazione, euforia, eccitazione, logorrea, aumento della concentrazione, mancanza di fame⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura interazioni farmacologiche note.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

È presente in letteratura internazionale una recente metodologia analitica per la determinazione del bufedrone sia in polveri commercializzate su siti tematici, sia su sangue di consumatore della sostanza. La separazione del principio attivo si ottiene in cromatografia liquida e la quantificazione in spettrometria di massa tandem.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del bufedrone nel sangue⁽¹⁹⁾

Estrazione del campione

Ad una aliquota di sangue (50 µl) vengono aggiunti 20 µl di standard interno (mefedrone d₃) ed il campione viene deproteinizzato con 600 µl di acetonitrile. Si miscela per 5 min e quindi si centrifuga per 3 min. Dopo centrifugazione, la fase organica viene portata a secco sotto flusso di azoto e il residuo ripreso con 100 µl di una soluzione di acqua e 0,1% di acido formico. Una aliquota di 10 µl viene iniettata nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Zorbax Agilent SB-C18 (50 x 2,1 mm x 1,8 µm)

Fase mobile: A: 0,1% di acido formico in aceto nitrile; B: 0,1% di acido formico in acqua.

Modalità di separazione: gradiente lineare (0.00-minuti, al 10% fase mobile A; tra.0,1-6.00 minuti dal 10% al 100% fase mobile A; tra 6.01-7.0 minuti 10% fase mobile A; tra 7,1-14 minuti mantenuto al 10% fase mobile A)

Flusso: 0,3 ml/min

Temperatura del gas di evaporazione: 325°C

Pressione del gas di nebulizzazione: 40 psi

Voltaggio del capillare: 3500 V

Rivelatore: spettrometro di massa tandem in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

bufedrone: 2,27 min

mefedrone d₃ (standard interno): 3,09 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

bufedrone: m/z 178,1 → 160,1; 178,1 → 91,1; 178,1 → 77,1

mefedrone d₃ (standard interno): m/z 180,1 → 163,1; 180,1 → 148,1; 180,1 → 91,1

Standard

Sono stati utilizzati standard di riferimento puri acquistati dalla LGC Standards (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in sangue è stata preparata coprendo un range di concentrazioni di bufedrone: 1-1000 ng/ml.

Risultati

La quantità di bufedrone nel campione di sangue post mortem analizzato è di 127 ng/ml.

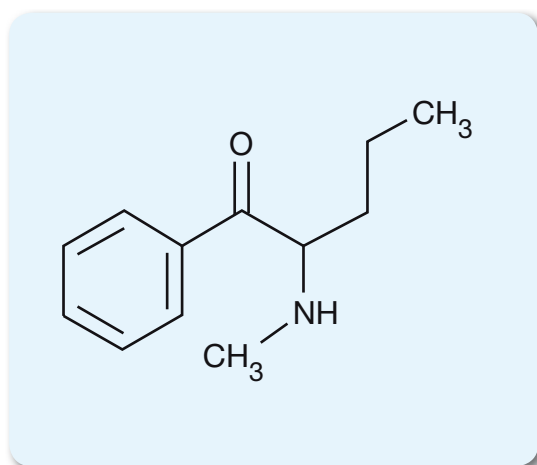
Bibliografia

1. MAHEUX CR, COPELAND CR Chemical analysis of two new designer drugs: buphedrone and pentedrone. *Drug test anal.* 2012; 4: 17-23.
2. ZUBA D. Identification of cathinones and other active components of "legal highs" by mass spectrometric methods *Trends Anal. Chem.* 2012; 32: 15-30.
3. HYDE JF, BROWNING E, ADAMS R. Synthetic Homologs of d,l-ephedrine. *JACS* 1928; 50: 2287-2292.
4. KING LA, KICMAN AT. A brief history of 'new psychoactive substances'. *Drug Test Anal.* 2011; 3: 401-403.
5. <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/synthetic-cathinones>
6. MCDERMOTT SD, POWER JD, KAVANAGH P, O'BRIEN J. The analysis of substituted cathinones. Part 2: an investigation into the phenylacetone based isomers of 4-methylmethcathinone and N-ethylcathinone. *Forensic Sci Int.* 2011; 212: 13-21.
7. SORENSEN LK. Determination of cathinones and related ephedrine in forensic whole-blood samples by liquid-chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2011; 879: 727-736.
8. <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/11283/promo/emolecules>
9. [http://www.bluelight.org/vb/threads/467026-Buphedrone-\(alpha-methylamino-butirophenone\)-megathread-spread-your-knowledge!](http://www.bluelight.org/vb/threads/467026-Buphedrone-(alpha-methylamino-butirophenone)-megathread-spread-your-knowledge!)
10. KELLEHER C, CHRISTIE R, LALOW K, FOX J, BOWDEN M, O'DONNELL C. An overview of new psychoactive substances and the outlets supplying them, National Advisory Committee on Drugs, 2011. <http://www.drugsandalcohol.ie/15390/2/NACDoverview3B217396d01.pdf>
11. U.S. Drug Enforcement Administration, Office of Diversion Control, National Forensic Laboratory Information System Special Report: Synthetic Cannabinoids and Synthetic Cathinones Reported in NFLIS, 2009-2010, U.S. Drug Enforcement Administration, Springfield, 2011.
12. KAMATA HT, SHIMA N, ZAITSU K, KAMATA T, MIKI A, NISHIKAWA M, KATAGI M, TSUCHIHASHI H. Metabolism of the recently encountered designer drug, methylone, in humans and rats. *Xenobiotica* 2006; 36: 709-723.
13. MEYER MR, WILHELM J, PETERS FT, MAURER HH. Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 397: 1225-1233.
14. KELLY J P. Cathinone derivatives: A review of their chemistry, pharmacology and toxicology. *Drug Test Anal.* 2011; 3439-453.
15. <https://uk.legalizer.info/threads/buphedrone.5265>
16. <https://www.drugs-forum.com/forum/showthread.php?t=109900>
17. ROSS EA, WATSON M, GOLDBERGER B. "Bath salts" intoxication. *N Engl J Med* 2011; 365: 967-968.
18. DAWSON P, MOFFATT JD Cardiovascular toxicity of novel psychoactive drugs: lessons from the past *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012; 39: 244-252.
19. ZUBA D, ADAMOWICZ P, BYRSKA B. Detection of buphedrone in biological and non-biological material – Two case reports *Forensic Sci Int;* 2013; 227: 15-20.

3.10 Pentedrone

Il pentedrone, è un catinone sintetico β -propil analogo dell'efedrone presente nel mercato telematico dal 2011. Notizie aneddotiche da parte dei consumatori fanno ritenere che anche questo catinone sintetico abbia proprietà psicoattive^(1,2). Non esistono studi specifici su questa sostanza, identificata come ingrediente in un certo numero di “sali da bagno” (bath salts) venduti attraverso canali web^(1,3). Recenti studi con risonanza magnetica nucleare, spettrometria infrarossa e spettrometria di massa hanno permesso la caratterizzazione chimico-fisica della molecola^(4,5).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: pentedrone.

Sinonimi: α -metilamino-valerofenone.

Formula Molecolare: $C_{12}H_{17}NO$ (peso molecolare =191,2).

Nome sistematico: 1-fenil-2-metilamino-pentan-1-one; 2-(metilamino)-1-fenilpentan-1-one

Numero di registro CAS: 879669-95-1.

Punto di fusione: 182-184°C.

UVmax: 250 nm.

Solubilità: alcol etilico.

Uso

La sostanza appare come una polvere bianca che, secondo quanto riportato online dai consumatori, viene assunta per via inalatoria, orale ed iniettiva. I consumatori riportano dosaggi da 5-10 fino a 100 mg in base alla via di assunzione. Vengono descritti effetti simili a quelli del metilone ma più intensi quali principalmente sensazioni di euforia e benessere^(6,7).

Legislazione

Il pentedrone è stato inserito, in quanto analogo di struttura derivante dal 2-amino-1-fenil-1-propanone, per una o più sostituzioni sull'anello aromatico e/o sull'azoto e/o sul carbonio terminale, con decreto ministeriale del 29 dicembre 2011 poi modificato dal decreto ministeriale dell'11 giugno 2012 (G.U. Serie Generale n. 142 del 20 giugno 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Il pentedrone risulta essere una sostanza posta sotto controllo legislativo anche nei seguenti Paesi: Belgio, Francia, Ungheria, Irlanda, Lituania, Regno Unito e Federazione Russa⁽¹⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non esistono al momento studi clinici controllati su modello umano o animale o alcun tipo di informazione scientifica circa la proprietà farmaco-tossicologiche per questa molecola.

Tossicità

Non esistono dati di tossicità acuta e cronica del pentedrone né nel modello animale né sull'uomo.

Effetti avversi

I più comuni effetti avversi riportati a seguito dell'assunzione del pentedrone e in generale dei catinoni sintetici includono importanti sintomatologie cardiache, psichiatriche e neurologiche⁽⁸⁾.

I consumatori dichiarano sui forum telematici effetti negativi quali: una forte tensione muscolare e una profonda sensazione di stanchezza e intorpidimento degli arti. Alcuni consumatori riportano anche insonnia fino a 30 ore dal termine dell'effetto euforizzante del pentedrone^(2,9).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Non sono presenti in letteratura scientifica metodologie analitiche per la ricerca del pentedrone in matrici biologiche convenzionali e non convenzionali di consumatori della sostanza. È presente un metodo separativo in gas cromatografia con rilevazione in spettrometria di massa per l'identificazione del bufedrone e del pentedrone in polveri anonime sequestrate dalla dogana canadese⁽⁵⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del pentedrone in materiale non biologico⁽⁵⁾

Estrazione del campione

A 5 mg di polveri anonime sequestrate viene aggiunto 1 ml di N- metil-N- (trimetilsilil)trifluoroacetamide per preparare i derivati trimetilsililici. MSTFA in cloroformio, 50% (v/v) scaldando poi a 70°C per una ora. Dopo raffreddamento, 1 µl della soluzione viene iniettato nel gas cromatografo.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: DB-5MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 280°C

Gas: elio al flusso di 1 ml/min

Modalità di iniezione: split 150:1

Programmata di temperatura: 100°C per un minuto, 100°C-300°C a 10°C/min, 300°C per venticinque minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione della sostanza ricercata

pentedrone-TMS: 3,0 min

Frammenti caratteristici della sostanza ricercata

pentedrone-TMS: m/z 263, 248, 158, 77, 73

Standard

Non viene riportato l'acquisto di alcuno standard.

Risultati

L'analisi in gas cromatografia - spettrometria di massa insieme alle analisi di risonanza magnetica nucleare e spettroscopia infrarossa hanno permesso la caratterizzazione chimico fisica del pentedrone.

Bibliografia

1. EMCDDA, EDND database, pentedrone/ β -ethyl-methcathinone. 2012.
2. Pentedrone in "Nuove sostanze psicoattive" (NSP): schede tecniche relative alle molecole registrate dal Sistema Nazionale di Allerta Precoce. Dipartimento delle politiche antidroga disponibile sulla pagina web: [http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-cronologico/nuove-sostanze-psicoattive-\(nsp\)/presentazione.aspx](http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-cronologico/nuove-sostanze-psicoattive-(nsp)/presentazione.aspx)
3. LOPEZ-AVILA V, GAO W, URDAHL R. Mass spectral fragmentation of cathinones by high-resolution TOFMS using a soft ionization source. *J Pharm Sci Innov.* 2012; 1: 44-53.
4. WESTPHAL F, JUNGE T, GIRRESER U, GREIBL W, DOERING C. Mass, NMR and IR spectroscopic characterization of pentedrone and pentylone and identification of their isocathinone by-products. *Forensic Sci Int.* 2012; 217: 157-167.
5. MAHEUX CR, COPELAND CR. Chemical analysis of two new designer drugs: buphedrone and pentedrone. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 17-23.
6. <http://www.lookchem.com/cas-879/879669-95-1.html>
7. <http://www.tradekey.com/products/cas-879669-95->
8. Pentedrone (hydrochloride) Product Information". Cayman Chemical. Retrieved 2012. <https://www.caymanchem.com/pdfs/9001428.pdf>
9. <http://www.bluelight.ru/vb/threads/588475-Pentedrone>



4

Designer
Drugs

4.1 Introduzione

Quando Henderson coniò per la prima volta nel 1988 il termine “designer drugs” descriveva i tentativi non ufficiali di sintesi di analoghi chimici di molecole psicotrope sottoposte a controllo d’uso e quindi illegali secondo le legislazioni vigenti⁽¹⁾, che fossero anche analoghi psicoattivi ma che, grazie a modificazioni chimiche della molecola di partenza, fossero legali e quindi di libera vendita. Questa libera vendita iniziata negli “smart shops”, “health shops” si è poi trasferita negli ultimi anni su siti telematici dove è possibile distribuire, acquistare e ricevere il prodotto in una forma completamente anonima. Queste sostanze vendute come “party pills”, “sali da bagno”, “concimi per piante”, “research chemicals- da collezione e non per uso umano” o “legal highs” sono quelle che l’Unione Europea e in Dipartimento delle Politiche antidroga in Italia ha recentemente definito tra le “nuove sostanze psicoattive”- novel psychoactive substances-NPS⁽²⁻⁴⁾. Le “designer drugs”, tipicamente fenetilamine, triptamine, piperazine e piperidine sono una parte di queste NPS, che comprendono anche cannabinoidi e catinoni sintetici, ketamine e analoghi. La varietà di sostanze che entrano in commercio come “designer drugs” o più in generale come nuove sostanze psicoattive cambia di anno in anno e non è quindi possibile con i divieti contrastare la loro diffusione in quanto i “drug designers” hanno la possibilità di sintetizzare e distribuire sul mercato altre classi chimiche di sostanze.

Quello che si cerca è un effetto “psicoattivo”, un composto che possa venir utilizzato in situazioni ricreative, come euforizzante, stimolante e in alcuni casi anche allucinogeno, in combinazione eventualmente con le sostanze d’abuso classiche e l’alcol. Si tratta di nuovi consumi che si distaccano dalle classiche dipendenze e fanno leva sui nuovi modelli di comportamento a rischio e sulle nuove modalità di consumo⁽⁵⁾.

Queste sostanze hanno avuto, e continuano ad avere, un grande successo soprattutto tra i giovanissimi e si sono diffuse con una rapidità impressionante grazie ai sistemi telematici di vendita e al margine di tempo prima che vengano effettuate eventuali ricerche per farle dichiarare illegali. Esse presentano, quindi, meno “problemi di gestione” delle sostanze classiche. Inoltre, relativamente all’uso di internet, per queste sostanze prive di studi scientifici controllati si è registrato lo sviluppo di forum telematici (drugs forum), blog, social network di consumatori dove ci si scambiano informazioni, consigli, indicazioni e “istruzioni per l’uso” in maniera rapida e socializzante. Sono quindi i consumatori e i loro gusti riportati sui forum di discussione che determinano il successo e quindi la diffusione di queste “designer drugs”.

Dagli inizi del 2009 a fine 2013, sono state intercettate dal Sistema Nazionale di Allerta Precoce oltre 280 nuove sostanze psicoattive⁽⁵⁾.

Nel caso particolare delle “designer drugs” è possibile individuare quattro principali classi chimiche distinte in cui è possibile classificare di volta in volta nuovi composti che si presentano ai mercati telematici o vengono sequestrati nelle dogane di paesi europei ed extraeuropei⁽⁶⁾.

Le fenetilammine sono una classe di molecole ad azione psicoattiva e stimolante piuttosto ampia che include anche l’amfetamina, la metamfetamina e la 3,4-metilendioossimetamfetamina (MDMA). Si distinguono diversi sottogruppi in funzione della diverse sostituzioni sull’anello aromatico, sulla catena alchilaminica e sull’azoto stesso.

La serie di fenetilamine “2C” è caratterizzata dalla presenza di due gruppi metossilici sull’anello aromatico con la possibilità di un alogeno in posizione 4 (es. il 2C-B- 2,5 dimetossi,4 bromofenetilammina- ha un atomo di bromo in 4, il 2C-I- 2,5 dimetossi,4 iodiofenetilammina-un atomo di iodio). Questa serie è attiva sui recettori 5HT_{2C} serotoninergici a dosi fino a 100 mg. Ad alte concentrazioni, queste molecole causano allucinazioni e reazioni psicotiche fino a casi di morte⁽⁷⁾.

La serie “D” (2,5 dimetossi,4 bromoamfetamina-DOB; 2,5 dimetossi,4 iodioamfetamina DOI; 2,5 dimetossi, 4 cloroamfetamina-DOC), è analoga alla serie 2C presenta due gruppi metossilici sull’anello aromatico con la possibilità di una ulteriore sostituzione in posizione 4 e un metile in alfa al gruppo amminico⁽⁵⁾. Questo tipo di sostituzioni conferiscono proprietà allucinogene attraverso un effetto agonista sui recettori serotoninergici 5HT₂. Gli effetti soggettivi stimolanti e psichedelici tardano più di un’ora a comparire con il rischio della somministrazione ripetuta, durano per giorni e bastano pochi mg di sostanza per ottenere tali effetti. Una marcata vasocostrizione è il maggiore pericolo di questo gruppo di sostanze⁽⁸⁾.

Nella serie NBOMe sono presenti analoghi che possiedono un gruppo 2-metossibenzilico sull'atomo di azoto e sono agonisti del recettore 5-HT_{2A} della serotonina. Con poche eccezioni, i composti in questo gruppo sono attivi a dosi inferiori al milligrammi. Queste sostanze chimiche non hanno quasi nessuna storia di uso umano prima del 2010, quando sono diventati per la prima volta disponibili online⁽⁹⁾.

Negli anni '80 e '90 del secolo scorso, ebbero grande diffusione i 3,4 metilendiossi-derivati delle fenetilamine, tra cui le più note 3,4 metilendiossimetamfetamina-MDMA e 3,4 metilendiossiamfetamina (MDA). La presenza di un gruppo chetonico sul carbonio beta della catena laterale delle 3,4 metilendiossifenetilamine dà vita alla classe dei catinoni sintetici (trattati in un capitolo specifico di questo libro). Diversamente, la rimozione di uno dei due gruppi metossi sull'anello benzenico porta alla formazione della serie dei benzofurani (es. 4, 5 e 6 [2-aminopropil]benzofurano) con effetti stimolanti ed entactogeni, ma al tempo stesso con rischio di ipertensione, tachicardia e agitazione che perdurano fino a 48 ore dopo il consumo⁽¹⁰⁾.

La natura allucinogena di molte triptamine naturali quali ad esempio la psilocibina (O-fosforil-4-idrossi-N,N dimetiltriptamina) presente nei funghi del genere *Psilocybe* o la dimetiltriptamina (DMT) presente tra l'altro nella *Mimosa hostilis* o nella *Psychotria viridis* ha stimolato i drug designer nella sintesi di analoghi di struttura con proprietà simili. Le triptamine hanno un anello indolico e un gruppo alchilamino sulla catena laterale del carbonio 2. Le modificazioni chimiche interessano l'azoto aminico o le posizioni 4 e 5 dell'anello indolico, poiché le modificazioni sulle posizioni 6 e 7 riducono marcatamente l'effetto allucinogeno. Tale effetto è dovuto all'affinità di questa classe per i recettori serotoninergici 5HT_{2A} e 5HT₁. Sebbene l'effetto allucinogeno possa essere di per sé rischioso, sembra che le triptamine sintetiche, le cui più diffuse sul mercato sono la di-isopropiltriptamina-DiTP e la 4 idrossi N,N di-isopropiltriptamina-4-OH-DiPT, presentino bassa tossicità cardiovascolare, epatica e renale⁽¹¹⁾.

Le piperazine rappresentano una classe molto ampia di composti chimici in cui la parte principale della molecola è una piperazina alla quale sono legati gruppi chimici diversi. I due gruppi principali sono quelli delle benzilpiperazine e delle fenilpiperazine: le prime sono degli stimolanti simpatomimetici (es. 1-benzilpiperazina), le seconde (es. metaclorofenilpiperazina) sono inibitori del reuptake della serotonina con minimi effetti anche sui recettori della dopamina. Per tale motivo tra gli effetti tossici delle benzilpiperazine è comune la sindrome tossica simpatomimetica, nelle fenilpiperazine la sindrome serotoninergica⁽⁶⁾.

Recentemente sono entrate nel mercato delle "designer drugs" appartenenti alla classe delle piperidine e delle pirrolidine. Si tratta di derivati di fenetilamine da cui si differenziano però per la presenza del gruppo piperidinico o pirrolidinico al posto del gruppo amminico. Composti come il desossipiraprodolo (2-difenilmetilpiperidina- 2DPMP) o il difenilprolinolo (difenil-2-pirrolidinil-metanolo-D2PM) sono recentemente apparsi sul mercato come psicostimolanti in quanto inibitori del reuptake della dopamina. Presentano pesanti effetti collaterali quali agitazione, reazioni psicotiche e ipertensione⁽⁶⁾.

Come già specificato inizialmente, soltanto per alcune sostanze di ognuna delle classi descritte sono state raccolte notizie e letteratura scientifica sufficienti che hanno permesso di vietarne la vendita, l'acquisto e l'uso. Molte altre sono di libera vendita e molte altre ancora compariranno sul mercato telematico per essere sperimentate direttamente dal consumatore, che ne riporterà effetti soggettivi e collaterali sui forum specifici senza la necessità di studi scientifici ufficiali.

Nel capitolo seguente sono riportate le monografie delle nuove "designer drugs" che al momento appaiono di maggior mercato in Italia. Esse sono riportate comunque ad esempio delle 4 classi chimiche sopra menzionate, all'interno delle quali si inseriscono di volta in volta nuovi composti, alcuni dei quali trovano appeal tra i consumatori e quindi si diffondono nel mercato. Altri, dai molti effetti collaterali ed effetti soggettivi troppo brevi, escono invece rapidamente dalla distribuzione.

Bibliografia

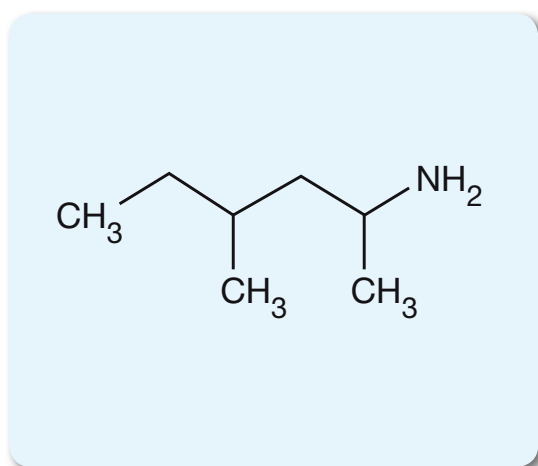
1. HENDERSON GL. Designer drugs: past history and future prospects. *J Forensic Sci.* 1988 1988; 33: 569-575.
2. http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_228272_IT_TDAT14001ITN.pdf
3. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/119139/acmdnps2011.pdf
4. SERPELLONI G, MACCHIA T, LOCATELLI C, RIMONDO C, SERI C. New Drugs- Nuove sostanze Psicoattive [http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-cronologico/nuove-sostanze-psicoattive-\(nsp\)/presentazione.aspx](http://www.politicheantidroga.it/pubblicazioni/in-ordine-cronologico/nuove-sostanze-psicoattive-(nsp)/presentazione.aspx)
5. <http://www.politicheantidroga.it/media/604892/5.pdf>
6. HILL SL, THOMAS SHL. Clinical toxicology of newer recreational drugs. *Clin Toxicol.* 2011; 49: 705-719.
7. DE BOER D1, BOSMAN I. A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. *Pharm World Sci.* 2004; 26: 110-113.
8. GLENNON RA. Discriminative stimulus properties of hallucinogens and related designer drugs. *NIDA Res Monogr.* 1991; 116: 25-44.
9. <https://www.erowid.org/chemicals/nbome/nbome.shtml>
10. STANCZUK A, MORRIS N, GARDNER EA, KAVANAGH P. Identification of (2-aminopropyl)benzofuran (APB) phenyl ring positional isomers in internet purchased products. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 270-276.
11. NICHOLS DE. Hallucinogens. *Pharmacol Ther.* 2004; 101: 131-181.

4.2 Dimetilamilamina

La dimetilamilamina (DMAA), è una ammina alifatica con proprietà psicostimolanti simili a quelle dei derivati amfetaminici⁽¹⁾. Brevettata nel 1944 dall'industria farmaceutica Eli Lilly, la DMAA veniva utilizzata per il trattamento delle congestioni nasali e come tale in grado di agire direttamente sui vasi sanguigni della mucosa nasale come vasoconstrictore. Tuttavia il suo impiego fu abbandonato poiché si evidenziarono una serie di effetti collaterali gravi di tipo cardiovascolare e cerebrovascolare connessi all'uso della sostanza⁽²⁻⁴⁾.

Nota anche come metilesanamina, la sostanza è commercializzata su siti telematici e in erboristerie con nomi che alludono ad un'affinità con la pianta del geranio: Floradrene, Geranamine, o con il nome latino di *Pelargonium graveolens*. Infatti la sostanza viene descritta tra i costituenti dell'olio di geranio e in grado di dare effetti simili a quelli dell'adrenalina. In realtà è stato dimostrato che l'olio di geranio non contiene dimetilamilamina⁽⁵⁻⁷⁾. Per tale motivo, dal 2011, negli Stati Uniti è vietato ai produttori di integratori indicare la dimetilamilamina come olio di geranio o come derivato di altra porzione della pianta del geranio⁽⁸⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: dimetilamilamina (DMAA).

Sinonimi: 1,3-dimetilamilamina; 1,3-Dimetilpentilamina 4-metil-2-esanamina; 2-amino-4-metilesano; Forthan; Forthane; Forthamine; Floradrene, Geranamine.

Formula Molecolare: C₇H₁₇N (peso molecolare = 115,2).

Nome sistematico: 4-metilesan-2-ammina.

Numero di registro CAS: 105-41-9.

Punto di fusione: 135,5°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.

Uso

La dimetilamilamina viene commercializzata sotto forma di sale come polvere bianca, o come liquido incolore sotto forma di base. Viene utilizzata come integratore alimentare, dagli sportivi per perdere peso e migliorare le performance, o come "party pill" in situazioni ricreative. Alcuni forum di consumatori riferiscono una forte euforia già a dosi di pochi milligrammi: la dose consigliata è di 25 mg in capsula assunta da 1 a 3 volte al giorno⁽⁹⁾. Allo svanire dell'effetto psicostimolante, restano solamente una leggera emicrania e una sensazione di smarrimento⁽¹⁰⁾. La DMAA è frequentemente utilizzata nell'ambiente del body building, come integratore alimentare in combinazione con la caffeina, come termogenico ed più in generale, come stimolante in grado di attivare la riduzione dell'appetito e l'azione termogenica in maniera del tutto simile all'efedrina⁽¹¹⁾.

Legislazione

La dimetilamilamina è presente, con il sinonimo metilesanamina nella lista dei farmaci, delle sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e delle pratiche mediche, il cui impiego è considerato doping, ai sensi della legge 14 dicembre 2000, n. 376 (Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping). Il Canada ha vietato l'utilizzo della DMAA in tutti gli integratori alimentari⁽¹²⁾. In Italia, la dimetilamilamina (DMAA) è stata valutata negativamente dagli esperti della Commissione Unica per la Dietetica e la Nutrizione (CUDN), sulla base dei dati della letteratura scientifica e anche a seguito di apposite indagini analitiche, in quanto sostanza non presente nella composizione dell'olio

di geranio. Conseguentemente, la presenza della sostanza in prodotti con costituenti naturali deriva da una aggiunta fraudolenta. Il Ministero della Salute, a seguito delle valutazioni della CUDN ha vietato l'uso della sostanza negli integratori alimentari. Di conseguenza non sono disponibili sui canali ordinari del mercato italiano prodotti legalmente commercializzati contenenti DMAA⁽¹³⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La DMAA è un agente simpaticomimetico e agisce come inibitore della ricaptazione della noradrenalina⁽¹⁴⁾. In ogni caso, viene riportato che la DMAA e i suoi sali hanno effetti trascurabili sul sistema nervoso centrale e che sono relativamente non tossici⁽¹³⁾. Non esistono al momento dati di letteratura relativi alla farmacocinetica e farmacodinamica della DMAA in modello animale o nell'uomo.

Tossicità

Non sono noti studi volti a stabilire la tossicità acuta e cronica della DMAA nell'uomo.

Dati relativi alla tossicità acuta della DMAA

DL50 dopo somministrazione intraperitoneale (topo): 185 mg/kg⁽¹⁵⁾.

Effetti avversi

Tra gli effetti collaterali più frequenti della DMAA vengono riportati sensazione di vomito, emicrania, ipertensione, insonnia, emorragia cerebrale^(16,17). Le "party pill" contenenti DMAA, sono risultate la causa di gravi intossicazioni acute in consumatori^(18,19). In uno studio controllato a doppio cieco, nel quale sono state somministrate DMAA (50 e 75 mg) e caffeina (250 mg) da sole o in combinazione tra loro a dieci giovani in buona salute, è emerso che la DMAA da sola o in combinazione con la caffeina porta ad un significativo aumento della pressione arteriosa (sistolica e diastolica) senza aumento della frequenza cardiaca⁽²⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della dimetilammina.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura due metodologie analitiche che utilizzano cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa o la spettrometria di massa tandem per la determinazione della DMAA nelle urine di consumatori^(21,22).

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della dimetilammina nelle urine⁽²²⁾

Estrazione del campione

Ad 1 ml di campione di urina vengono aggiunti 100 µl di soluzione di amfetamina-d₈ quale standard interno. Il campione viene portato a pH basico con idrossido di potassio ed estratto con 3 ml di acetato di etile agitando in vortex per 10 min. Dopo centrifugazione, la fase organica viene portata a secco a 40°C sotto flusso di azoto e il residuo ripreso con 200 µl di fase mobile. Un volume di 10 µl viene iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Agilent Zorbax XDB C18 (75 x 4.6 mm, 3,5 μ m)

Temperatura della colonna: 35°C

Fase mobile A: acido formico 0,1%

Fase mobile B: alcol metilico- 5% Acetonitrile -0,1% acido formico

Modalità di separazione: gradiente (65% di A per 5 minuti, dal 65% al 40% di A in 4.0 minuti, mantenuto per 6 minuti)

Flusso: 0,8 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del gas di evaporazione: 320°C

Temperatura della sorgente: 550°C

Voltaggio del capillare: 1.50 kV

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

DMAA: 2,05 min

amfetamina-d₈: 1,83 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

DMAA: m/z 116,1 \rightarrow 57,0; 116,1 \rightarrow 91,1

amfetamina-d₈: m/z 144,2 \rightarrow 97,1; 144,2 \rightarrow 127,2

Standard

Gli standard utilizzati nelle analisi si possono acquistare presso la ditta Cerilliant (Sigma-Aldrich, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina viene preparata coprendo un range di concentrazioni da 25 a 500 ng/ml di DMAA.

Risultati

Complessivamente, il 92,3% dei campioni di urine, risultate positive ad un test di screening per amfetamine e poi negative alla conferma, conteneva DMAA in concentrazione pari o superiore a 2,5 μ g/ml per ml di urine.

Analisi di un Integratore alimentare denominato “Burners”

(a cura del Laboratorio di analisi del Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping del Dipartimento del Farmaco dell’Istituto Superiore di Sanità).

Il Prodotto “Burners” sottoposto a sequestro da parte dei Carabinieri per la tutela della salute (NAS) in quanto sospettato di contenere la dimetilamilamina, si presentava come una confezione in plastica contenente all'interno 60 compresse di colore rosso. L’etichetta riportava una serie di ingredienti (es. cromo, caffeina anidra, estratto di tè verde, estratto di geranio, ecc.) e la seguente avvertenza: “integratore alimentare utilizzato come coadiuvante delle diete ipocaloriche in quanto aiuta a controllare l’appetito limitando la sensazione di fame”.

Analisi per la ricerca di sostanze con attività farmacologica o dopante

L’analisi del prodotto è stata effettuata mediante l’utilizzo di un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa.

Estrazione del campione

Il contenuto di una capsula (100 mg di polvere) veniva sciolto in 2 ml di una soluzione di tampone fosfato 0,1 M a pH 10, quindi posto in bagno ad ultrasuoni per 15 minuti, e successivamente si procedeva all’estrazione del principio attivo aggiungendo 3 ml di tert-butilmetiletero. La fase organica raccolta veniva evaporata sotto corrente d’azoto e successivamente risospesa in 100 µl di etilacetato.

Condizioni strumentali

Colonna Cromatografica: 1DB-MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura Iniettore: 260°C

Gas: Elio a 11,60 psi

Modalità di iniezione: Split: 15:1

Programmata di temperatura: 100°C per 2 minuti, 100°C-230°C a 18C°/minuto per 2 minuti, 230°C-290°C a 20C°/minuto per 3 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempo di ritenzione della sostanza ricercata

DMAA: 2,8 min

Frammenti caratteristici delle sostanza ricercata

DMAA: m/z 115, 45, 44, 28

Curva di calibrazione

Poiché il laboratorio non era in possesso di standard analitici certificati della sostanza, non è stato possibile effettuare una curva di calibrazione.

Risultati

Il laboratorio ha eseguito il confronto tra spettro di massa della sostanza estratta dal prodotto oggetto di analisi con lo spettro di massa riportato nella librerie on-line NIST, WILEY e W9N08 in dotazione alla strumentazione potendo in questo modo identificare la sostanza DMAA per una sovrapposizione dei due spettri maggiore del 99%.

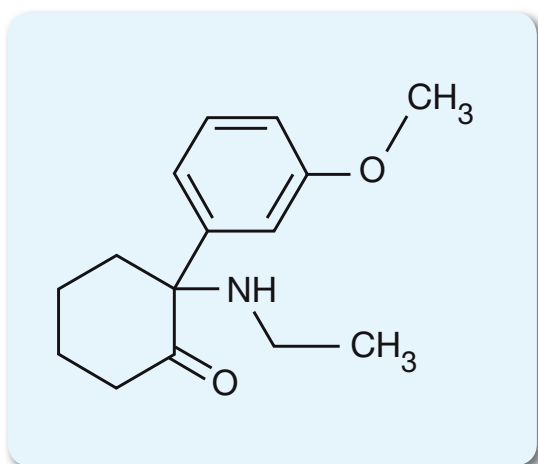
Bibliografia

1. <https://ednd-cma.emcdda.europa.eu/>
2. Council on pharmacy and chemistry methylhexamamine forthane (Lilly). *JAMA* 1950; 143: 1155-1157.
3. ROHRMANN E, SHONLE HA. Aminoalkanes as pressor substances. *J Am Chem Soc.* 1944; 9: 1516-1520.
4. SWANSON EE, CHEN KK. Comparison of pressor action of aliphatic amines. *J Pharmacol Exp Ther.* 1946; 88: 10-13.
5. LISI A, HASICK N, KAZLAUSKAS R, GOEBEL C. Studies of methylhexaneamine in supplements and geranium oil. *Drug Test Anal.* 2011; 3: 873-876.
6. PING Z, JUN Q, QING L. A study on the chemical constituents of geranium oil. *J Guizhou Inst Technol.* 1996; 25: 82-85.
7. ZHANG Y, WOODS RM, BREITBACH ZS, ARMSTRONG DW. 1,3-Dimethylamylamine (DMAA) in supplements and geranium products: natural or synthetic? *Drug Test Anal.* 2012; 4: 986-990.
8. WATSON E. UNPA: We agree with AHPA on DMAA labeling. <http://www.nutraingredients-usa.com/Markets/Online-retailers-can-help-stop-doping-and-questionable-supplements-Consultant>
9. <http://www.1supplements.com/1-3-Dimethylamylamine-200-Capsules-p-19101.html>
10. [http://www.bluelight.org/vb/threads/414870-Pill-maker-Defends-DMAA-\(dimethylamylamine\)](http://www.bluelight.org/vb/threads/414870-Pill-maker-Defends-DMAA-(dimethylamylamine))
11. <http://forum.bodybuilding.com/>
12. Health Canada, Health Products and Food Branch. Classification of 1,3-dimethylamylamine (DMAA). <http://www.scribd.com/doc/82744576/DMAA-Health-Canada-2011>.
13. http://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_4_1_1_stampa.jsp?id=3922
14. CHARLIER R. Pharmacology of 2-amino-4-methylhexane. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1950; 83: 573-584.
15. THE MERCK INDEX an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals 14th ed. Merck &Co N.J. U.S.A, 2006.
16. GEE P, TALLON C, LONG N, MOORE G, BOET R, JACKSON S. Use of recreational drug 1,3 Dimethylamylamine (DMAA) [corrected] associated with cerebral hemorrhage. *Ann Emerg Med.* 2012; 60: 431-434.
17. RODRICKS JV, LUMPKIN MH, SCHILLING BK. Pharmacokinetic data distinguish abusive versus dietary supplement uses of 1,3-dimethylamylamine. *Ann Emerg Med.* 2013; 61: 718-719.
18. GEE P, JACKSON S, EASTON J. Another bitter pill: a case of toxicity from DMAA party pills. *N Z Med J.* 2010; 123: 124-127.
19. BRIDGET M. KUEHN, MSJ. Dietary supplement linked to cases of acute hepatitis. *JAMA.* 2013; 310: 1784
20. BLOOMER RJ1, HARVEY IC, FARNEY TM, BELL ZW, CANALE RE. Effects of 1,3-dimethylamylamine and caffeine alone or in combination on heart rate and blood pressure in healthy men and women. *Phys Sports med.* 2011; 39: 111-120.
21. LESIAK AD, ADAMS KJ, DOMIN MA, HENCK C, SHEPARD JR. DART-MS for rapid, preliminary screening of urine for DMAA. *Drug Test Anal.* 2014; 6: 788-796.
22. VORCE SP, HOLLER JM, CAWRSE BM, MAGLUILO JR. Dimethylamylamine: a drug causing positive immunoassay results for amphetamines. *J Anal Toxicol.* 2011; 35: 183-187.

4.3 Metossietamina

La Metossietamina (MXE) è una molecola della classe delle arilcicloesilamine, analogo della ketamina dalla quale differisce per la presenza di un gruppo 3-metossi in sostituzione di un atomo di cloro in posizione 2 sull'anello aromatico e la per la presenza dell'etilammina in posizione 2 del cicloesano in sostituzione della metilammina presente nella ketamina^(1,2). Viene utilizzata a scopo ricreazionale, similmente alla ketamina, per i suoi effetti allucinatori, di distorsione della realtà e sensazione di morte apparente.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: metossietamina.

Sinonimi: 2-(3-metossifenil)-2-(etilamino)cicloesano; 2-(3-metossifenil)-2-(N-etilamino)cicloesano; metossifenilettilaminochetocicloesano; MXE; 3-MeO-2-Oxo-PCE; MKET.

Formula Molecolare: C₁₅H₂₁NO₂ (peso molecolare = 247,3).

Nome sistematico: 2-(etilamino)-2-(3-metossifenil)cicloesano.

Numero di registro CAS: 1239943-76-0.

Punto di fusione: 122,9°C (sale cloridrato).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: alcol etilico.

Uso

La metossietamina appare come una polvere bianca; può essere assunta per via orale, endovenosa, intramuscolare, rettale e nasale. La dose mediamente assunta per ottenere effetti allucinatori e distortivi riportata nei forum dei consumatori varia da 20 a 100 mg per l'assunzione orale e da 5 a 90 mg per la via intramuscolare⁽³⁾. La sostanza viene venduta sia da siti telematici che negli "head-shop" o "smart shop". Come riportato sui forum di utilizzatori, la sostanza si usa soprattutto durante i rave parties, in club per omosessuali e nelle discoteche⁽⁴⁾.

Legislazione

La metossietamina è stata inserita con decreto ministeriale del 24 ottobre 2012 (G.U. Serie Generale n. 264, 12 Novembre 2012), nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

La molecola risulta essere posta sotto controllo anche in Austria, Danimarca, Ungheria, Portogallo, Svezia, Regno Unito, Bielorussia e Giappone⁽²⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La metossietamina ha un'azione antagonista sul recettore postsinaptico dell'acido glutammico (recettore NMDA), è inibitore della ricaptazione della serotonina^(5,6), agonista sui recettori D2 della dopamina, sui recettori 5HT2 della serotonina, sui recettori colinergici muscarinici ed infine sui recettori per oppiacei sigma-1, mu e kappa⁽⁷⁾.

Tenendo in considerazione gli effetti psicotropi del suo analogo ketamina, nella metossietamina la presenza del gruppo N-etile determinerebbe un maggiore e prolungato effetto psicotropo, mentre la presenza del gruppo 3-metossi al posto di 2-cloro nell'anello aromatico determinerebbe un minor effetto analgesico e anestetico, nonché una più lunga emivita⁽⁸⁾.

Gli effetti possono comparire tardivamente (dopo 30-90 minuti) quando la sostanza viene sniffata, con rischio di assunzione di dosi ripetute a breve distanza. Se invece l'assunzione avviene per iniezione intramuscolare, gli effetti possono comparire anche dopo pochi minuti. La durata dell'effetto è molto variabile (mediamente 5-7 ore). Per prolungare gli effetti ricercati, spesso viene co-assunta con allucinogeni (es. LSD) o amfetamine⁽⁸⁾.

Tossicità

Dal 2011 ad oggi in Italia sono stati registrati numerosi casi di intossicazione acuta correlati ad assunzione di metossietamina. I principali sintomi registrati all'ingresso in pronto soccorso sono stati: grave agitazione psicomotoria associata ad allucinazioni, midriasi, tachicardia, stato confusionale, obnubilamento del sensorio⁽⁹⁾.

Differentemente dalla ketamina, la metossietamina viene considerata dagli utilizzatori priva di effetti nocivi a carico delle vie urinarie (viene infatti pubblicizzata come "bladder safe"). Tuttavia, uno studio recente di esposizione giornaliera per tre mesi a metossietamina su modello animale (topo) ha dimostrato modifiche istologiche significative sia ai reni che alla vescica. Questo suggerisce che il consumo cronico della metossietamina nell'uomo potrebbe essere associato a effetti analoghi a quelli della ketamina sull'apparato urinario come disuria ed ematuria⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Effetti avversi

A seguito dell'inalazione di metossietamina l'assuntore prova una distorsione della percezione della realtà circostante, allucinazioni visive, sensazione di leggerezza, euforia, marcata agitazione psicomotoria, ansia, confusione mentale, stupore, midriasi, sensazione di dilatazione del tempo⁽¹³⁾. Le sensazioni di derealizzazione (una sensazione di distacco dalla realtà) associate agli effetti di depersonalizzazione sono state descritte dagli utilizzatori come sensazioni di morte apparente⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Alcuni soggetti sviluppano disartria, afasia e sinestesia (ovvero un particolare evento sensoriale nel quale le stimolazioni uditive, olfattive, tattili o visive vengono percepite come eventi distinti ma coesistenti)⁽¹⁶⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della metossietamina.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche presenti nella letteratura per la determinazione della metossietamina nelle matrici biologiche convenzionali prevedono l'uso combinato di cromatografia liquida o gassosa accoppiata alla spettrometria di massa per l'identificazione della sostanza parente e dei metaboliti⁽¹⁷⁻²⁰⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della metossietamina in urina⁽²⁰⁾

Estrazione del campione

Ad una aliquota di 50 µl di urina (diluita 1:5) vengono aggiunti 200 µl (40 ng) di soluzione di standard interno (Etil 1-metil-4-fenilpiperidina-4-carbossilato o Petidina²H4). Dopo agitazione su vortex per 10 minuti, 2 µl di urina diluita vengono iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: colonna Bridged Ethylene Hybrid (BEH) C18 (1,7 × 100 mm x 2,1 μm)

Temperatura della colonna: 60°C

Fase mobile A: Acido Formico 0,1%

Fase mobile B: 100% Acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente (dal 4% di B a 45% di B in 2.2 minuti, dal 45% di B al 95% di B in 1 minuto, mantenuto al 95% per 0,3 minuti, dal 95% di B al 4% di B per 0,01 minuti, mantenuto al 4% di B per 0,49 minuti)

Flusso: 0,4 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del gas di evaporazione : 600°C

Temperatura della sorgente 150°C

Voltaggio del capillare: 0,5 kV

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

metossietamina: 1,93 min

petidina²H₄: 2,04 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

metossietamina: m/z 247,3 → 248,1, 203,0 → 175,0

petidina²H₄: m/z 252,2 → 224,1

Standard

Sono stati utilizzati standard di riferimento puri acquistati dalla Lipomed (Cambridge, Massachusetts, USA).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni da 0 a 10000 ng/ml.

Risultati

Il metodo è stato applicato come screening di urine di assuntori di sostanze da “sballo” legali all’epoca dell’analisi. Su 26 campioni di urina esaminati, 4 erano positivi alla metossietamina.

Bibliografia

1. WARD J., RHYEE S., PLANSKY J., BOYER E. Methoxetamine: a novel ketamine analog and growing health-care concern. *Clin Toxicol.* 2011; 49: 874-875.
2. <https://ednd-cma.emcdda.europa.eu/>
3. ROSENBAUM CD, CARREIRO SP, BABU KM. Here today, gone tomorrow...and back again? A review of herbal marijuana alternatives (K2, Spice), synthetic cathinones (bath salts), kratom, Salvia divinorum, methoxetamine, and piperazines. *J Med Toxicol.* 2012; 8: 15-32.
4. <https://www.google.it/#q=methoxetamine+erowid>
5. ROTH BL, GIBBONS S, ARUNOTAYANUN W, HUANG XP, SETOLA V, TREBLE R, IVERSEN L. The ketamine analogue methoxetamine and 3- and 4-methoxy analogues of phencyclidine are high affinity and selective ligands for the glutamate NMDA receptor. *PLoS One.* 2013; 8: 3.
6. ZARANTONELLO P, BETTINI E, PAIO A, SIMONCELLI C, TERRENI S, CARDULLO F. Novel analogues of ketamine and phencyclidine as NMDA receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011; 21: 2059-2063.
7. COPPOLA M, MONDOLA R. Methoxetamine: From drug of abuse to rapid-acting antidepressant. *Med Hypotheses.* 2012; 79: 504-507.
8. CORAZZA O, SCHIFANO F, SIMONATO P, FERGUS S, ASSI S, STAIR J, CORKERY J, TRINCAS G, DELUCA P, DAVEY Z, BLASZKO U, DEMETROVICS Z, MOSKALEWICZ J, ENEA A, DI MELCHIORRE G, MERVIO B, DI FURIA L, FARRE M, FLESLAND L, PASINETTI M, PEZZOLESI C, PISARSKA A, SHAPIRO H, SIEMANN H, SKUTLE A, ENEA A, DI MELCHIORRE G, SFERRAZZA E, TORRENS M, VAN DER KREEFT P, ZUMMO D, SCHERBAUM N. Phenomenon of new drugs on the Internet: the case of ketamine derivative methoxetamine. *Hum Psychopharmacol.* 2012 ;27:145-149.
9. <http://www.allertadroga.it/ketamina.html>

10. CHU PS, KWOK SC, LAM KM, CHU TY, CHAN SW, MAN CW, MA WK, CHUI KL, YIU MK, CHAN YC, TSE ML, LAU FL. 'Street ketamine'-associated bladder dysfunction: a report of ten cases. *Hong Kong Med J.* 2007; 13: 311-313.
11. MOORE JW, TURNER DC, CORLETT PR, ARANA FS, MORGAN HL, ABSALOM AR, ADAPA R, DE WIT S, EVERITT JC, GARDNER JM, PIGOTT JS, HAGGARD P, FLETCHER PC. Ketamine administration in healthy volunteers reproduces aberrant agency experiences associated with schizophrenia. *Cogn Neuropsychiatry.* 2011; 16: 364-381.
12. COLEBUNDERS B, VAN ERPS P. Cystitis due to the use of ketamine as a recreational drug: a case report. *J Med Case Rep.* 2008; 2: 219.
13. WOOD DM, DAVIES S, PUCHNAREWICZ M, JOHNSTON A, DARGAN PI. Acute toxicity associated with the recreational use of the ketamine derivative methoxetamine. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68: 853-856.
14. COULL JT, MORGAN H, CAMBRIDGE VC, MOORE JW, GIORLANDO F, ADAPA R, CORLETT PR, FLETCHER PC. Ketamine perturbs perception of the flow of time in healthy volunteers. *Psychopharmacology* 2011; 218: 543-556.
15. MORGAN HL, TURNER DC, CORLETT PR, ABSALOM AR, ADAPA R, ARANA FS, PIGOTT J, GARDNER J, EVERITT J, HAGGARD P, FLETCHER PC. Exploring the impact of ketamine on the experience of illusory body ownership. *Biol Psychiatry.* 2011; 69: 35-41.
16. KALSI SS, WOOD DM, DARGAN PI. The epidemiology and patterns of acute and chronic toxicity associated with recreational ketamine use. *Emerg Health Threats J.* 2011; 15: 4-7.
17. MUELLER DM, DURETZ B, ESPOURTEILLE FA, RENTSCH KM. Development of a fully automated toxicological LC-MS(n) screening system in urine using online extraction with turbulent flow chromatography. *Anal Bioanal Chem.* 2011; 400: 89-100.
18. DE PAOLI G, BRANDT SD, WALLACH J, ARCHER R P, POUNDER D J. From the street to the laboratory: analytical profiles of methoxetamine, 3-methoxyeticyclidine and 3-methoxyphencyclidine and their determination in three biological matrices. *J Anal Toxicol.* 2013; 37: 277-283.
19. ABE E, RICARD F, DARROUZAIN F, ALVAREZ JC. An automated method for measurement of methoxetamine in human plasma by use of turbulent flow on-line extraction coupled with liquid chromatography and mass spectrometric detection. *Anal Bioanal Chem.* 2013; 405: 239-245.
20. AL-SAFFAR Y, STEPHANSON NN, BECK O. Multicomponent LC-MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine. Experience from the Swedish population. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013; 930: 112-120.

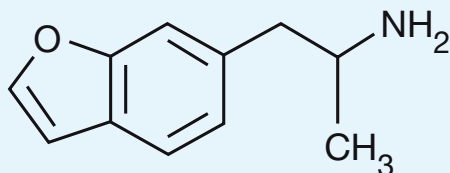
4.4 6-(2-Aminopropil)benzofurano 6-APB 5-(2-Aminopropil)benzofurano 5-APB 4-(2-Aminopropil)benzofurano 4-APB

Tra le nuove “designer drugs”, vi sono una serie di analoghi delle fenetilamine, in cui la sostituzione benzofuranica dell’anello fenilico conferisce proprietà piscostimolanti con azione specifica agonista sui recettori 5-HT₂ serotoninergici ⁽¹⁾. Tra i tanti derivati aminopropilbenzofuranici comparsi recentemente sul mercato recentemente, quelli che hanno avuto maggiore diffusione e maggiori commenti sui forum di consumatori sono il 4, il 5 e il 6 aminopropilbenzofurano ⁽²⁻⁴⁾. In particolare le molecole di 4 e 6 aminopropilbenzofurano vennero descritte in un brevetto del 2006 relativo ad una serie di molecole ad azione agonista sui recettori 5-HT_{2C} serotoninergici per il trattamento di disturbi correlati alla diminuzione della neurotrasmissione di serotonina nei mammiferi, ma non ci fu l’immissione in commercio delle sostanze come farmaci ⁽⁵⁾.

Queste sostanze sono invece al momento vendute su siti telematici come “cibo vegetale, sali da bagno, cibo per pesci” o semplicemente come “prodotti chimici di ricerca”. Il 6-APB, il più noto e venduto delle tre molecole, ha acquistato popolarità con il nome di “Benzo fury”, che può essere fuorviante dato che il 6-APB non ha alcun rapporto sia dal punto di vista della struttura che da quello degli effetti con le benzodiazepine, molecole ansiolitiche e sedative ⁽⁶⁾.

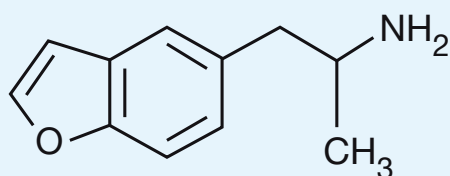
Formule chimiche e proprietà chimico fisiche

6-(2-Aminopropil)benzofurano



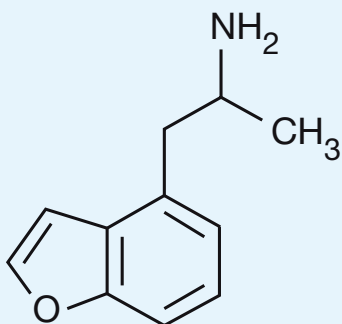
Nome: 6-(2-aminopropil)-benzofurano; 6-APB.
Sinonimi: 1-benzofurano-6-il-propan-2-ammina.
Formula Molecolare: C₁₁H₁₃NO (peso molecolare = 175,2).
Nome sistematico: 6-(2-aminopropil)-benzofurano.
Numero di registro CAS: 286834-85-3.
Punto di fusione: 243°C (sale cloridrato).
UVmax: 207, 246, 276, 285 nm.
Solubilità: alcol etilico.

5-(2-Aminopropil)benzofurano



Nome: 5-(2-Aminopropil)benzofurano; 5-APB.
Sinonimi: 1-benzofurano-5-il-propan-2-ammina.
Formula Molecolare: C₁₁H₁₃NO (peso molecolare = 175,2).
Nome sistematico: 1-(1-benzofurano-5-il)propanammina.
Numero di registro CAS: 286834-80-8 (sale cloridrato).
Punto di fusione: 243°C (sale cloridrato).
UVmax: 207, 246, 276, 285 nm.
Solubilità: alcol etilico.

4-(2-Aminopropil)benzofurano



Nome: 4-(2-aminopropil)benzofurano; 4-APB.

Sinonimi: 1-benzofurano-4-il -pro pan-2-ammina.

Formula Molecolare: C₁₁H₁₃NO (peso molecolare = 175,2).

Nome sistematico: 1-(1-benzofuran-4-il)propanamina.

Numero di registro CAS: 286834-82-0 (sale cloridrato).

Punto di fusione: 243°C (sale cloridrato).

UVmax: 247,2 nm.

Solubilità: alcol etilico.

Uso

Questi tre derivati benzofuranici appaiono come polvere marrone chiaro, ma vengono venduti illegalmente sotto forma di compresse colorate (pellet), spesso miscelate con la caffeina o con il magnesio stearato⁽⁶⁾. Normalmente le capsule sono ingerite come tali o disciolte in un liquido e raramente le polveri sono inalate. Mentre con l'inalazione gli effetti dei derivati benzofuranici sono immediati, in seguito ad assunzione orale gli effetti psicoattivi insorgono tra i 30 e 90 minuti e vengono descritti simili a quelli prodotti dall'MDMA, anche se più intensi e con un picco massimo in 2-3 ore dall'assunzione. La somministrazione rettale viene considerata un'opzione per evitare la nausea che comunque queste sostanze provocano⁽⁷⁾.

Legislazione

Le molecole 5-(2-aminopropil)-benzofurano e 6-(2-aminopropil)-benzofurano sono state inserite con decreto ministeriale del 25 giugno 2013 (G.U. Serie Generale n. 158 dell'8 luglio 2013) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni. Il 4-(2-aminopropil)-benzofurano al momento non risulta incluso. I tre derivati benzofuranici risultano essere sotto controllo in Danimarca, Germania, Ungheria, Portogallo, Regno Unito e Svezia. Non si hanno informazioni sullo stato legale delle molecole negli altri Paesi europei⁽²⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Uno studio recettoriale *in vitro* e sui trasportatori delle monoamine noradrenalina, dopamina e serotonina, ha dimostrato che il 5 e il 6-APB hanno capacità di inibizione sui tre trasportatori ed inoltre tutti i tre derivati benzofuranici mostrano una specifica azione agonista sui recettori 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C} serotoninergici^(8,9).

Tossicità

In letteratura sono descritti parecchi casi di intossicazione acuta correlati al consumo del 6-APB insieme ad altre sostanze quali cannabis o 5-APB e metossietamina con un quadro di psicosi, agitazione e paranoia⁽¹⁰⁻¹²⁾ fino ad una morte causata dall'assunzione simultanea di 6-APB con 5-(2-aminopropil)indolo⁽¹³⁾.

Effetti avversi

La letteratura e i forum di consumatori riportano per i tre derivati benzofuranici effetti collaterali simili a quelli causati dall'assunzione di MDMA, quali tachicardia, agitazione, pressione arteriosa elevata (con innalzamento della temperatura corporea, sudorazione profusa, grave emicrania, dilatazione delle pupille) e cardiotossicità^(2,14,15).

A dosi elevate i derivati benzofuranici possono provocare nausea, vomito, allucinazioni, perdita del controllo muscolare della coordinazione dei movimenti, leggera euforia con un profondo senso di calma e relax di natura entactogena (simile

all'effetto dell'MDMA). La fase calante o di decadimento degli effetti è molto graduale, tanto che possono essere percepiti dopo 14 ore dalla somministrazione iniziale e perdurare per più di 24 ore⁽¹⁵⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche dei tre derivati benzofuranici.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Esistono due differenti studi che hanno identificato sia il 5 che il 6-APB in matrici biologiche di assuntori dei derivati benzofuranici: la prima metodologia utilizza una separazione in cromatografia liquida seguita da una identificazione in spettrometria di massa, la seconda una determinazione in gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa^(13,14). Non sono invece riportate metodologie di analisi in matrici biologiche di assuntori per il 4-APB.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del 6-APB e del 5-APB in sangue e urina⁽¹⁴⁾

Estrazione del campione

Il campione di urina viene pretrattato con l'enzima β glucuronidasi a pH acido per idrolizzare eventuali coniugati dell'acido glucuronico e viene poi estratto insieme al sangue con colonnine di estrazione in fase solida per la ricerca delle sostanze d'abuso.

Condizioni strumentali

Colonna Cromatografica: HP-5MS (0,25 mm x 30 m x 0,5 μ m)

Temperatura Iniettore: 225°C

Gas: Elio a 11,60 psi

Modalità di iniezione: Split:15:1

Programmata di temperatura: 80°C per 4 minuti, 80°C-280°C a 20°C/minuto per 5 minuti, 40°C/minuto fino a 290°C per 15 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

6-APB: 6,5 min

5-APB: 6,7 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

6-APB: m/z 131, 77, 44

5-APB: m/z 131, 77, 44

Standard

Gli standard utilizzati nelle analisi si possono acquistare presso la ditta LGC Standards (Sesto San Giovanni, Milano, Italia).

Risultati

Il 6-APB ed il 5-APB risultano presenti in uno solo dei campioni di urina tra quelli esaminati. È stata effettuata la sola identificazione delle due sostanze e non la quantificazione.

Analisi di un prodotto chimico per ricerca denominato “Benzo fury”

(a cura del Laboratorio di analisi del Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping del Dipartimento del Farmaco dell’Istituto Superiore di Sanità).

Il Prodotto “Benzo fury” sottoposto a sequestro da parte dei Carabinieri per la tutela della salute (NAS) in quanto sospettato di contenere catinoni sintetici, si presentava come una confezione in plastica colorata contenente all'interno 2 capsule di colore verde. L’etichetta riportava la dicitura: “dose consigliata- una capsula con 1 litro d’acqua. Prodotto non destinato ad uso umano”.

Analisi per la ricerca di sostanze con attività farmacologica o dopante

L’analisi del prodotto è stata effettuata mediante l’utilizzo di un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa.

Estrazione del campione

Si sciolgono 10 mg di polvere, ottenuta polverizzando una delle due capsule, in 4 ml di una soluzione di tampone fosfato 0,1 M a pH 10. Il campione viene quindi posto in bagno ad ultrasuoni per 15 minuti, e successivamente si procede all’ estrazione del principio attivo aggiungendo 5 ml di tert-butilmetiletere. La fase organica raccolta viene evaporata sotto corrente d’azoto e successivamente risospesa in 100 µl di acetato di etile e una aliquota di 1 µl viene iniettata nel gas cromatografo.

Condizioni strumentali

Colonna Cromatografica: 1DB-MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura Iniettore: 260°C

Gas: Elio a 11,60 psi

Modalità di iniezione: Split:15:1

Programmata di temperatura: 100°C per 2 minuti, 100°C-230°C a 18C°/minuto per 2 minuti, 230°C-290°C a 20C°/minuto per 3 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

6-APB: 6,5 min

Frammenti caratteristici della sostanza ricercata

6-APB: m/z 131, 77, 44

Curva di calibrazione

Poiché il laboratorio non era in possesso di standard analitici certificati delle due sostanze, non è stato possibile effettuare una curva di calibrazione.

Risultati

Per l’identificazione del prodotto, il laboratorio ha eseguito un confronto tra gli spettri di massa registrati sul materiale in polvere oggetto di analisi con gli spettri di massa riportati nella letteratura internazionale identificando nel prodotto la presenza di 6-ABP^(14,15).

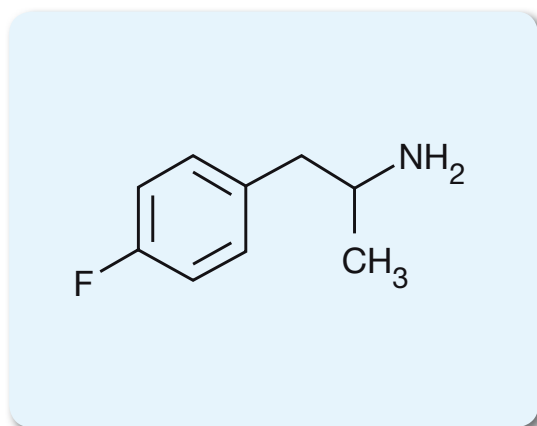
Bibliografia

1. ACUNA-CASTILLO C, MOYA PR, SAEZ P, CASSELS BK, HUIDOBRO-TORO JP. Differences in potency and efficacy of a series of phenylisopropylamines/ phenethylamine pairs at 5-HT_{2a} and 5-HT_{2c} receptors. *Br J Pharmacol.* 2002; 136: 510-519.
2. EMCDDA, EDND database, 6-APB and 4-APB. 2013. <https://ednd-cma.emcdda.europa.eu>
3. <http://www.drugs-forum.com/forum/showwiki.php?title=6-APB>
4. <https://www.caymanchem.com>
5. BRINER K, BURKHART J.P, BURKHOLDER TP, FISHER MJ, GRITTON WH, KOHLMAN DT, LIANG SX, MILLER SC, MULLANEY JT, XU YC, XU Y, WENIGER et al. Aminoalkylbenzofurans as serotonin (5-HT_{2C}) agonists, US Patent 7,045,545 B1 to Eli Lilly and Co., 16 May 2006.
6. JEBADURAI J, SCHIFANO F, DELUCA P. Recreational use of 1-(2-naphthyl)-2-(1-pyrrolidiny)-1-pentanone hydrochloride (NRG-1), 6-(2-aminopropyl) benzofuran (Benzofury/ 6-APB) and NRG-2 with review of available evidence-based literature. *Hum Psychopharmacol.* 2013; 28: 356-364.
7. SHANKS KG, DAHN T, BEHONICK G AND TERRELL A. Analysis of first and second generation legal highs for synthetic Cannabinoids and Synthetic Stimulants by Ultra-Performance Liquid Chromatography and Time of Flight Mass. Spectrometry *J Anal Toxicol.* 2012; 36: 360-371.
8. STANCZUK A, MORRIS N, GARDNER EA, KAVANAGH P. Identification of (2-aminopropyl)benzofuran (APB) phenyl ring positional isomers in Internet purchased products. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 270-276.
9. IVERSEN L, GIBBONS S, TREBLE R, SETOLA V, HUANG XP, ROTH BL. Neurochemical profiles of some novel psychoactive substances. *Eur J Pharmacol.* 2013; 700: 147-151.
10. CHAN WL, WOOD DM, HUDSON S, DARGAN PI. Acute Psychosis Associated with Recreational Use of Benzofuran 6-(2-Aminopropyl)Benzofuran (6-APB) and Cannabis. *J Med Toxicol.* 2013; 9: 278-281.
11. MONTE AP, MARONA-LEWICKA D, COZZI NV, NICHOLS DE. Synthesis and pharmacological examination of benzofuran, indan, and tetralin analogues of 3,4-(methylenedioxy) amphetamine. *J Med Chem.* 1993; 36: 3700-3706.
12. WOOD DM, DAVIES S, PUCHNAREWICZ M, JOHNSTON A, DARGAN PI. Acute toxicity associated with the recreational use of the ketamine derivative methoxetamine. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68: 853-856.
13. SEETOHUL LN, POUNDER DJ. Four fatalities involving 5-IT. *J Anal Toxicol.* 2013; 37: 447-451.
14. BARON M, ELIE M, ELIE L An analysis of legal highs – do they contain what it says on the tin? *Drug Test Anal.* 2011; 3: 576-581.
15. CASALE TJF, HAYS PA The Characterization of 5- and 6-(2-Aminopropyl)-2,3-dihydrobenzofuran. *Microgram J.* 2011; 8: 62-74.

4.5 4-Fluoroamfetamina

La 4-fluoroamfetamina (4-FA), derivato fenetilaminico con un atomo di cloro in posizione 4 (o para) nell'anello benzenico dell'amfetamina è una "designer drug" con effetto psicostimolante ed entactogenico, presente sul mercato telematico come "prodotto di ricerca (research chemical)" dal 2001⁽¹⁻³⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: 4-Fluoroamfetamina (4-FA).

Sinonimi: 4-fluoro- α -metil-benzenamina; p-fluoro- α -metil-fenetilamina; 4-fluoro α -metillfenetilamina; p-fluoro- α -metillfenetilamina; 1 PAL 303; PFA; 4-FMP; Flux, Flouroamphet; 4flo.

Formula Molecolare: C₉H₁₂FN (peso molecolare = 153,2).

Nome sistematico: 1-(4-fluorofenil)propan-2-ammina.

Numero di registro CAS: 459-02-9.

Punto di fusione: 122,9°C (sale cloridrato).

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua, alcol etilico.

Uso

Questo derivato amfetaminico viene utilizzato a scopo ricreazionale per i suoi effetti psicostimolanti^(2,3). Nella forma in polvere micro cristallina di colore beige-rosa, la 4-fluoroamfetamina può essere ingerita, disciolta in un liquido, inalata o assunta per via rettale. La via di assunzione preferita risulterebbe essere quella orale anche se il sapore non gradevole può limitare questo tipo di assunzione. Con l'inalazione gli effetti sono immediati, ma si possono generare irritazioni alle vie respiratorie. La via rettale viene considerata da alcuni consumatori una valida opzione per avere un inizio rapido degli effetti e per evitare i disagi da assunzione intranasale. Le informazioni relative alle dosi sono riportate nei forum di assuntori: le dosi minime sono nel range di 15-30 mg; quelle normalmente utilizzate da 80 a 150 mg, fino a dosi massime di 200-500 mg^(4,5). Gli effetti insorgono 20-30 minuti dopo l'assunzione orale, con picco massimo in 2-3 ore. La fase di decadimento degli effetti è molto graduale, sembra che possano essere percepiti fino a 12 ore dalla somministrazione iniziale^(4,5).

Legislazione

La 4-fluoroamfetamina è stata inserita con decreto ministeriale del 24 ottobre 2012, (G.U. Serie Generale n. 264 del 12 novembre 2012) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

La molecola risulta essere posta sotto controllo nei seguenti Paesi dell'Unione Europea: Repubblica Ceca, Danimarca, Finlandia, Francia, Ungheria, Lituania, Norvegia, Polonia, Slovacchia, Svezia e Regno Unito⁽³⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Uno studio *in vitro* su sinaptosomi di ratto ha dimostrato che la 4-fluoroamfetamina mostra una marcata azione inibitoria nella ricaptazione di dopamina, serotonina e norepinefrina, e un aumento del rilascio delle tre monoamine⁽⁶⁾. Studi su modello animale *in vitro* e *in vivo* mostrano che gli effetti psicostimolanti della 4-FA sono del tutto comparabili a quelli osservati per i derivati amfetaminici^(7,8).

Tossicità

Non sono noti studi tossicologici nell'uomo volti a stabilire la tossicità acuta e cronica della 4-fluoroamfetamina.

Nel topo femmina- DL50 dopo somministrazione orale: 25 mg/kg⁽⁹⁾

Nel topo- DL50 dopo somministrazione intraperitoneale: 46 mg/kg⁽¹⁰⁾

Effetti avversi

Gli effetti avversi correlati ad assunzione della 4-fluoroamfetamina includono: mal di testa, ansia, bruxismo, aumento della frequenza cardiaca, insonnia, soppressione dell'appetito, forti dolori nasali ed irritazione nel caso di assunzione intranasale⁽⁷⁾. A differenza dei suoi analoghi para-cloroamfetamina e para-bromoamfetamina, la 4-fluoroamfetamina non causa una deplezione duratura di serotonina cerebrale. Ciò potrebbe essere correlato alla presenza del fluoro e alla sua incapacità ad essere metabolizzato rispetto ad altre alo-amfetamine⁽¹¹⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della 4-fluoroamfetamina.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche presenti nella letteratura internazionale per la determinazione della 4-fluoroamfetamina prevedono l'uso combinato di cromatografia liquida e gassosa accoppiata alla spettrometria di massa e alla spettrometria di massa tandem per l'identificazione della sostanza nelle matrici biologiche convenzionali e non convenzionali⁽¹²⁻¹⁷⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della 4-fluoroamfetamina in urina⁽¹⁷⁾

Estrazione del campione

Ad una aliquota di 50 µl di urina (diluita 1:5) vengono aggiunti 200 µl (40 ng) di soluzione di standard interno (Etil 1-metil-4-fenilpiperidina-4-carbossilato o Petidina²H₄). Dopo agitazione su vortex per 10 minuti, 2 µl di urina diluita vengono iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: colonna Bridged Ethylene Hybrid (BEH) C18 (1,7 × 100 mm x 2,1 µm)

Temperatura della colonna: 60°C

Fase mobile A: Acido Formico 0,1%

Fase mobile B: 100% Acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente (dal 4% di B a 45% di B in 2.2 minuti, dal 45% di B al 95% di B in 1 minuto, mantenuto al 95% per 0,3 minuti, dal 95% di B al 4% di B per 0,01 minuti, mantenuto al 4% di B per 0,49 minuti)

Flusso: 0,4 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del gas di evaporazione: 600°C

Temperatura della sorgente: 150°C

Voltaggio del capillare: 0,5 kV

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

4-FA: 1,70 min

petidina²H₄: 2.04 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

4-FA: m/z 153.2 → 153,9; 137,0 → 108.7

petidina²H₄: m/z 252,2 → 224,1

Standard

Sono stati utilizzati standard di riferimento puri acquistati dalla Lipomed (Cambridge, Massachusetts, USA).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni da 0 a 10000 ng/ml.

Risultati

Il metodo è stato applicato come screening di urine di assuntori di sostanze da “sballo” legali all’epoca dell’analisi. Su 26 campioni di urina esaminati, 14 erano positivi alla 4-fluoroamfetamina.

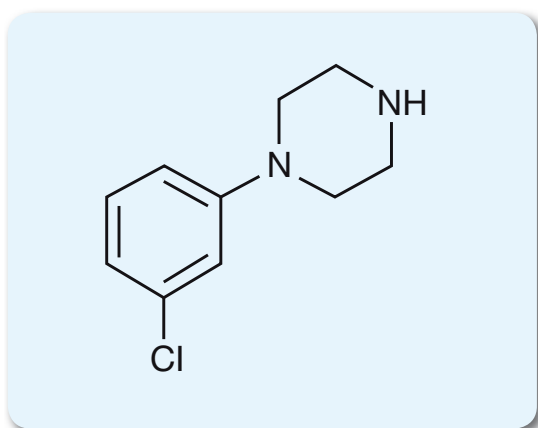
Bibliografia

1. JOHANSEN SS, HANSEN TM. Isomers of fluoroamphetamines detected in forensic cases in Denmark. *Int J Legal Med.* 2012; 126: 541-547.
2. EMCDDA, EDND database, 4-FMP (4-Fluoroamphetamine). 2013. http://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_2013_SMART.pdf
3. EMCDDA. Technical profile of 4-fluoroamphetamine. 2010. https://ewsd.wiv-isp.be/Publications%20on%20new%20psychoactive%20substances/4-Fluoroamphetamine/4FMP_Tech_Prof EMCDDA_Mar_2010.pdf
4. <http://www.psychonaut.com/sintetici/37263-4-fa.html>
5. <http://www.bluelight.ru/vb/threads/493388-%284-Fluoroamphetamine-150-mg%29-New-experience-So-fresh-so-clean>
6. NAGAI F, NONAKA R, SATOH HISASHI KAMIMURA K. The effects of non-medically used psychoactive drugs on monoamine neurotransmission in rat brain. *Eur J Pharmacol.* 2007; 559: 132-137.
7. MARONA-LEWICKA D, RHEE GS, SPRAGUE JE, NICHOLS DE. Psychostimulant-like effects of p-fluoroamphetamine in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1995; 287: 105-113.
8. FULLER RW, BAKER JC, PERRY KW, MOLLOY BB. Comparison of 4-chloro-, 4-bromo- and 4-fluoroamphetamine in rats: Drug levels in brain and effects on brain serotonin metabolism. *Neuropharmacology.* 1975; 14: 739-746.
9. SUTER CM, WESTON AW. Some Fluorinated Amines of the Pressor Type. *J Am Chem Soc.* 1941; 63: 602-605.
10. COSTA E, GARATTINI S. eds. International Symposium on Amphetamines and Related Compounds. *Psychol. Med.* 197; 1.
11. WEE S, ANDERSON KG, BAUMANN MH, ROTHMAN RB, BLOUGH BE, WOOLVERTON WL. Relationship between the serotonergic activity and reinforcing effects of a series of amphetamine analogs. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 313: 848-854.
12. RÖHRICH J, BECKER J, KAUFMANN T, ZÖRNTLEIN S, URBAN R. Detection of the synthetic drug 4-fluoroamphetamine (4-FA) in serum and urine. *Forensic Sci Int.* 2012; 215: 3-7.
13. RUST KY, BAUMGARTNER MR, DALLY AM, KRAEMER T. Prevalence of new psychoactive substances: A retrospective study in hair. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 402-408.
14. PEDERSEN AJ, DALSGAARD PW, RODE AJ, RASMUSSEN BS, MÜLLER IB, JOHANSEN SS, LINNET K. Screening for illicit and medicinal drugs in whole blood using fully automated SPE and ultra-high-performance liquid chromatography with TOF-MS with data-independent acquisition. *J Sep Sci.* 2013; 36: 2081-2089.
15. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, “spice” and stimulants in oral fluid. *J Chromatogr A.* 2012; 1258: 37-42.
16. RUST KY, BAUMGARTNER MR, DALLY AM, KRAEMER T. Prevalence of new psychoactive substances: A retrospective study in hair. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 402-408.
17. AL-SAFFAR Y, STEPHANSON NN, BECK O. Multicomponent LC–MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine-Experience from the Swedish population *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013; 930: 112-120.

4.6 Metaclorofenilpiperazina

La metaclorofenilpiperazina, indicata con la sigla mCPP, è una “designer drug” con proprietà psicostimolanti appartenente alla classe delle fenilpiperazine. La mCPP è nota anche come intermedio nella sintesi di diversi farmaci nonché per essere il principale metabolita del farmaco antidepressivo trazodone, agonista non selettivo dei recettori serotoninergici⁽¹⁾. Esistono tre diverse clorofenilpiperazine, in funzione della posizione dell’atomo di cloro sulla molecola, cloro in posizione 2: la 1-(2-clorofenil)piperazina, cloro in posizione 3: 1-(3-clorofenil)piperazina, cloro in posizione 4: 1-(4-clorofenil)piperazina (isomeri orto, meta e para). L’isomero meta (mCPP) con il cloro in posizione 3 sull’anello fenilico è l’isomero attivo⁽²⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: metaclorofenilpiperazina.

Sinonimi: 1-(3-clorofenil)piperazina, 1-(m-chlorofenil) piperazina, mCPP, meta-CPP, 3Cl-PP, 3CPP.

Formula Molecolare: $C_{10}H_{13}ClN_2$ (peso molecolare = 196,6).

Nome sistematico: 1 - (3-clorofenil) piperazina.

Numero di registro CAS: 6640-24-0.

Punto di fusione: 210-214°C.

UVmax: 248-252 nm.

Solubilità: acqua, alcol, glicerolo.

Uso

La metaclorofenilpiperazina risulta commercializzata su siti telematici o nel mercato illegale sotto forma di capsule o pasticche con forme e loghi vari, ma anche come polvere. La mCPP e le piperazine in generale sono spesso presenti come adulteranti dell’ecstasy e della cocaina o vendute in sostituzione dell’MDMA stessa^(3,4).

In ambito ricreazionale l’assunzione orale viene riportata come preferita e spesso associata al consumo di cannabis o di alcol; ma essendo la molecola disponibile anche in forma liquida, può venir assunta anche per via iniettiva. Gli effetti riportati sono sovrapponibili a quelli dell’MDMA con qualche effetto psichedelico in aggiunta⁽⁵⁾. Per quanto riguarda le dosi assunte, i consumatori riportano range molto ampi e corrispondenti ai dosaggi utilizzati negli studi controllati: 0,1-0,75 mg/kg, corrispondenti per un uomo del peso di 70 kg circa a dosaggi di 7-52 mg di mCPP. Alcuni consumatori riportano l’utilizzo di dosi massime di 25 mg di mCPP come sostanza termogenica per accelerare il metabolismo e permettere una miglior azione delle sostanze assunte in associazione, tipicamente cannabis e alcol⁽⁶⁾. Gli effetti fisiologici e soggettivi raggiungono il loro picco dopo 1-2 ore dall’assunzione per via orale e possono durare fino a 24 ore⁽⁶⁾.

Legislazione

Al momento in Italia nessuna delle forme isomeriche della metaclorofenilpiperazina risulta inclusa nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all’articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

L’isomero para (pCPP) risulta posto sotto controllo in Belgio, Bulgaria, Finlandia, Grecia, Ungheria, Lettonia, Lituania, Norvegia e Portogallo. L’isomero meta (mCPP), invece, risulta posto sotto controllo in Belgio, Bulgaria, Croazia, Cipro, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Finlandia, Germania, Grecia, Ungheria, Lettonia, Lituania, Malta, Norvegia, Portogallo, Romania, Slovacchia, Turchia e Nuova Zelanda⁽⁷⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La metaclorofenilpiperazina è un potente agonista dei recettori postsinaptici della serotonina con azione specifica sui recettori 5-HT₁, 5-HT_{1A}, 5-HT₂ e 5-HT_{2C} e ad azione antagonista sui recettori 5-HT₃ ed inoltre presenta affinità per i recettori α -adrenergici^(8,9). Per tale motivo, la metaclorofenilpiperazina produce effetti sia pre- che post-sinaptici sul sistema serotoninergico, con il risultato di effetto stimolante sul sistema nervoso centrale⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Tossicità

Non esistono dati di tossicità acuta o cronica della metaclorofenilpiperazina nell'uomo. I dati sperimentali sugli animali, dimostrano che l'assunzione di mCPP provoca effetti neurotossici acuti quali danni alle terminazioni nervose delle regioni del cervello che contengono dopamina⁽⁹⁾.

Effetti avversi

L'uso di metaclorofenilpiperazina può provocare ansia, confusione, tremori, paura di perdere il controllo, emicranie, attacchi di panico, sensibilità alla luce e al rumore, effetti tipici della sindrome serotoninergica⁽⁷⁾.

Sia gli effetti psicoattivi che gli effetti avversi legati al consumo di mCPP vengono descritti del tutto simili, sebbene di più modesta entità, a quelli dell'MDMA, con l'unica differenza degli effetti allucinogeni presenti solo nel caso della mCPP⁽¹⁴⁾. In letteratura sono presenti due casi di overdose accompagnati da ansia, agitazione, tachicardia correlati a poliassunzione di sostanze psicotrope tra cui la metaclorofenilpiperazina^(13,14).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della metaclorofenilpiperazina.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche presenti nella letteratura internazionale per la determinazione della metaclorofenilpiperazina prevedono l'uso combinato di cromatografia liquida e gassosa accoppiate alla spettrometria di massa per l'identificazione della sostanza nelle matrici biologiche convenzionali e non convenzionali di consumatori⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della metaclorofenilpiperazina in urina, sangue e tessuti post mortem⁽¹⁷⁾

Estrazione del campione

Ad una aliquota di sangue, urina, bile e fegato vengono aggiunti 10 μ l di una soluzione acquosa di prazepam (10 μ g/mL), quale standard interno e 4 ml di acqua distillata. La soluzione acquosa viene introdotta nel Toxi-Tube A[®] (Varian, Milano, Italia), agitata lentamente per 10 minuti, centrifugata a 3000 g per 10 minuti e quindi il surnatante viene evaporato a secco sotto un flusso di azoto a 45°C. Il residuo secco viene ricostituito con 45 μ l di una soluzione acetonitrile e acqua (50/50 v/v), e 10 μ l vengono iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Hypersil gold C18 (2,1 × 100 mm x 3 µm)

Fase Mobile A: 50% acetonitrile e 50% acqua

Mobile B: formiato di ammonio 2 mM

Temperatura della colonna: 35°C

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile A da 0.00 a 4,9 minuti al 5%, tra 4,9 a 5 minuti al 100% mantenuto per 2.5 minuti)

Flusso: 0,4 ml/min

Temperatura del gas di evaporazione: 350°C

Temperatura della sorgente: 270°C

Voltaggio del capillare: 4500V

Rivelatore: spettrometro di massa tandem con interfaccia ad elettrospray in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

mCPP: 3,79 min

prazepam (standard interno): 6,06 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

mCPP: (m/z) 197,0 → 153,9 → 154,0

prazepam: 325,0 → 270,9 → 271,0

Standard

Sono stati utilizzati standard di riferimento acquistati presso la ditta LGC Standards (Sesto San Giovanni, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in sangue e urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni crescenti di mCPP da 1 a e 200 ng/ml.

Risultati

Lo studio tratta di un caso di decesso di un soggetto maschio, 20 anni, asmatico, policonsumatore di cocaina e MDMA, fortemente scompensato per una crisi asmatica dopo l'ingestione di due compresse di mCPP, plausibilmente contenenti circa 90 mg di sostanza.

Gli esami tossicologici post-mortem hanno rilevato presenza di meta- clorofenilpiperazina nella bile, nel fegato e nelle urine (15,0 ng/ml), solo tracce nel sangue epatico.

Bibliografia

1. JOHANSEN SS, HANSEN TM. Isomers of fluoroamphetamines detected in forensic cases in Denmark. *Int J Legal Med.* 2012; 126: 541-547.
2. EMCDDA, EDND database, 4-FMP (4-Fluoroamphetamine). 2013. http://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_2013_SMART.pdf
3. EMCDDA. Technical profile of 4-fluoroamphetamine. 2010. https://ewsd.wiv-isp.be/Publications%20on%20new%20psychoactive%20substances/4-Fluoroamphetamine/4FMP_Tech_Prof EMCDDA_Mar_2010.pdf
4. <http://www.psychonaut.com/sintetici/37263-4-fa.html>
5. <http://www.bluelight.ru/vb/threads/493388-%284-Fluoroamphetamine-150-mg%29-New-experience-So-fresh-so-clean>
6. NAGAI F, NONAKA R, SATOH HISASHI KAMIMURA K. The effects of non-medically used psychoactive drugs on monoamine neurotransmission in rat brain. *Eur J Pharmacol.* 2007; 559: 132-137.
7. MARONA-LEWICKA D, RHEE GS, SPRAGUE JE, NICHOLS DE. Psychostimulant-like effects of p-fluoroamphetamine in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1995; 287: 105-113.
8. FULLER RW, BAKER JC, PERRY KW, MOLLOY BB. Comparison of 4-chloro-, 4-bromo- and 4-fluoroamphetamine in rats: Drug levels in brain and effects on brain serotonin metabolism. *Neuropharmacology.* 1975. 14: 739-746.

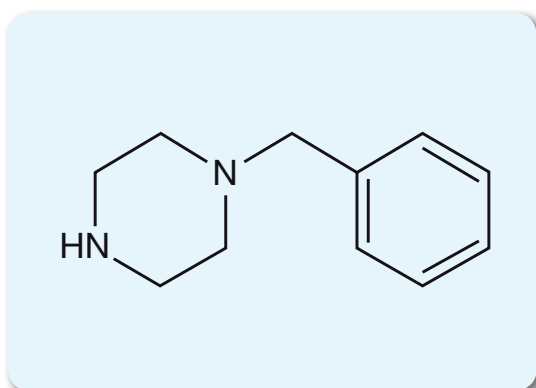
9. SUTER CM, WESTON AW. Some Fluorinated Amines of the Pressor Type. *J Am Chem Soc.* 1941; 63: 602-605.
10. COSTA E, GARATTINI S. eds. *International Symposium on Amphetamines and Related Compounds.* *Psychol. Med.* 197; 1.
11. WEE S, ANDERSON KG, BAUMANN MH, ROTHMAN RB, BLOUGH BE, WOOLVERTON WL. Relationship between the serotonergic activity and reinforcing effects of a series of amphetamine analogs. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 313: 848-854.
12. RÖHRICH J, BECKER J, KAUFMANN T, ZÖRNTLEIN S, URBAN R. Detection of the synthetic drug 4-fluoroamphetamine (4-FA) in serum and urine. *Forensic Sci Int.* 2012; 215: 3-7.
13. RUST KY, BAUMGARTNER MR, DALLY AM, KRAEMER T. Prevalence of new psychoactive substances: A retrospective study in hair. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 402-408.
14. PEDERSEN AJ, DALSGAARD PW, RODE AJ, RASMUSSEN BS, MÜLLER IB, JOHANSEN SS, LINNET K. Screening for illicit and medicinal drugs in whole blood using fully automated SPE and ultra-high-performance liquid chromatography with TOF-MS with data-independent acquisition. *J Sep Sci.* 2013; 36: 2081-2089.
15. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, CASTRIGNANÒ E, ROMOLO FS, CHIAROTTI M. Ultra high performance liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry screening method for direct analysis of designer drugs, “spice” and stimulants in oral fluid. *J Chromatogr A.* 2012; 1258: 37-42.
16. RUST KY, BAUMGARTNER MR, DALLY AM, KRAEMER T. Prevalence of new psychoactive substances: A retrospective study in hair. *Drug Test Anal.* 2012; 4: 402-408.
17. AL-SAFFAR Y, STEPHANSON NN, BECK O. Multicomponent LC–MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine-Experience from the Swedish population. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013; 930: 112-120.

4.7 Benzilpiperazina

La benzilpiperazina (BZP) è un derivato piperazinico studiato nel 1970 per le sue potenzialità come antidepressivo, ma mai entrato in commercio poiché presentava effetti psicoattivi e un potenziale d'abuso del tutto simili a quelli dell'amfetamina⁽¹⁾.

Si tratta di una "designer drug" sintetica ad effetto stimolante che ha fatto la comparsa nel mondo delle vendite telematiche e negli "smart shops" in Europa nel 2000, dopo esser stata introdotta nel mercato delle droghe ricreative in Nuova Zelanda per i suoi effetti stimolanti ed euforizzanti e per il fatto di essere perfettamente legale negli anni di maggior diffusione^(2,3).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche



Nome: benzilpiperazina.

Sinonimi: BZP; 1-(fenilmetil)-Piperazina, Pep, euphoria, nemesis, bliss.

Formula Molecolare: C₁₁H₁₆N₂ (peso molecolare = 176,2).

Nome sistematico: 1-benzilpiperazina.

Numero di registro CAS: 2759-28-6.

Punto di fusione: 17-20°C (base); 289-292°C (sale cloridrato).

UVmax: 248-252 nm.

Solubilità: acqua, alcol, glicerolo.

Uso

La benzilpiperazina (BZP) viene venduta per le sue proprietà psicostimolanti sia come cloridrato che come base libera: il cloridrato è una polvere di colore bianco, irritante per gli occhi, le vie respiratorie e la pelle; la base è un liquido leggermente giallo-verde, corrosivo che può provocare ustioni⁽⁴⁾. La sostanza è venduta su siti Internet, in "erboristerie" o "smart shops" ed è spesso commercializzata come prodotto "naturale", "estratto di pepe" o di "erbe" e infine come "integratore alimentare", nonostante non presenti alcun potenziale valore dietetico^(5,6). Le dosi raccomandate nei forum di utilizzatori variano dai 20 ai 100 mg e viene riportata una durata degli effetti psicoattivi di 6-8 ore⁽⁷⁾. La sostanza è tipicamente consumata per via orale in capsule o compresse, raramente la polvere viene sniffata o disciolta per essere iniettata⁽⁵⁾.

Legislazione

La benzilpiperazina in Italia è stata inserita con decreto ministeriale del 18 luglio 2007 (G.U. Serie Generale n. 173 del 27 luglio 2007) nella Tabella I della lista delle sostanze stupefacenti o psicotrope sottoposte alla vigilanza ed al controllo di cui all'articolo 14 del decreto del Presidente della Repubblica 309/90 (Testo unico delle leggi in materia di disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope) e successive modifiche ed integrazioni.

Gli Stati Uniti sono stati tra i primi paesi a vietare la sostanza (2002), seguiti dall'Australia (2006) e dal Giappone (2006). Successivamente, la benzilpiperazina è stata posta sotto controllo in Irlanda, Danimarca, Svezia, Belgio, Estonia, Grecia, Lituania e Malta.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il meccanismo d'azione della benzilpiperazina sui neurotrasmettitori dopamina e serotonina è considerato del tutto simile a quello delle amfetamine e dell'MDMA così come i suoi effetti psicostimolanti⁽⁶⁾. La benzilpiperazina agisce infatti sia sul reuptake postsinaptico dei recettori della dopamina che sul trasportatore della ricaptazione della serotonina, aumentando le concentrazioni dei due neurotrasmettitori nei fluidi extracellulari e incrementando l'attivazione dei recettori 5-HT1 della

serotonina circostante⁽⁸⁻¹⁰⁾. Inoltre, studi *in vitro* hanno dimostrato che la BZP aumenta il rilascio di noradrenalina nelle fibre nervose del sistema simpatico periferico. L'aumento della concentrazione circolante di noradrenalina porta ad una maggiore attivazione dei recettori post-sinaptici α -e β -adrenergici centrali e periferici provocando un aumento della pressione sanguigna e della frequenza cardiaca⁽¹¹⁾. A seguito di assunzione per via orale di BZP, le concentrazioni plasmatiche massime vengono raggiunte dopo 60-90 minuti. Il farmaco è in grado di attraversare la barriera emato-encefalica ed è metabolizzato principalmente mediante idrossilazione e N-dealchilazione catalizzata dal citocromo P450 e catecol-O-metil transferasi⁽¹²⁾. L'emivita della sostanza è di circa 6 ore con una eliminazione completa in 44 ore⁽¹²⁾. Solo piccole quantità di BZP immodificata sono escrete con le urine, suggerendo una scarsa biodisponibilità e/o una eliminazione per via biliare della droga⁽¹²⁾.

Tossicità

Recenti studi *in vivo* e *in vitro* sugli effetti tossici della benzilpiperazina, hanno dimostrato che l'assunzione provoca convulsioni con crisi epilettiche, gravi crisi respiratorie e acidosi metabolica in soggetti neurologicamente normali⁽¹³⁾. Testando *in vitro* miscele di benzilpiperazina contenenti anche i precursori della sua sintesi in quantità analoghe a quelle riscontrate nelle compresse clandestine, è stato dimostrato che la sostanza possiede tossicità a livello renale mentre il precursore la piperazina, a livello epatico⁽¹⁴⁾.

Effetti avversi

È complesso stabilire gli effetti avversi dovuti al solo consumo di BZP, poiché nella maggior parte dei casi questa sostanza è consumata simultaneamente con alcol, cannabis ed MDMA⁽¹¹⁾. Tra gli effetti avversi segnalati dopo l'utilizzo di BZP vengono riportati: tachicardia, agitazione, dolore toracico, insufficienza respiratoria, psicosi acuta, midriasi, insonnia dolori addominali e convulsioni^(11,15,16).

Sono stati riportati quattro differenti casi di fatalità, in cui nei liquidi biologici post-mortem è stata identificata la BZP. Poiché la droga non era l'unica sostanza psicotropa presente, è possibile ricondurre il decesso alla assunzione simultanea di più sostanze, di cui una presente nella maggioranza dei casi era l'alcol^(17,18).

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate in letteratura possibili interazioni farmacologiche della benzilpiperazina.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Le metodologie analitiche presenti in letteratura per la determinazione della benzilpiperazina e dei suoi metaboliti in matrici biologiche (es. sangue e urina) di consumatori prevedono l'uso combinato di cromatografia liquida e gassosa accoppiata alla spettrometria di massa^(12,19).

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia tuttavia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della benzilpiperazina e suoi metaboliti nel plasma e nell'urina⁽¹²⁾

Estrazione del campione

Un'aliquota di plasma (100 μ l) viene deproteinizzata mediante l'aggiunta di ZnSO₄ (20 μ l, 35%) e alcol metilico (100 μ l). Il campione miscelato su vortex per 1 minuto, viene centrifugato per 10 min e il surnatante viene raccolto per l'analisi.

Un'aliquota di urina (500 µl) viene incubata a 37°C per 12 h con una miscela di βglucuronidasi. Il campione di urina viene centrifugato per 10 min a 11.200 g, e il supernatante è stato raccolto per l'analisi

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Agilent Zorbax C18 HPLC column (4.6 x 150 mm, 5 µm)

Fase Mobile A: ammonio formiato PH4,5 0,01

Fase Mobile B: acetonitrile

Temperatura della colonna: 20°C

Modalità di separazione: gradiente (0-2 min 5% B; 2-5 min 10% B; 5-10 min 10-55% B; 10-12 min 55-5% B; 12,5 min 5% B).

Flusso: 0,4 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Temperatura del gas di evaporazione: 350°C

Temperatura della sorgente: 270°C

Voltaggio del capillare: 3000V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

BZP: 7,61 min

3-idrossi BZP: 2,46 min

4-idrossi BZP: 3,55 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

BZP: m/z 177

3-idrossi BZP: m/z 193

4-idrossi BZP: m/z 193

Standard

Lo standard della benzilpiperazina può essere acquistato presso la ditta Alfa Aesar (USA).

Curva di calibrazione

La curva di calibrazione in sangue e urina è stata preparata coprendo un range di concentrazioni crescenti: da 1 a 50 ng/ml.

Risultati

Questo metodo è stato applicato con successo all'analisi di BZP e dei suoi metaboliti nel plasma umano di consumatori della sostanza. Dopo 24 ore dall'assunzione di una dose orale di 60 mg le concentrazioni plasmatiche di BZP erano di $20,2 \pm 4,6$ ng/ml. Non vengono forniti dati quantitativi sui due metaboliti.

Bibliografia

1. CAMPBELL H, CLINE W, EVANS M, LLOYD J, PECK AW. Comparison of the effects of dexamphetamine and 1-benzylpiperazine in former addicts. *Eur J Clin Pharmacol.* 1973; 6: 170-176.
2. GEE P, FOUNTAIN J. "Party on? BZP party pills in New Zealand". *N Z Med J.* 2007; 120: U2422.
3. DE BOER D, BOSMAN IJ, HIDVÉGI E, MANZONI C, BENKŐ AA, REYS LJAL, MAES RAA. Piperazine-like compounds: a new group of designer drugs-of-abuse on the European market. *Forensic Sci. Int.* 2001; 121: 47-56.
4. http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/5.3aBZP_Pre-review.pdf.
5. GEE P, GILBERT M, RICHARDSON S, MOORE G, PATERSON S, GRAHAM P. Toxicity from the recreational use of 1-benzylpiperazine. *Clin Toxicol (Phila).* 2008; 46: 802-807.
6. ALANSARI M, HAMILTON D. "Nephrotoxicity of BZP-based herbal party pills: a New Zealand case report". *N Z Med J.* 2006; 119: U1959.
7. https://www.erowid.org/chemicals/piperazines/piperazines_info1.shtml

8. BAUMANN M, CLARK R, BUDZYNSKI A, PARTILLA J, BLOUGH B, ROTHMAN R. N-substituted piperazines abused by humans mimic the molecular mechanism of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, or 'Ecstasy'). *Neuropsychopharmacology*, 2005; 30: 550-560.
9. BAUMANN M, CLARK R, BUDZYNSKI A, PARTILLA J, BLOUGH B, ROTHMAN R. "Effects of "Legal X" piperazine analogs on dopamine and serotonin release in rat brain". *Ann N Y Acad Sci*. 2004; 1025: 189-197.
10. FANTEGROSSI W, WINGER G, WOODS J, WOOLVERTON W, COOPA A. "Reinforcing and discriminative stimulus effects of 1-benzylpiperazine and trifluoromethylphenylpiperazine in rhesus monkeys". *Drug Alcohol Depend*. 2005; 77: 161-168.
11. SCHEP LJ, SLAUGHTER RJ, VALE JA, BEASLEY DM, GEE P. "The clinical toxicology of the designer "party pills" benzylpiperazine and trifluoromethylphenylpiperazine". *Clin Toxicol (Phila)*. 2011; 49: 131-141.
12. ANTIA U, TINGLE MD, RUSSELL BR. Validation of an LC-MS method for the detection and quantification of BZP and TFMPP and their hydroxylated metabolites in human plasma and its application to the pharmacokinetic study of TFMPP in humans. *J Forensic Sci*. 2010; 55: 1311-1318.
13. COHEN BMZ, BUTLER R. BZP-party pills: A review of research on benzylpiperazine as a recreational drug. *Int J Drug Policy*. 2011; 22: 95-101.
14. GEE P, RICHARDSON S, WOLTERS DORF W, MOORE G. Toxic effects of BZP-based herbal party pills in humans: a prospective study in Christchurch, New Zealand. *N Z Med J*. 2005; 118: U1784.
15. WILKINS C, SWEETSUR P, GIRLING M. Patterns of benzylpiperazine trifluoromethylphenylpiperazine party pill use and adverse effects in a population sample in New Zealand. *Drug Alcohol Rev*. 2008; 27: 633-639.
16. THERON L, JANSEN K, MILES J. Benzylpiperazine-based party pills' impact on the Auckland City Hospital Emergency Department Overdose Database (2002-2004) compared with ecstasy (MDMA or methylene dioxymethamphetamine), gamma hydroxybutyrate (GHB), amphetamines, cocaine, and alcohol. *N Z Med J*. 2007; 120: U2416.
17. BALMELLI C, KUPFERSCHMIDT H, RENTSCH K, SCHNEEMANN M. Fatal brain oedema after ingestion of ecstasy and benzylpiperazine [German]. *Dtsch Med Wochenschr* 2001; 126: 809-811.
18. ELLIOTT S, SMITH C. Investigation of the first deaths in the United Kingdom involving the detection and quantitation of the piperazines BZP and 3-TFMPP. *J Anal Toxicol*. 2008; 32: 172-177.
19. PICHINI S, PUJADAS M, MARCHEI E, PELLEGRINI M, FIZ J, PACIFICI R, ZUCCARO P, FARRÉ M, DE LA TORRE R. Liquid chromatography-atmospheric pressure ionization electrospray mass spectrometry determination of "hallucinogenic designer drugs" in urine of consumers. *J Pharm Biomed Anal*. 2008; 47: 335-342.



5

Potenziatori
delle performance
sessuali

5.1 Introduzione

La disfunzione erettile è “l'incapacità del soggetto di sesso maschile a raggiungere e/o mantenere un'erezione sufficiente a condurre un rapporto sessuale”. L'induzione all'erezione coinvolge la produzione di guanosina monofosfato ciclico (cGMP), stimolata principalmente dall'ossido nitrico nei corpi cavernosi penieni. Le fosfodiesterasi V, enzimi deputati alla rottura dei legami fosfodiesterici nei corpi cavernosi, trasformano la cGMP in metaboliti inattivi ponendo termine all'erezione.

I farmaci della classe degli inibitori delle fosfodiesterasi V si sono rivelati risolutivi nel trattamento della disfunzione erettile. Il primo farmaco di questa classe ad essere messo in commercio è stato il citrato di sildenafil nel 1998, con il nome di Viagra, seguito poi dal vardenafil, modifica strutturale della molecola capostipite. Infatti la struttura chimica del vardenafil differisce da quella del sildenafil in quanto l'anello pirazolico è sostituito da un anello imidazolico e per il sostituito alchilico dell'anello piperazinico, che invece di essere un gruppo metile, è un gruppo etile, senza alcuna modificazione delle proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche. Il vardenafil vanta però una proprietà particolare: aumenta significativamente il tempo che occorre dall'inizio della penetrazione vaginale all'eiaculazione e può quindi essere usato anche nel trattamento dell'eiaculazione precoce. Infine, il Tadalafil è, ad oggi, l'ultimo farmaco della classe degli inibitori della fosfodiesterasi di tipo 5 ad essere stato immesso in commercio. A differenza del sildenafil e del vardenafil, il tadalafil ha un'emivita più lunga (circa 17 ore), permettendo un effetto più prolungato, intorno alle 36 ore.

È stato stimato un volume di vendita degli inibitori delle fosfodiesterasi di alcuni milioni di euro sul territorio nazionale. Questo enorme volume di vendite e la scadenza del brevetto nella produzione del sildenafil nel 2013 in Italia ha aperto di fatto il mercato anche ai farmaci generici contenenti non solo sildenafil, ma anche vardenafil e tadalafil. Il mercato si è spostato sui siti telematici di provenienza internazionale e nei negozi specializzati in articoli erotici e materiale pornografico offrendo farmaci con prezzi competitivi rispetto a quelli delle specialità farmaceutiche regolarmente registrate. Vengono anche venduti prodotti naturali, erboristici che vantano un effetto simile a quello delle tre molecole suddette e promettono un aumento della libido per la possibilità di correggere alcune disfunzioni o disagi tipici della sfera affettivo-sessuale dell'uomo e della donna⁽¹⁾.

L'impiego di questi prodotti presentati in commercio sotto forma di capsule, compresse, bustine, flaconcini, risulta notevolmente aumentato a causa della diffusa convinzione che i prodotti di origine naturale siano più sicuri e meno dannosi degli analoghi prodotti farmaceutici. Risulta infatti aumentato il loro uso come sostituti di farmaci utilizzati nella terapia della disfunzione erettile. Poiché la normativa non consente di vendere farmaci soggetti a prescrizione medica in luoghi diversi dalle farmacie, i siti web che commercializzano queste sostanze ricorrono ad alcuni escamotage definendo i loro prodotti integratori naturali contenenti miscele di piante ed erbe essiccate con presunte proprietà del tutto simili a quelle dei corrispondenti farmaci. Molti di questi prodotti, invece, sebbene venduti ed etichettati come integratori, devono essere considerati a tutti gli effetti sostanze farmaceutiche di vendita non autorizzata, in quanto all'interno di molti di essi è stata riscontrata la presenza di principi attivi inibitori delle fosfodiesterasi.

I prodotti pubblicizzati e venduti come prodotti naturali, presentano infatti etichettature sulle quali si riportano come ingredienti di origine vegetale piante quali ad esempio la radice di Ginseng (*Panax ginseng*), la citrullina (*Citrullus lanatus*), la maca andina (*Lepidium meyenii*) ma anche la Damiana (*Turnera diffusa*), Guarànà (*Paullinia cupana*) la yohimbina (*Pausinystalia yohimbe*), tradizionalmente utilizzati da alcuni gruppi etnici sudamericani ed asiatici come prodotti energizzanti. Questi integratori commercializzati attraverso i canali internet ad una prima analisi visiva della confezione risultano spesso, per gli ingredienti dichiarati in etichetta simili se non uguali, agli integratori alimentari regolarmente registrati secondo il decreto ministeriale n. 169 del 21 maggio 2004⁽²⁾.

Diversamente, in seguito ad analisi chimico-tossicologiche effettuate su alcuni di questi prodotti, è stato possibile identificare la presenza dei più comuni inibitori della fosfodiesterasi 5(PDE-5) quali sildenafil, tadalafil e vardenafil⁽³⁻⁴⁾. Queste sostanze dovrebbero essere acquistate con ricetta medica e somministrate sotto controllo medico poiché un loro uso indiscriminato può causare seri effetti sulla salute⁽⁵⁾. Per evitare di incorrere in problemi legali, recentemente negli integratori venduti su siti web come potenziatori delle performance sessuali i principi farmaceutici sopra menzionati sono stati sostituiti da “analoghi” strutturali dei tre comuni inibitori delle fosfodiesterasi. Molti di questi analoghi non sono

al momento registrati come farmaci e ciò rende più facile l'aggiunta all'interno dei supplementi dietetici venduti come integratori per l'aumento della libido⁽⁶⁾.

Tali prodotti sono comunemente acquistati attraverso le cosiddette "farmacie on-line". Uno studio condotto dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), in collaborazione con l'Organizzazione Mondiale della Sanità ed altri Enti collegati ad AIFA attraverso la task force nazionale IMPACT, ha evidenziato che la maggior parte delle cosiddette farmacie on line risulta priva di autorizzazione al commercio di farmaci⁽⁷⁾.

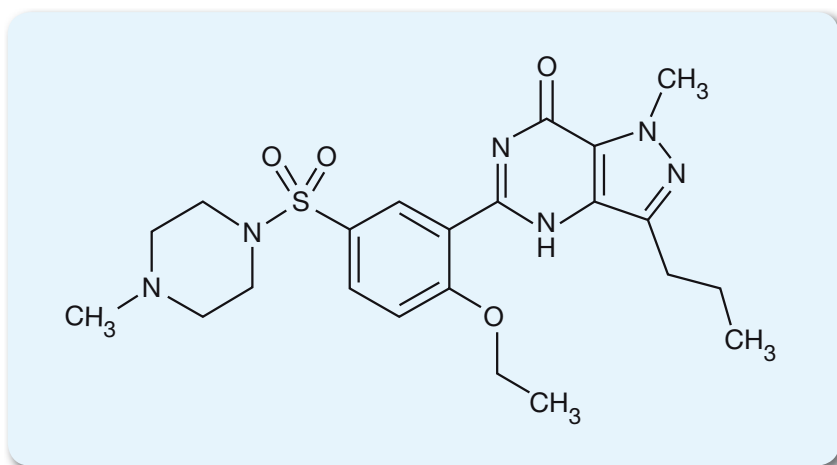
Vengono riportate brevemente le proprietà chimico fisiche e farmaco tossicologiche dei tre principali inibitori delle fosfodiesterasi insieme a un esempio di metodologia di analisi di tali principi attivi in supplementi dietetici e in urine di consumatori al fine di fornire utili dettagli al professionista del laboratorio analitico che deve eseguire le analisi.

Bibliografia

1. JACKSON G, ARVER S, BANKS I, STECHER VJ. Counterfeit phosphodiesterase type 5 inhibitors pose significant safety risks. *Int J Clin Pract.* 2010; 64: 497-504.
2. <http://www.salute.gov.it/alimentiParticolariIntegratori.jsp>
3. GRATZ SR, FLURER CL, WOLNIK KA. Analysis of undeclared synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors in dietary supplements and herbal matrices by LC-ESI-MS and LC-UV. *J Pharm Biomed Anal.* 2004; 36: 525-533.
4. ZOU P, OH SS, HOU P, LOW MY, KOH HL. Simultaneous determination of synthetic phosphodiesterase-5 Low inhibitors found in a dietary supplement and pre-mixed bulk powders for dietary supplements using high-performance liquid chromatography with diode array detection and liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr. A* 2006; 1104: 113-122.
5. VENHUIS BJ, ZWAAGSTRA ME, BERG JDJVD, RIEL AJHPV, WAGENAAR HWG, GROOTHEEST KV, BARENDIS D, KASTE DD. Illicit erectile dysfunction products in the Netherlands; a decade of trends and a 2007-2010 product update. National Institute for Public Health and the Environment 2010: <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/370030003.pdf>
6. VENHUIS BJ, DE KASTE D. Towards a decade of detecting new analogues of sildenafil, tadalafil and vardenafil in food supplements: A history, analytical aspects and health risks. *J Pharm Biomed Anal.* 2012; 69: 196-208.
7. Farmaci contraffatti: il fenomeno e le attività di contrasto D. Di Giorgio ed., Tecniche Nuove, AIFA/EDQM publishing: ISBN 978-88-481-2553-6, 2010.

5.2 Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi ⁽¹⁾



Nome: sildenafil.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{30}N_6O_4S$ (peso molecolare = 476,6).

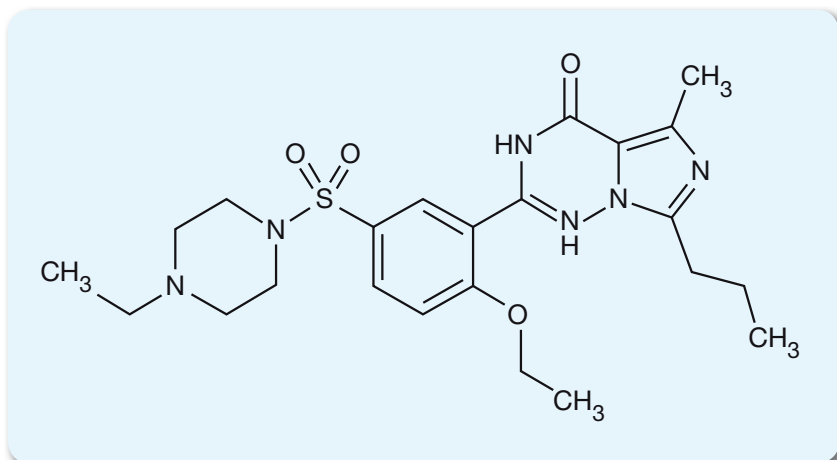
Nome sistematico: 1-((3-(4,7-diidro-1-metil-7-osso-3-propil-1H-pirazolo(4,3-d)pirimidin-5-il)-4-etossifenil)sulfonil)-4-metil-piperazina.

Numero di registro CAS: 139755-83-2.

Punto di fusione: 187°-189°C.

UVmax: 230 nm.

Solubilità: solubile in dimetilformammide, acido acetico. Scarsamente solubile in alcool metilico.



Nome: vardenafil.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_4S$ (peso molecolare = 488,6).

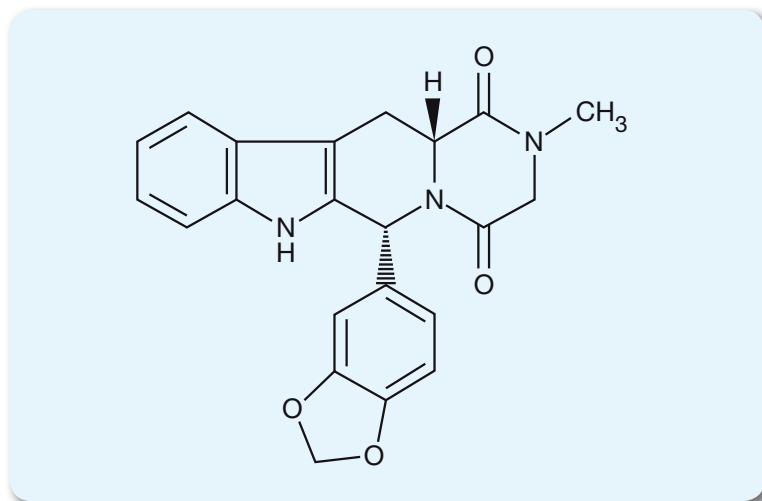
Nome sistematico: 1-[[3-(1,4-diidro-5-metil-4-osso-7-propylimidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-2-il)-4-etossifenil]sulfonil]-4-etil-piperazina.

Numero di registro CAS: 224785-90-4.

Punto di fusione: 218°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: scarsamente solubile in acqua.



Nome: tadalafil.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{19}N_3O_4$ (peso molecolare = 389,4).

Nome sistematico: (6R-trans)-6-(1,3-benzodiossol-5-il)-2,3,6,7,12,12a-esaidro-2-metil-pirazino(1',2':1,6) pirido(3,4-b) indol-1,4-dione.

Numero di registro CAS: 171596-29-5.

Punto di fusione: 302-303°C.

UVmax: 200, 285 nm.

Solubilità: scarsamente solubile in alcol etilico. Insolubile in acqua.

Uso

Il Sildenafil, il Vardenafil ed il Tadalafil sono farmaci utilizzati sia nella terapia delle disfunzioni erettili che per il trattamento dell'ipertensione arteriosa polmonare^(2,3).

Legislazione

I farmaci contenuti come principi attivi il sildenafil (nome commerciale: Viagra), il vardenafil (nome commerciale: Levitra) ed il tadalafil (nome commerciale: Cialis) vengono venduti in Italia esclusivamente nelle farmacie dietro presentazione di ricetta medica ripetibile e il Sistema Sanitario Nazionale attribuisce a tali farmaci la "fascia C" dei medicinali, la cui spesa è interamente a carico del cittadino.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il meccanismo fisiologico responsabile dell'erezione del pene implica il rilascio di ossido di azoto (NO) nel corpo cavernoso durante la stimolazione sessuale. L'ossido di azoto a sua volta attiva l'enzima guanil-ciclastasi che provoca un aumento dei livelli di guanosina monofosfato ciclico (cGMP), producendo il rilassamento della muscolatura liscia nel corpo cavernoso e consentendo quindi l'afflusso di sangue.

Il sildenafil, il tadalafil ed il vardenafil sono inibitori selettivi dell'enzima fosfodiesterasi di tipo 5 (PDE-5) responsabile della degradazione della cGMP nel corpo cavernoso del pene. Inibendo la PDE-5, i tre farmaci amplificano l'azione di NO e quindi potenziano il meccanismo fisiologico dell'erezione. Questa loro azione inibitoria risulta più potente sulle PDE-5 che sulle altre fosfodiesterasi⁽⁴⁾. Quando la via NO/cGMP viene attivata con la stimolazione sessuale, l'inibizione della PDE-5 da parte di questi principi attivi provoca un aumento dei livelli di cGMP nel corpo cavernoso con conseguente aumento dell'afflusso di sangue cui segue un miglioramento dell'erezione penica nei casi di disfunzione erettile.

Pertanto è necessaria la stimolazione sessuale affinché sia il sildenafil, il tadalafil, che il vardenafil possano produrre i loro effetti farmacologici⁽⁵⁾. Le informazioni riguardanti l'assorbimento, il metabolismo e l'eliminazione dei tre principali inibitori delle fosfodiesterasi sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1. Assorbimento, metabolismo ed eliminazione dei tre principi

| | Sildenafil ⁽⁶⁾ | Tadalafil ⁽⁷⁾ | Vardenafil ⁽⁸⁾ |
|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Assorbimento dopo l'assunzione | Rapido | Rapido | Rapido |
| Picco plasmatico | 30-120 minuti | 30-120 minuti | 30-120 minuti |
| Enzimi metabolizzatori | CYP3A4 CYP2C9 | CYP3A4 | CYP3A4 CYP3A5 CYP2C |
| Principale metabolita | N-desmetilsildenafil | Metilcatecolglucoronide | D-etilvardenafil |
| Eliminazione | 80% Feci 13% Urine | 61% Feci 36% Urine | 95% Feci 5% Urine |

Tossicità

In Tabella 2 si riportano i dati relativi alla tossicità acuta delle sostanze in alcune specie animali, non sono invece presenti dati sull'uomo.

Tabella 2. Tossicità acuta delle sostanze sildenafil, vardenafil tadalafil in alcune specie animali

| Molecola | Specie animale | Modalità di somministrazione | DL50 |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|----------------|
| Sildenafil ⁽⁹⁾ | ratto | orale | 300-500 mg/kg |
| | ratto | cutanea | >2000 mg/kg |
| | topo | orale | 500-1000 mg/kg |
| Vardenafil ⁽¹⁰⁾ | ratto | orale | 190 mg/kg |
| Tadalafil ⁽¹¹⁾ | ratto | orale | 2000 mg/kg |

DL50 = dose letale per il 50% degli animali testati

Effetti avversi

Gli effetti indesiderati più frequentemente segnalati dopo l'uso di inibitori delle PDE-5 sono cefalea (in analogia con quella da nitroderivati organici, potrebbe colpire preferenzialmente i cefalalgici), vampate di calore al volto e dispepsia. Con meno frequenza compaiono: priapismo, congestione nasale, diarrea, capogiri, artralgie e rash cutanei ⁽⁵⁾.

Le reazioni avverse rappresentate da cefalea, vampate di calore e congestione nasale indicano che la vasodilatazione indotta da questi principi attivi non è confinata solo ai corpi cavernosi del pene. Vengono inoltre riportati, specie alle dosi più elevate, disturbi transitori della vista, una maggiore intensità dei colori o un'aumentata brillantezza della luce o una visione offuscata e azzurrognola. L'incidenza e l'intensità delle reazioni avverse tende ad aumentare con l'aumentare delle dosi. L'effetto indesiderato più temibile durante l'utilizzo di questi farmaci è l'ipotensione, poiché questi tre farmaci agiscono, sebbene in scarsa misura, anche sulle PDE-5 presenti nei vasi polmonari e in altri distretti corporei ⁽¹²⁾.

Interazioni farmacologiche

A causa del loro meccanismo d'azione il sildenafil, il tadalafil ed il vardenafil potenziano gli effetti ipotensivi dei nitroderivati. L'uso di nitrati a breve durata d'azione o una terapia con nitrati a lunga durata d'azione rappresenta, pertanto, una controindicazione assoluta all'uso di questi farmaci. Inoltre, poiché questi principi attivi sono metabolizzati dagli isoenzimi CYP2C9 e CYP3A4 del citocromo P450, viene raccomandata una dose iniziale più bassa per i pazienti che assumono eritromicina, chetoconazolo, itraconazolo e saquinavir. Tuttavia, un'inibizione competitiva potrebbe avvenire a seguito dell'associazione con molti altri farmaci metabolizzati da questi due isoenzimi. Esiste pertanto la possibilità di un'interazione con alprazolam, atorvastatina, claritromicina, fluconazolo, diltiazem, fluoxetina, nefazodone, nifedipina, omeprazolo, fenobarbital, sertralina, verapamil, succo di pompelmo ^(12,13).

Determinazioni Analitiche

È stata messa a punto a cura del Laboratorio di analisi del Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping del Dipartimento del Farmaco dell'Istituto Superiore di Sanità una metodica per l'analisi dei principali inibitori della fosfodiesterasi 5 nei prodotti farmaceutici e negli integratori alimentari.

Inoltre sono presenti in letteratura due metodologie per l'analisi del sildenafil, del tadalafil, del vardenafil ed alcuni loro metaboliti nelle matrici biologiche^(14,15).

Di questi metodi analitici, uno utilizza una tecnica separativa in gas cromatografia associata alla spettrometria di massa per la determinazione dei tre principi attivi ed alcuni metaboliti nelle urine di soggetti in trattamento terapeutico con Viagra, Levitra e Cialis⁽¹⁴⁾.

L'altro metodo analitico impiega un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione del sildenafil, vardenafil e tadalafil e di loro metaboliti nel plasma di soggetti sottoposti a trattamento terapeutico con Viagra, Levitra e Cialis⁽¹⁵⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione del sildenafil, vardenafil e tadalafil e loro metaboliti nelle urine⁽¹⁴⁾

Estrazione del campione

Per analizzare sia la frazione di farmaco libera sia la frazione di farmaco coniugata, i campioni di urina vengono analizzati sia come tali sia dopo essere stati idrolizzati con l'enzima β -glucuronidasi. Ad una aliquota di 2 ml di urine vengono aggiunti 50 μ l di standard interno (metiltestosterone, 10 μ l/ml), 1,5 ml di tampone fosfato a pH 7 e 30 μ l β -glucuronidasi, ad una seconda aliquota viene aggiunto solo il tampone fosfato e lo standard interno. La prima aliquota viene quindi incubata a 50°C per 1 ora. Successivamente, sia l'aliquota idrolizzata che quella non idrolizzata vengono estratte con l'aggiunta di 0,5 ml di tampone carbonato pH 9 e 5 ml di *ter*-butilmetil etero. Le due fasi organiche vengono prelevate, portate a secco sotto flusso d'azoto e derivatizzate con 50 μ l di N-metil-N-trimetilsil-trifluoroacetamide/ioduro d'ammonio/ditioeritritolo (1000:4:2) per 30 minuti a 70°C. Un μ l degli estratti derivatizzati viene iniettato nel gas cromatografo.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: J&W 5% fenil-metilsilicone (17 m x 0,2 mm i.d. x 0,33 μ m)

Temperatura iniettore: 280°C

Gas: elio alla pressione di 18 psi

Modalità d'iniezione: split (10:1)

Programmata di temperatura: 188°C per 2,5 minuti, 188°C-211°C a 3°C/min, 211°C per 2 minuti, 211°C-238°C a 10°C/min, 238°C-320°C a 40°C/min, 320°C per 3,5 minuti

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia ad impatto elettronico

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

sildenafil: 11,2 min

tadalafil: 11,4 min

vardenafil: 15,1 min

o-desetil-sildenafil: 9,9 min

piperazina-N-desetil-sildenafil: 10,2 min

pirazolo-N-demetil-sildenafil: 11,6 min

piperazina-N-demetil-sildenafil: 12,8 min

idrossi-sildenafil: 15,2 min
n-desetil-vardenafil: 15,8 min
catecol-tadalafil: 10,5 min
metilcatecol-tadalafil (2 isomeri): 10,6 e 10,9 min
metil testosterone-bis TMS (ISTD): 7,2 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

sildenafil: m/z 476, 453, 384, 99
tadalafil: m/z 461, 388, 340, 241
vardenafil: m/z 560, 113, 476, 384
o-desetil-sildenafil: m/z 575, 520, 427, 99
piperazina-N-desetil-sildenafil: m/z 548, 476, 384, 116
pirazolo-N-demetil-sildenafil: m/z 589, 534, 442, 99
piperazina-N-demetil-sildenafil: m/z 476, 384, 339, 157
idrossi-sildenafil: m/z 564, 541, 369, 99
n-desetil-vardenafil: m/z 589, 476, 384, 157
catecol-tadalafil: m/z 593, 520, 340, 241
metilcatecol-tadalafil (2 isomeri): m/z 535, 340, 241, 196
metil testosterone-bis TMS (ISTD): 446, 301

Standard

Gli standard di sildenafil, tadalafil, vardenafil, N-demetil-sildenafil, N-desetil-vardenafil e O-desetil-sildenafil si possono acquistare presso la ditta LGC Standards (Sesto San Giovanni, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione (range: 25-1000 ng/ml) vengono preparati aggiungendo soluzioni standard a concentrazione nota a campioni di urina di controllo.

Risultati

Nelle urine di due soggetti che facevano uso di Viagra (25 mg), è stata riscontrata sia la presenza di sildenafil (valore medio: 80 ng/ml) che la presenza di O-desetil-sildenafil (valore medio 40 ng/ml). Nelle urine dei soggetti trattati con Levitra (Vardenafil 10 mg) è stata rilevata la presenza di vardenafil (valore medio: 100 ng/ml) e piperazina N-desetil-vardenafil (valore medio 70 ng/ml).

Infine nelle urine dei soggetti in trattamento terapeutico con il Cialis (Tadalafil 10 mg) è stata rilevata la presenza sia del farmaco come tale (valore medio 25 ng/ml) sia del catecol-tadalafil che delle due molecole isomere di metilcatecol-tadalafil. Non è stato possibile quantificare tali metaboliti per l'assenza di standard di riferimento puri.

Analisi di un supplemento dietetico venduto come potenziatore della performance sessuale denominato "I love you- Vi110"

(a cura del Laboratorio di analisi del Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping del Dipartimento del Farmaco dell'Istituto Superiore di Sanità).

È stato sequestrato un supplemento dietetico denominato "I love you- Vi110" da parte dei Carabinieri per la tutela della salute (NAS), in quanto sospettato di contenere sostanze farmacologicamente attive con particolare riferimento agli inibitori delle fosfodiesterasi-5. Il prodotto si presentava come una confezione di cartone colorata con all'interno tre singole bustine contenenti una polvere granulosa di colore beige. L'etichetta allegata riportava la presenza di ingredienti quali

Melon up (*Citrullus lanatus*), Macapure (*Lepidium meyeri*), Macatonic (*Lepidium meyeri*), piante inserite nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali ammessi negli integratori alimentari del Decreto 9 luglio 2012 del Ministero della Salute (G.U. Serie Generale, n. 169 del 21 luglio 2012).

Le indicazioni d'uso presenti sulla confezione consigliavano l'utilizzo per contrastare la stanchezza fisica e mentale senza indicare nessuna posologia d'uso.

Analisi per la ricerca di sostanze con attività farmacologica o dopante, con particolare riferimento agli inibitori delle fosfodiesterasi-5

Estrazione del campione

A 100 mg di materiale granuloso di colore beige contenuto nella busta (2,2 g totali) vengono aggiunti 100 µl di una soluzione di 17- α metil testosterone 10µg/ml (standard interno), in 2 ml di una soluzione di tampone fosfato 0,1 M pH 10. Il campione viene quindi posto in bagno ad ultrasuoni per 15 minuti, e successivamente si procede all'estrazione del principio attivo aggiungendo 3 ml di una soluzione di cloroformio ed isopropanolo (90:10 v/v). La fase organica raccolta viene evaporata sotto corrente d'azoto ed il residuo secco viene risospeso in 100 µl di etilacetato acetato di etile. Successivamente 1 µl della soluzione viene iniettato nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: 5 DB-ms (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm)

Temperatura iniettore: 260°C

Gas: Elio alla pressione di 11,60 psi

Modalità d'iniezione: split (15:1)

Programmata di temperatura 180°C per 2 minuti, 180°C-290°C a 10°C/min rimanendo a 290°C per 5 minuti

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

sildenafil: 30,0 min

tadalafil: 29,2 min

vardeafil: 31,2 min

17- α metil testosterone (standard interno): 25,0 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

sildenafil: m/z 56,99,381,404

tadalafil: m/z 169, 204, 262 389

vardeafil: m/z 42, 113, 283, 488

17- α metil testosterone (standard interno): m/z 124, 229, 302

Standard

Gli standard di sildenafil, tadalafil e vardeafil e 17- α metil testosterone si possono acquistare presso la ditta LGC Standards (Sesto San Giovanni, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Le soluzioni degli standard degli analiti (1 mg/ml) vengono preparate in alcol metilico. Le soluzioni standard di lavoro alla concentrazioni 100, 10 e 1 µg/ml sono preparate diluendo le soluzioni madri e conservandole a -20°C fino al momento dell'analisi. Lo standard interno viene usato ad una concentrazione di 10 µg/ml. Gli standard di calibrazione con un range di concentrazione tra 0,15-30 µg/mg vengono preparati giornalmente aggiungendo le soluzioni metanoliche a concentrazione note alle polveri di controllo. I campioni utilizzati per il controllo di qualità alle concentrazioni di 25 µg/mg (controllo

alto), 3 µg/mg (controllo medio) e 0,3 µg/mg (controllo basso) vengono preparati aggiungendo le soluzioni metanoliche alle polveri di controllo.

Risultati

Nel prodotto sottoposto ad esame analitico è stata individuata la presenza di sildenafil in concentrazione pari a 23,8 µg/mg di prodotto; pertanto il prodotto esaminato costituito da 2,2 g di polvere conteneva 52,4 mg di sildenafil. Si ricorda che la specialità farmaceutica contenente sildenafil più venduta in Italia, il Viagra, può contenere 25, 50 e 100 mg di principio attivo.

Bibliografia

1. TOXNET at: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+7305>
2. JACKSON G, ARVER S, BANKS I, STECHER VJ. Counterfeit phosphodiesterase type 5 inhibitors pose significant safety risks. *Int J Clin Pract.* 2010; 64: 497-504.
3. <http://www.salute.gov.it/alimentiParticolariIntegratori>
4. WESPES E, AMAR E, HATZICHRISTOU D, MONTORSI F, PRYOR J, VARDI Y. Guidelines on erectile dysfunction. *Eur Urol.* 2002; 41: 1-5.
5. GRESSER U, GLEITER CH. Erectile dysfunction: comparison of efficacy and side effects of the pde-5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil. review of the literature. *Eur J Med Res.* 2002; 7: 435-446.
6. CORBIN JD, FRANCIS SH. Pharmacology of phosphodiesterase-5 inhibitors. *Int J Clin Pract.* 2002; 56: 453-459.
7. PHILLIPS DL, SMITH RL, PATTERSON BE, PARKER N, MITCHELL M, WHEELER WJ, WATKINS VS, BARBUCH RJ. Metabolism and excretion of tadalafil in healthy men after oral administration of 100 mg [¹⁴C]-tadalafil. *The AAPS J.* 2004; 6: Abstract W5308.
8. BISCHOFF E. Vardenafil preclinical trial data: potency, pharmacodynamics, pharmacokinetics, and adverse events. *Int. Jour Imp Res.* 2004; 16: S34-S37.
9. <http://www.pfizer.com>
10. <http://menhealth.mednet.co.il>
11. <http://www.drugbank.ca>
12. KRENZELOK EP. Sildenafil: Clinical toxicology profile. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2000; 38: 645-651.
13. LEE M, MIN DI. Determination of sildenafil citrate in plasma by high performance liquid chromatography and a case for the potential interaction of grapefruit juice with sildenafil citrate. *Ther Drug Monit.* 2001; 23: 21-26.
14. STRANO-ROSSI S, ANZILLOTTI L, DE LA TORRE X, BOTRÈ F. A gas chromatography/mass spectrometry method for the determination of sildenafil, vardenafil and tadalafil and their metabolites in human urine. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2010; 24: 1697-1706.
15. RUST KY, WILKENS H, KAISER R, BREGEL D, KRAEMER T. Detection and valitade quantification of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil, tadalafil, and 2 of their metabolites in human blood plasma by LC-MS/MS- application to forensic and therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit.* 2012; 34: 729-735.

5.3 Analoghi del Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil

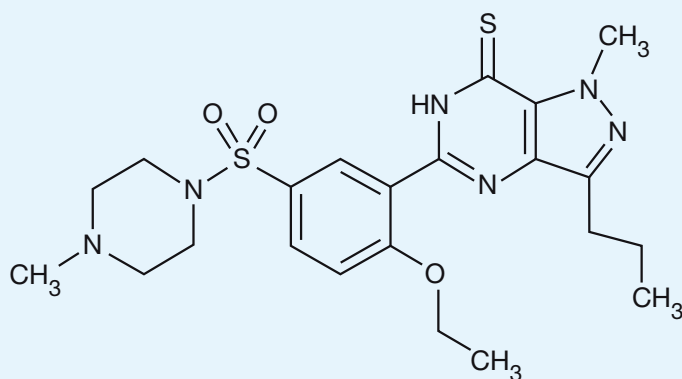
I composti chimici definiti come “analoghi” sono sostanze che presentano una modificazione chimica alla struttura della molecola di riferimento da cui derivano. Generalmente la modifica apportata riguarda l’eliminazione, l’aggiunta o la sostituzione di uno o più gruppi funzionali⁽¹⁾. Nel caso di composti farmacologicamente attivi, l’azione farmacologica degli analoghi risulta spesso del tutto sovrapponibile a quella del principio attivo dal quale derivano; tuttavia va ricordato che molecole con struttura chimica simile possono non avere attività farmacologica o diverse proprietà d’azione.

Sebbene la creazione di prodotti analoghi sia una strategia comunemente adottata dalle industrie farmaceutiche per immettere sul mercato nuovi farmaci simili ad alcuni già prodotti ma con maggior effetto farmacologico e/o minori effetti collaterali, parallelamente questa pratica viene sfruttata anche in maniera illecita⁽²⁾. All’interno di alcuni integratori alimentari venduti come potenziatori delle performance sessuali sono state individuate sostanze analoghe agli inibitori delle fosfodiesterasi-5⁽³⁻⁵⁾. Tali sostanze erano in qualche caso presenti da sole, in qualche altro insieme ad uno dei tre principali inibitori delle fosfodiesterasi 5: sildenafil, vardenafil e tadalafil. Tali analoghi non sono al momento registrati come prodotti farmaceutici, quindi non sono sottoposti a regolari controlli di sicurezza ed efficacia e pertanto il loro consumo può essere estremamente pericoloso per la salute del consumatore⁽⁶⁾.

5.3.1 Tioanaloghi del Sildenafil

I tio composti del sildenafil sono degli analoghi particolari in cui il gruppo chetonico in posizione 4 sull’anello pirimidinico del sildenafil o dei suoi analoghi viene sostituito da un atomo di zolfo.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: tiosildenafil.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{30}N_6O_3S_2$ (peso molecolare = 490,6).

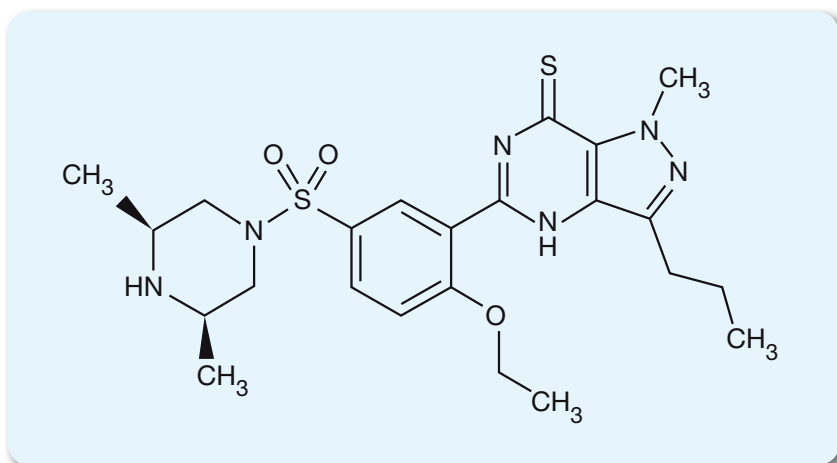
Nome sistematico: 5-[2-etossi-5-[(4-metil-1-piperazinil)sulfonil]fenil]-1-metil-3-propil-1,4-diidro-7H-pirazolo[4,3-d]pirimidin-7-tione.

Numero di registro CAS: 479073-79-5.

Punto di fusione: 269°C.

UVmax: 226-296 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio.



Nome: tadalafil (sulfoildenafil).

Formula Molecolare: $C_{22}H_{30}N_6O_3S_2$ (peso molecolare = 490,6).

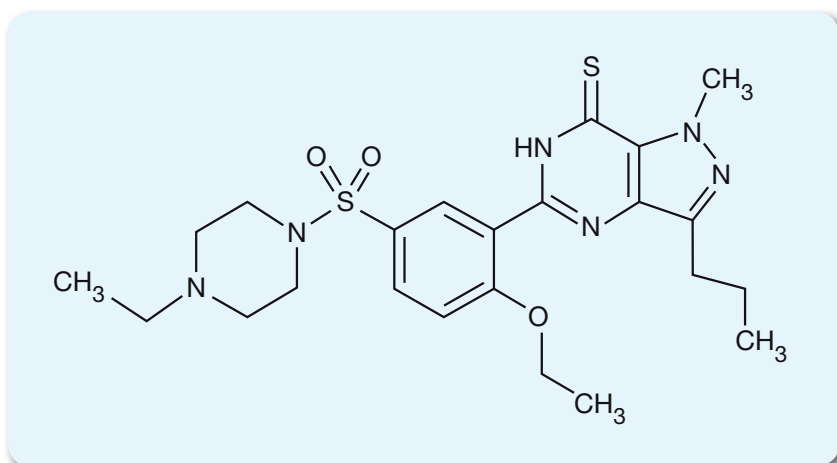
Nome sistematico: 5-[2-etossi-5-[(3,5-dimetilpiperazin-1-il)sulfonil]fenil]-1-metil-3-propil-1,4-diidro-7H-pirazolo [4,3-d]pirimidin-7-tione.

Numero di registro CAS: 856190-47-1.

Punto di fusione: 182-185°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UV max.

Solubilità: solubile in cloroformio.



Nome: tadalafil (sulfoildenafil).

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_3S_2$ (peso molecolare = 504,6).

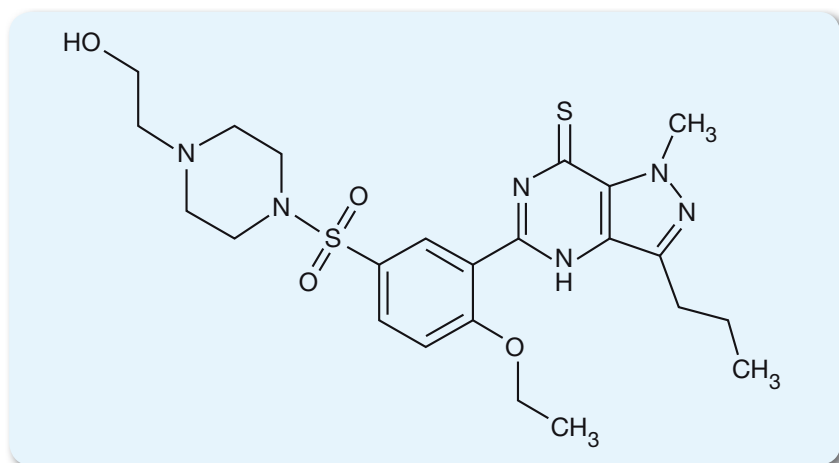
Nome sistematico: 5-[2-etossi-5-[(4-etilpiperazin-1-il)sulfonil]fenil]-1-metil-3-propil-1,4-diidro-7H-pirazolo[4,3-d] pirimidin-7-tione.

Numero di registro CAS: 479073-80-8.

Punto di fusione: 178-180°C.

UVmax: 226-294 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio, alcol metilico.



Nome: idrossitio-omosildenafil.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_4S_2$ (peso molecolare = 520,6).

Nome sistematico: 5-[2-etossi-5-[[4-(2-idrossietil)-1-piperazinil]sulfonil]fenil]-1,6-diidro-1-metil-3-propil-7H-pirazolo[4,3-d]pirimidin-7-tione.

Numero di registro CAS: 479073-82-0.

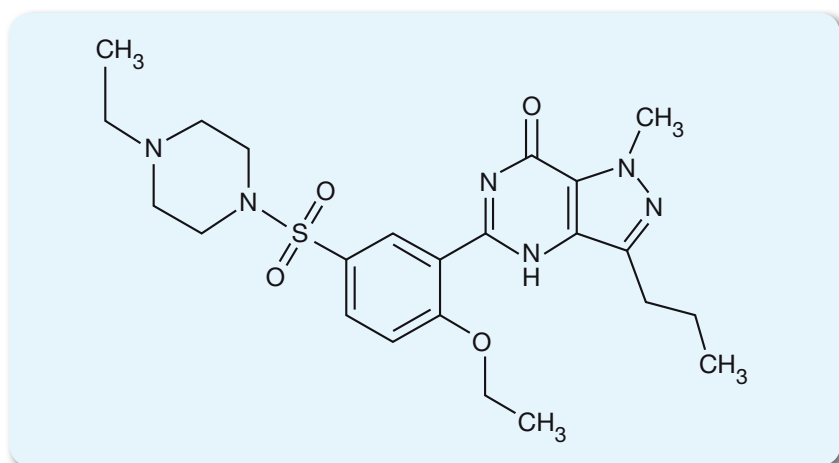
Punto di fusione: 174-177°C.

UVmax: 226-295 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio, alcol metilico.

5.3.2 Altri analoghi del Sildenafil

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: omosildenafil.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_4S$ (peso molecolare = 488,6).

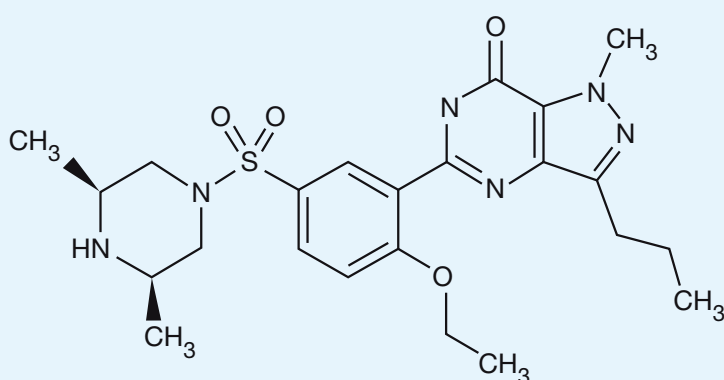
Nome sistematico: 5-[2-etossi-5-[[4-(4-etil-1-piperazinil)sulfonil]fenil]-1,6-diidro-1-metil-3-propil-7H-pirazolo[4,3-d]pirimidin-7-one.

Numero di registro CAS: 642928-07-2.

Punto di fusione: 192-194°C.

UVmax: 233-279 nm.

Solubilità: solubile in cloroformio, diclorometano, alcol metilico.



Nome: aildenafil (metisosildenafil, metilsildenafil).

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_4S$ (peso molecolare = 488,6).

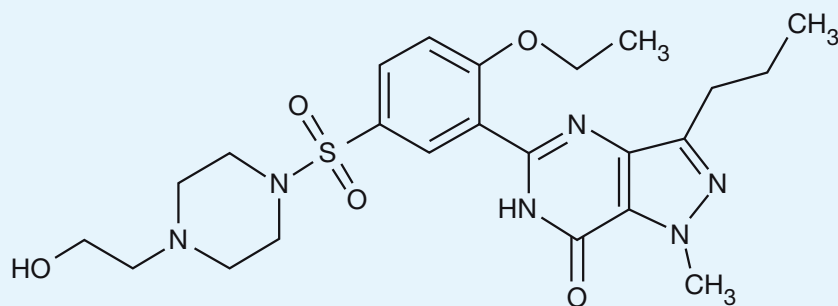
Nome sistematico: 5-(5-(((3*R*,5*S*)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)sulfonil)-2-etossifenil)-1-metil-3-propil-1*H*-pirazolo[4,3-d]pirimidin-7(4*H*)-one.

Numero di registro CAS: 496835-35-9.

Punto di fusione: 326-327°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: idrossiomosildenafil.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_5S$ (peso molecolare = 504,6).

Nome sistematico: 5-[2-etossi-5-[(4-(2 idrossietil-1-piperazinil)sulfonil]fenil]-1,6-diidro-1-metil-3-propil-7*H*-pirazolo [4,3-d]pirimidin-7-one.

Numero di registro CAS: 139755-85-4.

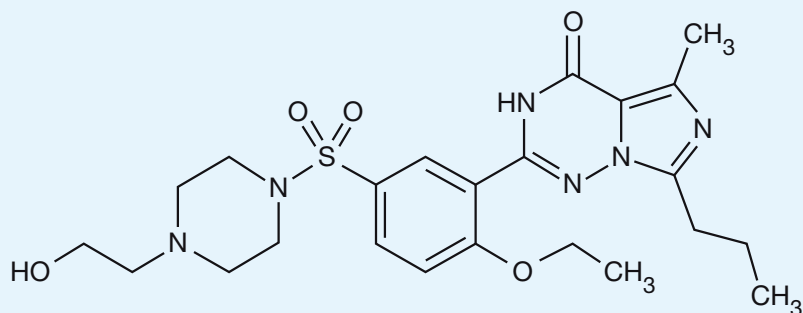
Punto di fusione: 183-185°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

5.3.3 Analoghi del Vardenafil

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: idrossivardenafil.

Formula Molecolare: $C_{23}H_{32}N_6O_5S$ (peso molecolare = 504,6).

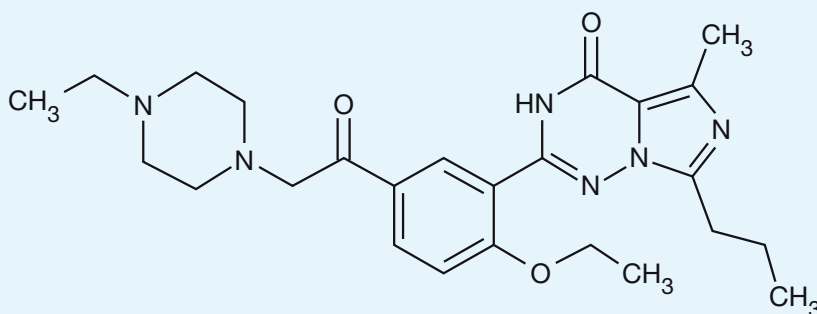
Nome sistematico: 2-[2-etossi-5-[[4-(2-idrossietil)-1-piperazinil]sulfonil]fenil]-5-metil-7-propilimidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-one.

Numero di registro CAS: 224785-98-2.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: acetilvaridenafil.

Formula Molecolare: $C_{25}H_{34}N_6O_3$ (peso molecolare = 466,6).

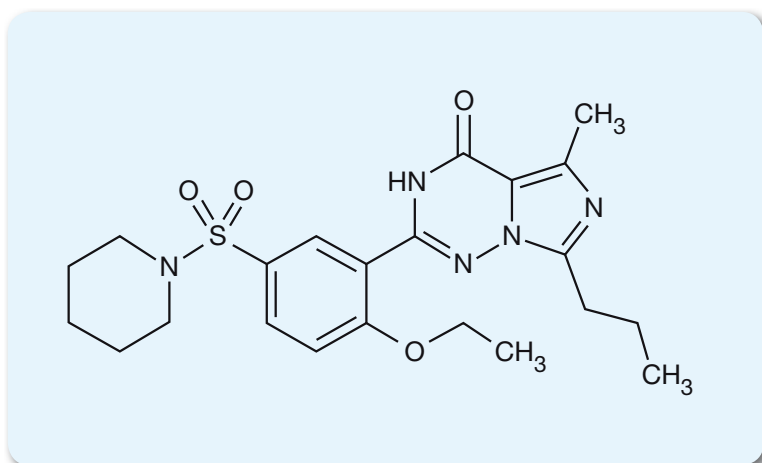
Nome sistematico: 2-[2-etossi-5-[2-(4-etil-1-piperazinil)acetil]fenil]-5-metil-7-propil-imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-4(1H)-one.

Numero di registro CAS: 1261351-28-3.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: pseudovardenafil.

Formula Molecolare: $C_{22}H_{29}N_5O_4S$ (peso molecolare = 459,5).

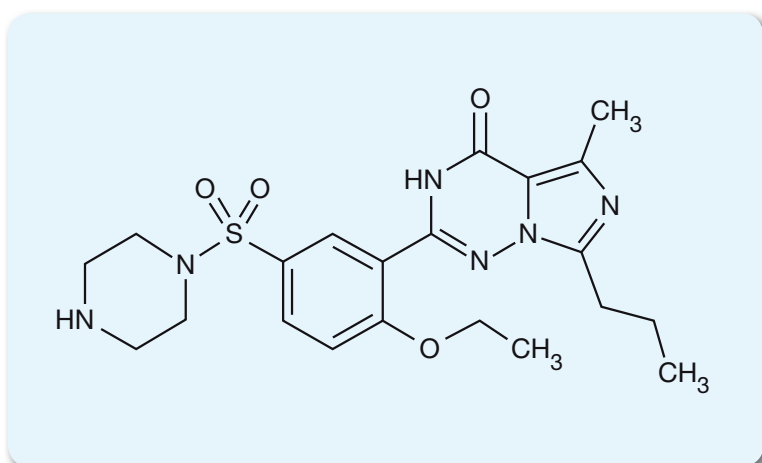
Nome sistematico: 2-[2-etossi-5-(1-piperidilsulfonyl)fenil]-5-metil-7-propil-3H-imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-4(1H)-one.

Numero di registro CAS: 224788-34-5.

Punto di fusione: 81-83°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in cloroformio, alcol metilico.



Nome: n-desetil-vardenafil.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{28}N_6O_4S$ (peso molecolare = 460,5).

Nome sistematico: 2-[2-Etossi-5-(1-piperaziniilsulfonyl)fenil]-5-metil-7-propilimidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-4(1H)-one.

Numero di registro CAS: 448184-46-1.

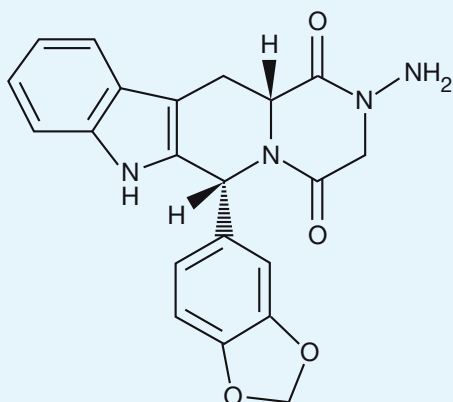
Punto di fusione: 101-103°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in cloroformio, diclorometano, dimetilsolfossido, alcol metilico.

5.3.4 Analoghi del Tadalafil

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi



Nome: aminotadalafil.

Formula Molecolare: $C_{21}H_{18}N_4O_4$ (peso molecolare = 390,3).

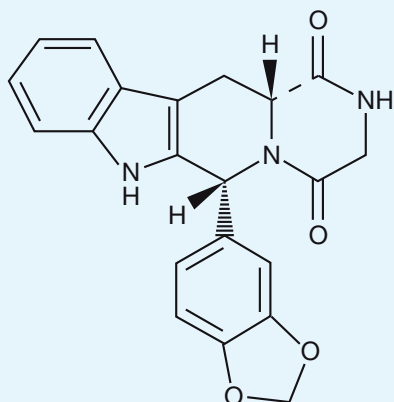
Nome sistematico: (6R,12aR)-2-amino-6-(1,3-benzodiossol-5-il)-2,3,6,7,12,12a-esaidropirazino[1',2':1,6]pirido[3,4-b]indol-1,4-dione.

Numero di registro CAS: 385769-84-6.

Punto di fusione: 280-282°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in dimetilsolfossido, alcol metilico.



Nome: nortadalafil (demetiltadalafil).

Formula Molecolare: $C_{21}H_{17}N_3O_4$ (peso molecolare = 375,3).

Nome sistematico: (6R,12aR)-6-(1,3-benzodiossol-5-il)-2,3,6,7,12,12a-esaidropirazino[1,2:1,6]pirido[3,4-b]indol-1,4-dione.

Numero di registro CAS: 171596-36-4.

Punto di fusione: 285-290°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: solubile in dimetilsolfossido, alcol metilico.

Uso, Legislazione, Proprietà farmaco-tossicologiche e Determinazioni analitiche degli analoghi del Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil

Uso

Gli analoghi degli inibitori delle fosfodiesterasi-5 sono stati riscontrati in molti prodotti di natura erboristica ed integratori alimentari⁽³⁻⁵⁾. Spesso sulle confezioni di tali integratori e supplementi dietetici venduti come energizzanti o potenziatori delle performance sessuali viene dichiarata la presenza di estratti secchi di erbe, come la Damiana (*Turnera aphrodisiaca*), la Muira Puama (*Liriosma ovata*), il Ginseng (*Panax ginseng*) o il Guarànà (*Paullinia cupana*), ma non i principi attivi in essi contenuti.

Legislazione

Nessun analogo del sildenafil, del vardenafil e del tadalafil è contenuto in una specialità farmaceutica registrata e venduta in Italia. Inoltre, in Italia nessuno dei principi attivi sopra menzionati è sottoposto ad alcun tipo di controllo. Non si hanno infine notizie di particolari provvedimenti restrittivi in Europa e/o negli Stati Uniti a carico di tali sostanze.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Non esistono studi clinici nel modello animale o nell'uomo relativi agli analoghi delle fosfodiesterasi-5. Inoltre diversamente da quanto accade nel caso dei cannabinoidi e dei catinoni sintetici, non ci sono feedback o commenti di utilizzatori sui siti telematici di vendita dei prodotti che contengono queste sostanze.

Questi composti, risultando strutturalmente simili al farmaco parente, molto spesso presentano un'azione farmacologica uguale a quella del principio attivo dal quale derivano; tuttavia va comunque ricordato che molecole con struttura chimica uguale o simile possono avere diverse proprietà d'azione⁽⁶⁾.

Tossicità

Non sono riportati in letteratura dati relativi alla tossicità analitiche degli analoghi del Sildenafil, Vardenafil e Tadalafil.

Effetti avversi

Sembra che, come i farmaci da cui originano, gli analoghi degli inibitori delle fosfodiesterasi-5 possano potenziare gli effetti ipotensivi dei nitroderivati. L'uso di nitrati a breve durata d'azione o una terapia con nitrati a lunga durata d'azione rappresenta, pertanto, una controindicazione assoluta all'uso di questi analoghi degli inibitori delle fosfodiesterasi-5. La possibilità che soggetti in terapia con nitrati possano utilizzare integratori adulterati da questi analoghi rappresenta quindi un serio problema per le conseguenze sulla salute⁽⁴⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate possibili interazioni farmacologiche.

Determinazioni Analitiche

Le determinazioni analitiche presenti in letteratura riguardano l'analisi di queste sostanze in integratori alimentari⁽³⁻⁵⁾.

Di questi metodi analitici, uno utilizza tecniche di caratterizzazione delle molecole quali la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare, la spettroscopia a raggi infrarossi, quella a raggi ultravioletti ed infine la spettrometria di massa⁽³⁾. Un altro metodo analitico impiega un cromatografo liquido accoppiato ad uno spettrometro di massa tandem per la determinazione dell'omosildenafil in un integratore alimentare venduto come energizzante⁽⁴⁾. L'ultimo identifica la struttura dei

tre tio-analoghi del sildenafili mediante l'utilizzo delle seguenti tecniche: spettroscopia a risonanza magnetica nucleare, cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa, spettrometria di massa ad alta risoluzione, spettroscopia ad infrarossi e spettroscopia ultravioletta⁽⁵⁾.

Non sono descritte metodologie analitiche per la determinazione degli analoghi degli inibitori della fosfodiesterasi-5 in matrici biologiche.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione dei tio analoghi del sildenafil in integratori alimentari⁽⁵⁾

Estrazione del campione

La polvere derivante dai prodotti commerciali viene estratta con alcol metilico e sonicata per 30 minuti a temperatura ambiente. I campioni vengono quindi filtrati prima di essere analizzati.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Cosmosil 5C₁₈-AR (4.6 x 150 mm x 5 µm)

Fase mobile: alcol metilico -0,25% acido formico (70:30)

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 0,5 ml/min

Volume di iniezione: 10 µl

Energia di collisione: da 30 a 45 eV

Temperatura della sorgente: 120°C

Voltaggio del capillare: 3.0 kV

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva.

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

Non sono riportati i tempi di ritenzione dei composti analizzati.

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

sildenafil: m/z 474, 312, 284, 100, 58

tiosildenafil: m/z 491, 327, 315, 100

tio-omosildenafil: m/z 504, 325, 309, 98

idrossitio-omosildenafil: m/z 521, 502, 342, 326, 98

Standard

Non viene riportata la ditta presso la quale è stato acquistato l'unico standard di riferimento puro (Idrossitio-omosildenafil) a disposizione del laboratorio.

Curva di calibrazione

Essendo un metodo qualitativo non viene riportata la creazione di una curva di calibrazione.

Risultati

Con la presente metodica è stato possibile identificare i tre derivati del sildenafil illegalmente aggiunti ad alcuni integratori alimentari, ma non quantificarli.

Analisi di un supplemento dietetico venduto come potenziatore della performance sessuale denominato “Fuerza pura”

(a cura del Laboratorio di analisi del Reparto Farmacodipendenza, Tossicodipendenza e Doping del Dipartimento del Farmaco dell’Istituto Superiore di Sanità).

È stato sequestrato un supplemento dietetico denominato “Fuerza pura” da parte dei Carabinieri per la tutela della salute (NAS), in quanto sospettato di contenere sostanze farmacologicamente attive con particolare riferimento agli inibitori delle fosfodiesterasi-5. Il prodotto si presentava come una piccola scatola in cartone contenente una capsula di colore verde. All’interno della capsula era presente una polvere bianca. L’etichetta allegata riportava la presenza di *Radix Ginseng*, sostanza inserita nell’elenco delle sostanze e preparati vegetali ammessi negli integratori alimentari del decreto ministeriale del 9 luglio 2012 (G.U. Serie Generale, n. 169 del 21 luglio 2012).

Sulla confezione erano riportate solo delle avvertenze generali (tenere lontano dalla portata dei bambini, non superare le dosi consigliate, utilizzare una capsula al giorno, non è un medicinale).

L’analisi del prodotto è stata effettuata mediante l’utilizzo di un cromatografo liquido associato ad uno spettrometro di massa tandem (LC/MS/MS).

Estrazione del campione

A 25 mg di campione vengono aggiunti 2 ml di una soluzione tampone fosfato 0,1 M pH 10. Il campione viene posto in un bagno ad ultrasuoni per 15 minuti; quindi si aggiungono 4 ml di soluzione cloroformio/isopropanolo (9:1, v:v). Dopo aver agitato e centrifugato, la fase organica viene prelevata ed evaporata sotto flusso di azoto. L’estratto secco viene risospeso in 100 µl di fase mobile e iniettato nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Zorbax Eclipse XDB C8 (150 x 4,6 mm, 5 µm)

Fase Mobile A: 0,1% acido formico in acqua

Fase Mobile B: acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile B: 20% tra 0-1 minuto; dal 20% al 90% tra 1,01-15 minuti; mantenuto al 90% per 5 minuti. Ritorno alle condizioni iniziali e mantenute per 10 minuti)

Flusso: 0,5 ml/min

Voltaggio del capillare: 4 kV

Voltaggio del Cono: 40 V

Flusso gas desolvatazione: 250 L/ora

Energia di collisione: 35 V

Modalità di acquisizione: scansione totale (50-600 m/z)

Rilevatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

tio-omosildenafil: 12,1 min

idrossitio-omosildenafil: 11,4 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

tio-omosildenafil: m/z 505, 421, 327, 299

idrossitio-omosildenafil: m/z 521, 503, 461, 327, 299

Standard

Lo standard di idrossitio-omosildenafil si può acquistare presso la ditta LGC Standards (Sesto San Giovanni, Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Essendo un metodo qualitativo poichè il laboratorio non era in possesso di standard analitici certificati non viene riportata la creazione di una curva di calibrazione.

Risultati

Nel prodotto sottoposto ad esame analitico è stata evidenziata la presenza di sostanze analoghe del sildenafil: il tio-omosildenafil e l'idrossitio-omosildenafil, non dichiarate sulla confezione. Questi analoghi sono simili, dal punto di vista strutturale, al sildenafil da cui differiscono per la presenza di un gruppo tio-carbonilico al posto di un gruppo carbonilico.

Bibliografia

1. FISCHER J, GANELLIN CR. Analogues-based drug discovery. Weinheim: Wiley-VCH: 2006.
2. DIMASI JA, HANSEN RW, GRABOWSKY HG. The price of innovation: new estimates of drug development cost. *J Health Econ.* 2003; 22: 151-185
3. BLAYSSAC S, GILARD V, ZEDDE C, MARTINO R, MARTINO MM. Analysis of herbal dietary supplements for sexual performance enhancement: first characterization of propoxyphenyl-thiohydroxyhomosildenafil and identification of sildenafil, thiosildenafil, phentolamine and tetrahydropalmatine as adulterants. *J Pharm Biomed Anal.* 2012; 63: 135-150.
4. GRATZ SR, CHERYL LF, WOLNIK KA. Analysis of undeclared synthetic phosphodiesterase-5-inhibitors in dietary supplements and herbal matrices by LC-ESI-MS and LC-UV. *J Pharm Biomed Anal.* 2004; 36: 525-533.
5. LAI KC, LIU YC, LIAO Y, LIN YL, TSAI LY, LIN JH, LO CF. Isolation and identification of three thio-sildenafil analogues in dietary supplements. *J Food Drug Anal.* 2010; 18: 269-278.
6. YUEN Y, LAI CK, POON WT, NG SW, CHAN AYW, MAK TWL. Adulteration of over-the-counter slimming products with pharmaceutical analogues- an emerging threat. *Hong Kong Med J.* 2007; 13: 220-246.



6

Bevande
Energetiche

6.1 Introduzione

Le bevande energizzanti, conosciute come “energy drinks”, sono bevande analcoliche contenenti una miscela di sostanze (vitamine, aminoacidi, caffeina, ecc), reclamizzate e vendute per i presunti effetti “energetici” sull’organismo e stimolanti sul sistema nervoso centrale⁽¹⁾. Il loro consumo è legato ad una aspettativa, da parte di chi ne fa uso, di miglioramento delle proprie prestazioni sia fisiche che mentali⁽²⁾. Gli “energy drinks” sono propagandati, infatti, come una rapida fonte dell’energia necessaria per la giornata, per compensare carenze vitaminiche, minerali e di altre sostanze nutritive, per aumentare la resistenza e accelerare il recupero dopo l’attività fisica, per contrastare la stanchezza notturna, per bruciare grassi e aumentare la massa muscolare o migliorare le funzioni cerebrali.

Queste bevande sono spesso associate a nomi aggressivi, altisonanti e ispirati ai fumetti (“Daredevil”), al mondo dello spettacolo (“Rockstar”) o a quello del wrestling (“Tiger Shot”). Ad alcuni prodotti sono stati anche dati nomi che ricordano esplicitamente alcune sostanze stupefacenti (“Cocaine”). Queste bevande hanno un target di consumo decisamente ampio, che va dagli sportivi professionisti ai semplici amatori, da chi li assume per aumentare la concentrazione durante lo studio e il lavoro, ai giovani che ne fanno uso per avere il pieno di energie, soprattutto durante i weekend.

I dati riguardanti le vendite dimostrano che il mercato degli “energy drinks” è in continua espansione⁽¹⁾. Diversi studi, sia in Europa che negli Stati Uniti, hanno evidenziato una prevalenza di consumatori tra i giovani ed in particolar modo tra gli studenti. Studi recenti condotti in diversi stati americani hanno evidenziato che il 28-30% dei giovani tra i 12 e i 14 anni, il 31-50% di ragazzi tra i 14 e i 17 anni e il 34% dei giovani adulti tra i 18 e i 24 anni consumano regolarmente “energy drinks” e che il 51-62% degli adolescenti consuma queste bevande per migliorare le loro prestazioni atletiche⁽³⁻⁶⁾. Le situazioni nelle quali se ne dichiara l’assunzione sono rappresentate, nella maggioranza dei casi, dall’esigenza di superare i sintomi della mancanza di sonno, da quella di aumentare il livello energetico percepito del proprio corpo e dalla abitudine di combinare queste bevande con gli alcolici durante le feste. In Italia, uno studio dell’anno 2007, ha mostrato un consumo di queste bevande da parte del 57% degli studenti universitari⁽²⁾.

Le informazioni che derivano da queste ricerche evidenziano una scarsa conoscenza, da parte dei consumatori, degli effetti fisiologici e psicologici potenzialmente dannosi di questi prodotti^(1,7,8). Ad esempio, l’elevato contenuto di zucchero negli “energy drinks” è simile a quello di altre bevande analcoliche di cui è noto il contributo all’obesità⁽⁹⁾. Il consumo di “energy drinks” risulta anche dannoso per due ragioni: la quantità di caffeina ingerita sia con singole assunzioni di bevande ad elevato contenuto di questa sostanza, sia con assunzioni ripetute in un breve lasso di tempo può essere associata a effetti avversi sulla salute; l’associazione con bevande alcoliche può portare ad un aumento significativo della quantità di alcol assunto in una singola occasione ricreazionale con aumento dei rischi di guida in stato di ebbrezza o episodi di violenza⁽¹⁰⁾.

Energy drinks e caffeina

Sono presenti sul mercato un centinaio di prodotti venduti come “energy drinks” il cui contenuto di caffeina può variare da 50 mg a 500 mg per lattina o bottiglia^(4,11) (Tabella 1). Analizzando i dati riportati nella Tabella 1, risulta importante sottolineare la relazione tra concentrazione di caffeina espressa in mg per 100 ml ed il volume di liquido contenuto nella lattina o della bottiglia: si possono infatti assumere 350 mg di caffeina bevendo una sola lattina da 75 ml di prodotto con una concentrazione di caffeina pari a 466 mg per 100 ml (RedLine Power Rush) ma è anche possibile assumere 360 mg di caffeina con un prodotto che presenta solo 51,4 mg di caffeina per 100 ml di prodotto (Bookoo Energy) ma che ha un volume totale di 700 ml.

La pericolosità è legata ai potenziali effetti negativi della caffeina sull’organismo⁽¹²⁾: In particolar modo l’intossicazione da caffeina, una sindrome clinica riconosciuta dal Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (DSM-5 Diagnostic and Statistical Manual Of Mental Disorders, American Psychiatric Publishing, 2013) è inserita nella classifica internazionale delle malattie (ICD-10) dall’Organizzazione Mondiale della Sanità^(12,13).

L’effetto della caffeina è dose-correlato. A dosi basse o moderate (da 20 a 200 mg) la caffeina ha un effetto energizzante in grado di produrre un miglioramento dell’umore, della reattività e della socialità; tuttavia dosi superiori di caffeina (oltre 200 mg) hanno maggiori probabilità di produrre effetti indesiderati, come ansia, nervosismo e disturbi gastro-intestinali⁽¹⁴⁾. In caso di sovradosaggio, la tossicità della caffeina comporta un avvelenamento amfetamino simile e porta a crisi epilettiche⁽¹⁵⁾,

psicosi, aritmie cardiache e potenzialmente anche alla morte⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Nel 2009 è stata segnalata una morte correlata all'uso di "energy drinks" che aveva provocato un'ischemia miocardica acuta probabilmente indotta dalla caffeina⁽¹⁹⁾. È stato segnalato inoltre il decesso di un giovane dopo l'ingestione di 12 g di caffeina con un contenuto plasmatico di caffeina pari a 350 mg/l⁽²⁰⁾.

La sensibilità alla caffeina varia molto nella popolazione generale e i giovani adulti e gli adolescenti risultano meno tolleranti ai suoi effetti. Negli adolescenti, il consumo di caffeina può provocare un aumento della pressione sanguigna⁽²¹⁾ e disturbi del sonno⁽²²⁾. Nelle donne in gravidanza, il tempo necessario a metabolizzare la caffeina risulta rallentato, pertanto i livelli plasmatici rimangono elevati per un tempo più lungo. Inoltre l'assunzione di dosi elevate di caffeina può essere associata ad un alto rischio di aborti tardivi⁽²³⁾ e al rischio di dare alla luce un bambino affetto da diminuzione della crescita fetale⁽¹⁰⁾.

Energy drinks ed alcol

Negli ultimi anni, l'uso di "energy drinks" miscelati all'alcol è diventato molto comune nei contesti ricreativi frequentati dai giovani, per associare all'effetto energizzante della caffeina e delle altre sostanze presenti negli "energy drinks" quello euforizzante dell'alcol.

La pratica di miscelare gli "energy drinks" con alcol è più diffusa di quanto in generale riconosciuto e l'uso di "energy drinks"/alcol è collegato a comportamenti a rischio. Oltre all'intossicazione alcolica (che può arrivare anche al coma etilico), alla guida in stato di ebbrezza e al coinvolgimento in risse, l'uso di alcol ed "energy drinks" aumenterebbe anche la probabilità di comportamenti sessuali a rischio che potrebbero poi portare a gravidanze indesiderate o infezioni per malattie sessualmente trasmissibili^(24,25).

In una indagine condotta dalla Buffalo's Research Institute on Addictions statunitense che ha visto coinvolti circa 700 studenti universitari, sono stati valutati alcuni comportamenti legati al consumo di "energy drinks" ed alcol. Circa uno studente su tre ha riferito di aver usato "energy drinks" e alcol nell'ultimo mese prima dell'indagine. Gli episodi di ubriacatura coinvolgevano il 69,6% dei ragazzi che ne riferiva alcuni senza dare precisa indicazione del numero, mentre il 51,2% riferiva tre o più episodi proprio nel mese precedente all'indagine. Il 25% degli studenti ha inoltre dichiarato di aver avuto un partner occasionale durante questi episodi⁽²⁶⁾.

Anche se il consumatore potrebbe avere l'impressione che la caffeina possa contrastare gli effetti negativi dell'alcol, studi hanno dimostrato che gli individui che combinano "energy drinks" con l'alcol sottostimano il proprio livello di ebbrezza alcolica, favorendo quindi l'intossicazione^(10,26). Inoltre, come riportato in un parere del Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare del Ministero della Salute, il consumo di "energy drinks" legati all'assunzione contemporanea di alcol non è "scevro da rischi per la salute umana" e i consumatori possono andare incontro ad alterazioni del ritmo cardiaco, della funzionalità renale e a rischio di disidratazione⁽²⁷⁾.

La caffeina è un diuretico mentre gli "energy drinks" e l'alcol hanno la tendenza a causare disidratazione, che rallentando il metabolismo dell'alcol potrebbe aumentare la sua tossicità⁽²⁸⁾.

Infine, coloro che dichiarano il consumo di "energy drinks" con alcol hanno maggiori probabilità di bere alcolici più frequentemente durante la settimana rispetto ai consumatori non problematici di solo alcol^(24,29-32).

I meccanismi alla base di queste associazioni non sono chiare, ma sembra che la mancata percezione degli effetti sgradevoli dell'alcol induca l'assunzione di quantità eccessive e di conseguenza aumenti le probabilità di sviluppo di dipendenza da alcol. Lo stato di ebbrezza viene mascherato, mentre segnali come la fatica e la sonnolenza sono solo attenuati poiché la concentrazione ematica di alcol non viene modificata. Una volta terminati gli effetti effimeri della bevanda energetica, la sbornia si può materializzare con il suo sgradevole corteo di sintomi: vomito, cefalea, disequilibrio e sonno⁽³³⁾.

Energy drinks e abuso di sostanze psicotrope

È stato dimostrato un legame anche tra il consumo di "energy drinks" ed il consumo di sostanze psicotrope⁽³⁴⁾. È plausibile infatti che l'uso di "energy drinks", proposti come alternativi alle sostanze psicotrope per gli effetti psicoattivi e stimolanti possa paradossalmente aumentare l'interesse dei consumatori anche verso l'uso di tali sostanze⁽¹¹⁾.

Come riportato in letteratura, il consumo di “energy drinks” viene associato spesso all'uso di marijuana, di cocaina ed altre sostanze d'abuso e all'uso non medico di farmaci⁽³⁵⁻³⁹⁾.

I giovani hanno riferito, nel caso di uso combinato tra “energy drinks” e sostanze d'abuso, come la cocaina⁽³⁸⁾ e le amfetamine⁽³⁹⁾, motivazioni simili a quelle riportate per il consumo con alcol⁽³⁰⁾. Inoltre coloro che hanno riportato un consumo di “energy drinks” ed alcol erano più propensi a usare ecstasy (MDMA), marijuana e cocaina rispetto ad altri tipi di sostanze d'abuso⁽³⁴⁾.

Infine, è stato osservato un legame tra il consumo di “energy drinks” ed il consumo di tabacco, in quanto i soggetti fumatori consumano più bevande energetiche dei non fumatori⁽³⁶⁾. Studi sul modello animale dimostrano infatti che la caffeina aumenta gli effetti di rinforzo della nicotina⁽⁴⁰⁻⁴²⁾.

Per stabilire se la caffeina funge da passaggio ad altre forme di tossicodipendenza, come suggerito da alcuni studi, servono tuttavia ulteriori indagini⁽¹¹⁾. L'evidenza sulla pericolosità di un uso sconsiderato di questi prodotti è rappresentata da un caso di morte per arresto cardiaco di un soggetto che aveva consumato giornalmente “energy drinks” a base di caffeina nei mesi precedenti alla morte⁽⁴³⁾.

Energy drinks ed ingredienti

Il principale ingrediente degli “energy drinks” è la caffeina, la quale è spesso associata ad altre sostanze quali la taurina, la teobromina, la teofillina, la carnitina, il glucuronolattone, le vitamine (principalmente del gruppo B) ed altri derivati vegetali, tra i quali estratti di ginseng, di guaranà e ginko biloba^(1,4).

In Tabella 2 sono riportati i componenti degli “energy drinks” più venduti.

Considerando i dati disponibili circa i potenziali effetti dannosi dell'uso degli energy drinks e della loro associazione con alcol ed altre sostanze psicoattive si è ritenuto utile riportare le monografie dei singoli ingredienti presenti negli “energy drinks” per fornire informazioni utili farmacotossicologiche e chimico-analitiche delle singole sostanze.

Bibliografia

1. ISHAK WW, UGOCHUKWU C, BAGOT K, KHALILI D, ZAKY C. Energy drinks: psychological effects and impact on well-being and quality of life-a literature review. *Innov Clin Neurosci*. 2012; 9: 25-34.
2. OTERI A, SALVO F, CAPUTI AP, CALAPAI G. Intake of energy drinks in association with alcoholic beverages in cohort of students of the school of medicine of the university of Messina. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007; 31: 1677-1680.
3. SEIFERT S, SCHAECTHER J, HERSHORIN E, LIPSHULTZ S. Health effects of energy drink in children, adolescent and young adults. *Pediatrics* 2011; 127: 511-528.
4. HIGGINS JP, TUTTLE TD, HIGGINS CL. Energy beverages: content and safety. *Mayo Clin Proc*. 2010; 85: 1033-1041.
5. BANDA C, MARIETTA A, SYLER G, HOOVER W. “College students knowledge attitudes and behaviors related to energy drinks”. *J Am Diet Assoc*. 2010; 110: A108.
6. BALLARD SL, WELLBORN-KIM JJ, CLAUSON KA. Effects of commercial energy drink consumption on athletic performance and body composition. *Phys Sportsmed*. 2010; 38: 107-117.
7. GROSZ A, SZATMARI A. The history, ingredients and effects of energy drinks. *Orv Hetil*. 2008; 149: 2237-2244.
8. GUNJA N, BROWN JA. Energy drinks: health risks and toxicity. *Med J Aust*. 2012; 196: 46-49.
9. RIDDELL L, KEAST RS. Is caffeine in soft drinks really necessary? *Med J Aust*. 2007; 187: 655.
10. ARRIA AM, O'BRIEN MC. The “high” risk of energy drinks. *JAMA* 2011; 305: 600-601.
11. REISSIG J, STRAIN EC, GRIFFITHS RR. Caffeinated energy drinks-a growing problem. *Drug Alcohol Depend*. 2009; 99: 1-10.
12. World Health Organization. The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 1992.
13. World Health Organization. International statistical classification of diseases and related health problems: ICD-10. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 1992b.
14. GRIFFITHS RR, JULIANO LM, CHAUSMER, AL. Caffeine pharmacology and clinical effects. In: Graham, AWST; Mayo-Smith M; Ries RK; Wilford BB, editors. *Principles of Addiction Medicine*. 3. Chevy Chase: American Society of Addiction Medicine; 2003. p. 193-224.
15. CALABRÒ RS, ITALIANO D, GERVASI G, BRAMANTI P. Single tonic-clonic seizure after energy drink abuse. *Epilepsy Behav*. 2012; 23: 384-385.
16. MCGEE MB. Caffeine poisoning in a 19-year-old female. *J Forensic Sci*. 1980; 25: 29-32.
17. CANNON ME, COOKE CT, MCCARTHY JS. Caffeine induced cardiac arrhythmia: an unrecognised danger of healthfood products. *Med J Aust* 2001; 174: 520-521.
18. MENKES DB. Transient psychotic relapse temporally related to ingestion of an “energy drink”. *Med J Aust*. 2011; 194: 206.
19. BERGER AJ, ALFORD K. Cardiac arrest in a young man following excess consumption of caffeinated “energy drinks”. *Med J Aust*. 2009; 190: 41-43.

20. JABBAR SB, HANLY MG. Fatal caffeine overdose: a case report and review of literature *Am J Forensic Med Pathol.* 2013; 34: 321-324.
21. SAVOCA MR, MACKEY L, EVANS CD, WILSON M, LUDWIG DA, HARSHFIELD GA. Association of ambulatory blood pressure and dietary caffeine in adolescents. *Am J Hypertens.* 2005; 18: 116-120.
22. ORBETA RL, OVERPECK MD, RAMCHARRAN D, KOGAN MD, LEDSKY R. High caffeine intake in adolescents: associations with difficulty sleeping and feeling tired in the morning. *J Adolesc Health.* 2006; 38: 451-453.
23. GREENWOOD DC, ALWAN N, BOYLAN S. Caffeine intake during pregnancy, late miscarriage and stillbirth. *Eur J Epidemiol.* 2010; 25: 275-280.
24. O'BRIEN MC, MCCOY TP, RHODES SD, WAGONER A, WOLFSON M. Caffeinated cocktails: energy drink consumption, high-risk drinking, and alcohol-related consequences among college students. *Acad Emerg Med.* 2008; 15: 453-460.
25. MILLER KE. Alcohol Mixed with Energy Drink Use and Sexual Risk-Taking: Casual, Intoxicated, and Unprotected Sex. *J Caffeine Res.* 2012; 2: 62-69.
26. FERREIRA SE, DE MELLO MT, POMPEIA S, DE SOUZA-FORMIGONI ML. Effects of energy drink ingestion on alcohol intoxication. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006; 30: 598-605.
27. Ministero della Salute, Comitato Nazionale Per La Sicurezza Alimentare, Parere n. 5 del 2012 Energy drinks e bevande alcoliche. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1790_allegato.pdf
28. Kaminer J. Problematic Use of Energy Drinks by Adolescents *Child Adolesc Psychiatric. Clin N Am.* 2010; 19: 643-650.
29. ARRIA AM, CALDEIRA KM, KASPERSKI SJ, VINCENT KB, GRIFFITHS RR, O'GRADY KE. Energy drink consumption and increased risk for alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011; 35: 365-375.
30. MARCZINSKI, CA. Alcohol mixed with energy drinks: Consumption patterns and motivations for use in U.S. college students. *Int J Environ Res Pub Health,* 2011; 8: 3232-3245.
31. PRICE SR, HILCHEY CA, DARREDEAU C, FULTON HG & BARRETT SP. Energy drink co-administration is associated with increased reported alcohol ingestion. *Drug Alcohol Rev.* 2010; 29: 331-333.
32. VELASQUEZ CE, POULOS NS, LATIMER LA, PASCH KE. Associations between energy drink consumption and alcohol use behaviors among college students. *Drug Alc Depend.* 2012; 123, 167-172.
33. Società Italiana di Farmacologia: "Energy drink: una preoccupazione per i consumatori ed una proposta per il Ministero della Salute". http://www.sifweb.org/societa/avvisi/sif_energy_drinks.php#nota
34. SNIPES DJ, BENOTSCH EG. High-risk cocktails and high-risk sex: Examining the relation between alcohol mixed with energy drink consumption, sexual behavior, and drug use in college students. *Addict Behav.* 2013; 38: 1418-1423.
35. KENDLER KS, MYERS J, GARDNER CO. Caffeine intake, toxicity and dependence and lifetime risk for psychiatric and substance use disorders: An epidemiologic and co-twin control analysis. *Psychol Med.* 2006; 36: 1717-1725.
36. MILLER, KE. Energy drinks, race, and problem behaviors among college students. *J Adolesc Health.* 2008; 43: 490-497.
37. ARRIA AM, CALDEIRA KM, KASPERSKI SJ, O'GRADY KE, VINCENT KB, GRIFFITHS RR, WISH ED. Increased alcohol consumption, nonmedical prescription drug use, and illicit drug use are associated with energy drink consumption among college students. *J Addict Med.* 2010; 4: 74-80.
38. VAN DER POELA, RODENBURG G, DIJKSTRA M, STOLE M, VAN DE MHEEN D. Trends, motivations and settings of recreational cocaine use by adolescents and young adults in the Netherlands. *Int J Drug Pol.* 2009; 20: 143-151.
39. BOYS A, MARSDEN J, STRANG J. Understanding reasons for drug use amongst people: a functional perspective. *Health Educ Res.* 2001; 16: 457-469.
40. GASIOR M, JASZYNA M, MUNZAR P, WITKIN JM, GOLDBERG SR. Caffeine potentiates the discriminative-stimulus effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology* 2002; 162: 385-395.
41. JONES HE, GRIFFITHS RR. Oral caffeine maintenance potentiates the reinforcing and stimulant subjective effects of intravenous nicotine in cigarette smokers. *Psychopharmacology* 2003; 165: 280-290.
42. TANDA G, GOLDBERG S.R. Alteration of the behavioral effects of nicotine by chronic caffeine exposure. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000; 66: 47-64.
43. AVCI S, SARIKAYA R, BÜYÜKCAM F. Death of a young man after overuse of energy drink. *Am J Emerg Med.* 2013; 31: 1624.e3-1624.e4.

Tabella 1. Contenuto di caffeina negli “energy drinks” e in altri prodotti contenenti caffeina

| Prodotto | Lattina o bottiglia (ml) | Concentrazione di Caffeina in mg per 100 ml | Caffeina totale come dichiarato nella etichetta della bevanda (mg) |
|--|---------------------------------|--|---|
| “Energy drinks” a basso contenuto di caffeina | | | |
| Coca Cola classica* | 330 | 10,3 | 34 |
| Pepsi Cola* | 330 | 11,5 | 38 |
| WhoopAss | 250 | 20,0 | 50 |
| VitaminWaterEnergy Citrus* | 600 | 8,3 | 50 |
| Bomba Energy* | 250 | 30,0 | 75 |
| HiBall Energy** | 300 | 25,0 | 75 |
| Red Bull* | 250 | 32,0 | 80 |
| “Energy drinks” a contenuto medio di caffeina | | | |
| Powershot | 30 | 333,3 | 100 |
| Full throttle* | 500 | 28,8 | 144 |
| Monster* | 500 | 32,0 | 160 |
| RockStar** | 500 | 32,0 | 160 |
| V** | 500 | 32,0 | 160 |
| Ammo** | 30 | 570,0 | 171 |
| Fuel Cell** | 60 | 300 | 180 |
| “Energy drinks” ad alto contenuto di caffeina | | | |
| Blow Energy Drink Mix** | 250 | 96,6 | 240 |
| NOS** | 500 | 50,0 | 250 |
| Jolt Cola** | 700 | 40,0 | 280 |
| Cocaine Energy drink** | 250 | 112,0 | 280 |
| Spike Shooter** | 250 | 120,0 | 300 |
| Viso Energy Vigor** | 600 | 50,0 | 300 |
| RedLine Power rush** | 75 | 466,6 | 350 |
| Bookoo Energy** | 700 | 51,4 | 360 |
| Fixx** | 600 | 83,3 | 500 |
| Wired X505** | 700 | 72,1 | 505 |

I dati sulle bevande, sul volume e contenuto di caffeina sono stati tratti da Gunja N et al.⁽⁸⁾, Reissig CJ et al.⁽¹¹⁾ e/o attenuti dalle etichette dei prodotti e dai siti web.

* In commercio in Italia.

** Acquistabili on-line su siti telematici.

Tabella 2. Sostanze presenti negli “Energy drinks” più venduti a livello internazionale

| | Red Bull | Rockstar | Monster | Full Throttle |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------|--|--|
| Carboidrati | 54 g (glucosio, saccarosio) | 62 g (glucosio) | 54 g (saccarosio, glucosio, sucralosio, maltodestrina) | 57 g (sciroppo di mais ad alto fruttosio) |
| Caffeina | 160 mg | 160 mg | Dichiarata come parte di 5000 mg di una “miscela di energia” | 141 mg |
| Taurina | 2000 mg | 2000 mg | 2000 mg | dichiarato come parte di 3000 mg di una “miscela di energia” |
| Glucuronolattone | Solo dichiarato | - | Dichiarato come parte di 5000 mg di una “miscela di energia” | - |
| Vitamina B7 (inositolo) | Solo dichiarato | 50 mg | Dichiarato come parte di 5000 mg di una “miscela di energia” | - |
| Vitamina B3 (niacina) | 40 mg | 40 mg | 40 mg | 100% RDA di niacinamide |
| Vitamina B6 (piridossina) | 10 mg | 4 mg | 4 mg | 200% RDA |
| Vitamina B12 (cianocobalamina) | 10 µg | 12 µg | 12 µg | 200% RDA |
| Vitamina B2 (riboflavina) | - | 6,8 mg | 3,4 mg | - |
| Vitamina B5 (acido pantotenico) | 10 mg | 20 mg | - | - |
| Estratto di Ginseng | - | 50 mg | 400 mg | Dichiarato come parte di 3000 mg di una “miscela di energia” |
| Estratto di Guarànà | - | 50 mg | Dichiarato come parte di 5000 mg di una “miscela di energia” | Dichiarato come parte di 3000 mg di una “miscela di energia” |
| Ginko biloba | - | 300 mg | - | - |
| Carnitina | - | 50 mg | Dichiarata come parte di 5000 mg di una “miscela di energia” | Dichiarata come parte di 3000 mg di una “miscela di energia” |

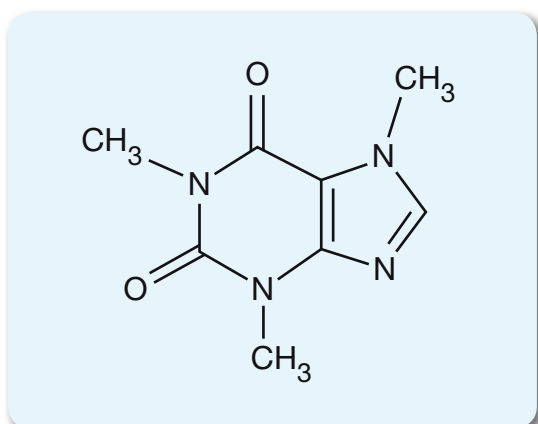
RDA = dose giornaliera raccomandata. Tratta da Higgins JP et al. ⁽⁴⁾

6.2 Caffeina

La caffeina (1,3,7 trimetilxantina) è il principale alcaloide naturale presente in natura nelle foglie, nei semi e/o nei frutti di oltre 60 piante che contengono metilxantine, tra cui il caffè, il tè, il cacao, la noce di cola e il guaranà. La struttura delle metilxantine è caratterizzata da una base purinica metil-sostituita, ovvero da un composto eterociclico metil-sostituito ottenuto dalla condensazione fra la piridina e l'imidazolo. Il numero e la posizione dei metili sostituenti differenzia le metilxantine: teobromina, caffeina e teofillina.

La caffeina è senza dubbio il più diffuso stimolante del sistema nervoso centrale con molteplici effetti sull'organismo. La popolarità della caffeina è di fatto legata alle sue proprietà stimolanti ed eccitanti, che si manifestano generalmente con la diminuzione del senso di fatica e con l'incremento della capacità produttiva e con una maggior resistenza allo sforzo psico-fisico.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche del principio attivo ⁽¹⁾



Nome: caffeina.

Formula Molecolare: $C_8H_{10}N_4O_2$ (peso molecolare = 194,2).

Nome sistematico: 3,7-diidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-dione.

Numero di registro CAS: 58-08-2.

Punto di fusione: 238°C.

UVmax: 273 nm.

Solubilità: poco solubile in acqua, alcol, etere e acetone. Molto solubile in cloroformio, acetato di etile e tetraidrofurano.

Legislazione

In Europa, la presenza di caffeina, in accordo con la Direttiva Europea 2002/67/CE⁽²⁾, deve chiaramente figurare sull'etichetta delle bevande che ne contengono più di 150 mg/l e tale etichetta deve recare la menzione «Tenore elevato di caffeina», seguita dalla quantità espressa in milligrammi per 100 millilitri. Queste disposizioni si applicano alle bevande pronte al consumo nonché a quelle elaborate a partire da prodotti concentrati o disidratati. Esse non si applicano tuttavia alle bevande a base di caffè, tè, o estratto di caffè o di tè, la cui denominazione di vendita contenga il termine «caffè» o «tè». In Danimarca la vendita di "energy drinks" ad alto tenore di caffeina non è permessa e in Norvegia queste bevande sono in vendita solo in farmacia. La Francia le ha ammesse solo di recente con un'etichetta che recita: "Da consumare con moderazione, prodotto sconsigliato alle donne in gravidanza e ai bambini"⁽³⁾. La Gran Bretagna ne sconsiglia l'uso in gravidanza, ai minorenni e a nel caso di problemi cardiovascolari. In Canada, deve essere riportata la dicitura che sconsiglia il consumo dell'"energy drinks" insieme all'alcol⁽³⁾.

In America, la "Food and Drug Administration" (FDA) ha approvato l'uso di caffeina, come aromatizzante nelle bevande cola-simili, ad una concentrazione non superiore allo 0,02%, che equivale a 20 mg in 100 ml di bevanda⁽⁴⁾. Questo limite però non si applica agli "energy drinks". Alcuni sostengono che, a causa del fatto che queste bevande contengono estratti di erbe e alcune vitamine, non sono soggette al limite di concentrazione della caffeina⁽⁵⁾. La FDA non richiede per gli "energy drinks" né l'etichettatura di pericolosità, né la quantità di caffeina presente nel prodotto, come fa invece per i farmaci da banco contenenti caffeina. Secondo la FDA⁽⁴⁻⁵⁾, i farmaci da banco ad azione stimolante devono contenere le seguenti avvertenze e le indicazioni sull'etichetta del prodotto:

- "Questo prodotto contiene caffeina più o meno quanto una tazza di caffè. Limitare l'uso di farmaci contenenti caffeina, alimenti o bevande durante l'assunzione di questo prodotto perché troppa caffeina può causare nervosismo, irritabilità, insonnia e, occasionalmente, battito cardiaco accelerato";

- “Non somministrare ai bambini sotto i 12 anni di età”;
- “Istruzioni: Adulti e bambini di 12 anni di età e oltre: Dose orale è di 100 a 200 milligrammi e va consumata non più spesso di una volta ogni 3 o 4 ore”.

Negli Stati Uniti, un farmaco stimolante da banco che contiene 100 mg di caffeina per compressa deve comprendere tutte le avvertenze di cui sopra, mentre gli “energy drinks” con un contenuto di caffeina di 500 mg possono essere commercializzati senza dette segnalazioni e nessuna informazione sulla quantità di caffeina nel prodotto⁽⁵⁾.

Il Codice 2.6.4 della “Australian Food Standards” richiede di riportare nell’etichettatura della quantità totale di caffeina da tutte le sue fonti, pure e/o naturali⁽⁶⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La caffeina è assunta principalmente in virtù delle sue proprietà psicostimolanti ed è indubbiamente la sostanza psicoattiva più consumata a livello mondiale. Gli effetti centrali della caffeina comprendono aumentata vigilanza, diminuzione del senso di fatica e riduzione del sonno⁽⁷⁻¹⁰⁾. L’assunzione di caffeina può, inoltre, consentire uno sforzo intellettuale intenso e sostenuto per un lungo periodo, non accompagnato da compromissione delle abilità motorie⁽¹¹⁾.

La caffeina sembra condizionare la nostra memoria e la nostra capacità di apprendimento. Uno studio austriaco condotto su 48 individui di sesso maschile e femminile, consumatori moderati di bevande a base di caffeina, suddivisi in due gruppi a seconda dell’età (I° gruppo 20-25 anni; II° gruppo 50-65 anni) ha dimostrato, sia a livello comportamentale sia sul piano neuroanatomico, una correlazione tra assunzione di caffeina ed aumento dell’efficienza della memoria a breve termine⁽¹²⁻¹³⁾.

Il Dipartimento di Scienze Neurologiche della Drexel University College of Medicine di Philadelphia negli Stati Uniti riferisce che un consumo moderato di caffeina può avere funzioni di neuroprotezione, riducendo così la possibilità di sviluppare, ad esempio, il morbo di Alzheimer in età avanzata⁽¹⁴⁾. Poiché questa patologia comporta la progressiva degenerazione delle funzioni cerebrali, alcuni studi sostengono che bere caffè senza eccedere possa, quindi, essere un buon motivo per migliorare e mantenere sia una buona memoria che buone capacità di apprendimento⁽¹⁴⁾; la caffeina sembrerebbe in grado di ridurre in modo significativo i livelli ematici e cerebrali della proteina beta amiloide molto elevati nella malattia di Alzheimer⁽¹⁴⁾. Inoltre per la sua azione di stimolante del sistema nervoso centrale la caffeina è presente in numerosi composti analgesici; sembra infatti possedere caratteristiche in grado di modulare la componente affettiva del dolore e di attivare le vie centrali noradrenergiche, che costituiscono un sistema endogeno di soppressione del dolore⁽¹⁵⁾. Per questo motivo sono disponibili sul mercato numerose specialità medicinali ad attività analgesica, alcune delle quali in vendita come farmaci da banco, contenenti caffeina in associazione a principi attivi come paracetamolo, acido acetilsalicilico, propifenazone ed ergotamina⁽¹⁵⁾.

Oltre a mostrare un effetto stimolante sul sistema nervoso centrale, la caffeina mostra un effetto stimolante anche sul sistema cardiovascolare⁽¹⁶⁾. Gli effetti della caffeina sul sistema cardiovascolare sono dovuti all’aumento del rilascio di adrenalina e noradrenalina da parte della midollare del surrene e al prolungamento del loro effetto mediante l’inibizione della fosfodiesterasi dell’AMP (adenosin-monofostato) ciclico. Gli effetti cardiovascolari della caffeina dipendono in primo luogo dal dosaggio utilizzato, dalle condizioni di salute del soggetto e dalla eventuale passata esposizione a composti xantinici; infatti nel consumatore abituale si instaurano fenomeni di tolleranza che compensano gli effetti cardiovascolari della caffeina rendendoli di scarsa importanza clinica.

La caffeina possiede inoltre effetti diuretici probabilmente dovuti ad un’azione diretta a livello dei tubuli renali e all’aumento della velocità di escrezione di ioni sodio e cloruri⁽¹⁷⁾.

Ci sono inoltre evidenze che a livello del tratto gastrointestinale la caffeina produca un incremento della secrezione di acido cloridrico e di pepsina che sembra aumentare la motilità gastrica⁽¹⁸⁾.

Se in campo farmaceutico la caffeina trova sempre meno spazio vista la presenza di farmaci più efficaci e selettivi, in cosmesi trova maggior utilizzo come coadiuvante per il trattamento della cellulite, date le potenzialità lipolitiche e termogeniche⁽¹⁹⁻²⁰⁾. Dal momento che la cellulite è legata a problemi circolatori, con essudazione di liquidi negli interstizi e isolamento degli adipociti con interruzione degli scambi metabolici, è opportuno intervenire con un’azione drenante e

disintossicante per districare le fibre di collagene che soffocano gli adipociti. È a questo proposito che risulta utile l'applicazione cosmetica della caffeina per la sua capacità di stimolare il drenaggio e la rimozione dei liquidi stagnanti (funzione antiedematosa), anche se la principale azione della sostanza è quella di stimolare la mobilizzazione degli acidi grassi nel tessuto adiposo. La caffeina stimola l'attività dell'AMPc inibendo la fosfodiesterasi, enzima che degrada l'AMPc ed impedisce la lipolisi. Per risolvere l'inestetismo è opportuno integrare l'intervento cosmetico con opportuni trattamenti estetici di tipo fisico (massaggi, bendaggi, elettroestetica, pneumoestetica) allo scopo di aumentare l'efficacia dell'applicazione topica. L'uso topico della caffeina non comporta ad oggi controindicazioni, poiché l'assorbimento transdermico non mostra concentrazioni ematiche tali da indurre effetti sistemici ⁽²¹⁾.

Tossicità

La dose letale di caffeina per un individuo di circa 70 kg di peso è compresa tra i 5 ed i 10 grammi e l'intossicazione mortale da caffeina è stata osservata molto raramente: per queste ragioni la sostanza è ritenuta relativamente sicura. Per quanto riguarda le dosi ritenute tossiche la letteratura riporta i seguenti valori: 400 mg negli adulti, 100 mg negli adolescenti (12-18 anni) e 2.5 mg/kg di peso nei bambini (0-12 anni) ⁽²²⁻²³⁾.

In Tabella 1 sono riportati i dati relativi alla tossicità acuta della caffeina nell'uomo:

Tabella 1. Valori di tossicità acuta della caffeina nell'uomo ⁽¹⁾

| Specie | Modalità di somministrazione | DLLo/TDL0 |
|---------|------------------------------|-------------------|
| Bambino | Orale | DLLo = 320 mg/kg |
| | | DTLo = 140 mg/kg |
| Neonato | Intramuscolare | DTLo = 36 mg/kg |
| | Intravenosa | DTLo = 68 mg/kg |
| | Orale | DTLo = 14,7 mg/kg |
| Uomo | Orale | DTLo = 13 mg/kg |
| Donna | Intravenosa | DLLo = 57 mg/kg |
| | | DLLo = 400 mg/kg |
| | Orale | DTLo = 96 mg/kg |

DLLo = dose letale minima; DTLo = dose tossica minima

L'assunzione prolungata di quantità moderate di caffeina non ha evidenziato effetti tossici. Manifestazioni di tossicità cronica possono manifestarsi in caso di consumo protratto di caffeina in associazione al fumo di sigaretta o all'alcol, dal momento che questi ultimi modulano le caratteristiche farmacocinetiche della caffeina. È pertanto difficile stabilire se gli effetti siano indotti esclusivamente dalla base xantina o da altri fattori.

Effetti avversi

Gli effetti dovuti ad una intossicazione da caffeina comprendono: stato di agitazione, irritabilità, ansia, insonnia, tremore, tachicardia, palpitazioni e sindrome gastrointestinale ^(5,23). Gli effetti indesiderati più gravi comprendono: nausea, vomito, ipokaliemia, stato di allucinazione, aumento della pressione intracranica, edema cerebrale, infarto del miocardio, paralisi, alterazione dello stato di coscienza, aritmia e decesso ⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Interazioni farmacologiche

La caffeina può inibire il metabolismo della clozapina e ridurre la clearance del farmaco di oltre il 14% attraverso l'inibizione dell'isoforma CYP1A2 del citocromo P450 ⁽²⁷⁾. Nei pazienti in trattamento con clozapina, in particolare quelli con psicosi refrattaria al trattamento, l'uso di prodotti a base di caffeina dovrebbe essere ridotto il più possibile ⁽²⁸⁾. Alcuni chinoloni possono inibire con un meccanismo dose-dipendente la clearance epatica della caffeina. L'enoxacina ed in minor misura la ciprofloxacina, la grepafloxacina, la levofloxacina e la norfloxacina riducono la clearance della caffeina mentre

l'ofloxacina e la lomefloxacinina non sembrano esercitare tale effetto⁽²⁹⁾. L'effetto tossico della caffeina si può manifestare con nausea, vomito, nervosismo, ansia, tachicardia e convulsioni. Gli anziani, gli individui con ridotta funzionalità epatica e coloro che consumano grosse quantità di prodotti contenenti caffeina dovrebbero essere particolarmente attenti a tale interazione durante il trattamento con chinoloni.

La caffeina riduce i livelli plasmatici di litio⁽³⁰⁾. In uno studio condotto su 11 pazienti stabilizzati con litio e forti bevitori di caffè, è stato osservato che i livelli plasmatici di litio aumentavano quando l'assunzione di caffè veniva ridotta e si abbassavano al momento in cui veniva ripreso l'uso di caffè. È stato inoltre osservato un aumento dell'incidenza di reazioni avverse indotte dal farmaco al momento in cui veniva ripreso il consumo di caffè.

La caffeina interagisce con gli inibitori delle monoaminoossidasi-MAO (inclusi farmaci quali furazolidone, isoniazide, linezolid, procarbazine che possono inibire l'attività di tali enzimi)⁽³¹⁾. Per effetto di tale interazione possono verificarsi casi di aritmie cardiache o di grave ipertensione dovute all'aumento degli effetti simpaticomimetici indotti dagli inibitori delle MAO.

Il succo di pompelmo è in grado di inibire il metabolismo indotto dagli enzimi del citocromo P450. L'uso elevato di tale sostanza può aumentare gli effetti clinici e la durata dell'azione della caffeina⁽³²⁻³³⁾.

I pazienti in terapia con benzodiazepine o zolpidem per il trattamento dell'insonnia non dovrebbero assumere prodotti caffeinici prima di andare a dormire in quanto questi potrebbero antagonizzarne gli effetti sedativi⁽³⁴⁾.

Un consumo di caffeina superiore ai 400 mg/die è stato associato allo sviluppo di incontinenza urinaria. Poiché la caffeina può contrastare l'efficacia clinica dei farmaci utilizzati per il trattamento di tale patologia (per es. darifenacina, ossibutina, trospio o tolterodina), i pazienti affetti da incontinenza urinaria dovrebbero evitare l'ingestione di prodotti contenenti questa metilxantina inclusi integratori erboristici (maté, guaranà, ecc.), bibite (tè, caffè, cola) o cibi (cioccolata)⁽³⁵⁾.

La contemporanea somministrazione di caffeina con teofillina, aminofillina o con altre xantine correlate può causare un'eccessiva stimolazione centrale che si manifesta con nervosismo, irritabilità, tremori o insonnia cui può associarsi un aumento degli effetti collaterali indotti dalla caffeina come nausea, aritmie o convulsioni⁽³⁶⁾.

Il metabolismo delle xantine può essere incrementato dalla contemporanea somministrazione di barbiturici⁽³⁷⁾. Altri farmaci che possono indurre il metabolismo della caffeina includono la carbamazepina⁽³⁷⁾, la fenitoina e la fosfenitoina (che viene metabolizzata a fenitoina)⁽³⁸⁾, rifampicina⁽³⁷⁾ e l'iperico o erba di S. Giovanni⁽³⁹⁾.

I pazienti in trattamento con tali farmaci dovrebbero ridurre al minimo l'assunzione di bevande caffeiniche al fine di evitare la comparsa di eventi avversi quali nausea, vomito, palpitazioni o tremori.

Le metilxantine bloccano in maniera competitiva gli effetti dell'adenosina e possono causare falsi positivi alla scintigrafia con dipiridamolo o tallio 201. Per tale ragione si raccomanda ai pazienti che devono effettuare tale indagine di evitare l'assunzione di prodotti contenenti caffeina, teofillina o teobromina nelle 24 ore precedenti all'esecuzione del test⁽⁴⁰⁾.

La mexiletina è un inibitore del CYP1A2 e può ridurre il metabolismo della caffeina aumentandone i livelli plasmatici di oltre il 23%⁽³⁷⁾. È stato inoltre osservato che il farmaco può ridurre di circa il 50% l'escrezione della caffeina. I pazienti affetti da aritmie cardiache ed in trattamento con mexiletina dovrebbero pertanto diminuire l'assunzione di caffè e di bevande contenenti caffeina⁽³⁶⁾.

Il fumo di sigarette contiene idrocarburi che inducono gli enzimi microsomiali appartenenti al citocromo P450 (CYP1A1, CYP1A2 e CYP2E1)⁽⁴¹⁾. L'incremento della clearance della caffeina indotto dal fumo può contribuire all'aumento nel consumo di caffè. Come conseguenza di tale interazione possono manifestarsi effetti collaterali associati al consumo di dosi elevate di caffeina quali nausea, nervosismo, irritabilità, tremori o insonnia.

Dati in vivo indicano che l'*Echinacea*, pianta con caratteristiche immunostimolanti, può inibire il metabolismo della caffeina di circa il 27%⁽⁴²⁾. Nei pazienti trattati con echinacea si raccomanda di ridurre l'assunzione di caffè⁽⁴³⁾.

I livelli serici di caffeina possono essere aumentati dalla contemporanea assunzione di contraccettivi orali che sono in grado di inibire l'ossidazione enzimatica delle metilxantine a livello epatico⁽⁴⁴⁾.

Infine è stato osservato che in pazienti trattati con alte dosi di paracetamolo, l'assunzione di elevati quantitativi di caffeina può favorire la formazione di un metabolita epatotossico⁽⁴⁵⁾. Sulla base di tali dati, gli autori dello studio suggeriscono di evitare in tali pazienti un'eccessiva assunzione di caffeina.

Poiché la caffeina è anche un inibitore della fosfodiesterasi che converte il cAMP (secondo messaggero per l'azione dell'adrenalina) nella sua forma aciclica AMP, prolunga l'effetto di queste sostanze e altre simili come amfetamina, metamfetamina e metilfenidato.

Effetti in gravidanza

Nonostante il suo diffuso utilizzo e la convinzione che si tratti di una sostanza sicura, si è dimostrato che le donne in gravidanza che consumano 200 milligrammi o più di caffeina al giorno abbiano circa il doppio del rischio di aborto spontaneo rispetto alle donne che non ne consumano⁽⁴⁶⁾. La caffeina è in grado di attraversare liberamente la placenta e di pervenire al feto, nonché di accumularsi nel latte materno⁽⁴⁷⁾.

Determinazioni Analitiche

Numerosi metodi che utilizzano cromatografia liquida⁽⁴⁸⁻⁴⁹⁾, ma anche cromatografia su strato sottile^(50,51) e spettrofotometria ad assorbanza di luce ultravioletta⁽⁵²⁾ sono stati messi a punto per la determinazione della caffeina in polveri, prodotti farmaceutici, prodotti di natura erboristica, energy drinks e liquidi biologici.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della caffeina nel plasma umano utilizzando plasma di natura sintetica⁽⁵³⁾

Estrazione del campione

A 500 µl di plasma, standard di calibrazione e campioni di controllo vengono aggiunti 200 µl di fenazone utilizzato come standard interno. Il campione viene agitato per 20 secondi e centrifugato a 12000 rpm per circa 10 minuti. Il surnatante viene quindi raccolto e 100 µl vengono iniettati nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: RP Atlantis C18 (4.6 x 150 mm x 5 µm)

Fase Mobile: fosfato di potassio 15 mM (pH 3.5) e acetonitrile (83:17 v/v)

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 1.0 ml/min

Rivelatore: spettrofotometro con fotomoltiplicatore a serie di diodi (274 nm)

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

caffeina: 4,7 min

fenazone: 8,8 min

Standard

Lo standard di caffeina e quello di fenazone utilizzati nelle analisi si possono acquistare presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

La soluzione madre di caffeina è stata preparata ad una concentrazione di 100 µg/ml utilizzando come solvente alcol metilico e conservata a -20°C. Le soluzioni di lavoro sono preparate mediante diluizione dalla rispettiva soluzione madre. Gli standard di calibrazione (range di concentrazione 0.05-20 µg/ml) vengono preparati quotidianamente aggiungendo le soluzioni di lavoro a concentrazione nota a campioni di plasma sintetico e plasma umano.

Risultati

Dalle analisi effettuate sul plasma di 67 donatori volontari tenuti in astensione da caffeina per 16 ore si registra un aumento medio di caffeina da una concentrazione iniziale di 0,28 µg/ml ad una concentrazione di 10,58 µg/ml dopo tre ore da una assunzione in singola dose di 300 mg di caffeina.

Bibliografia

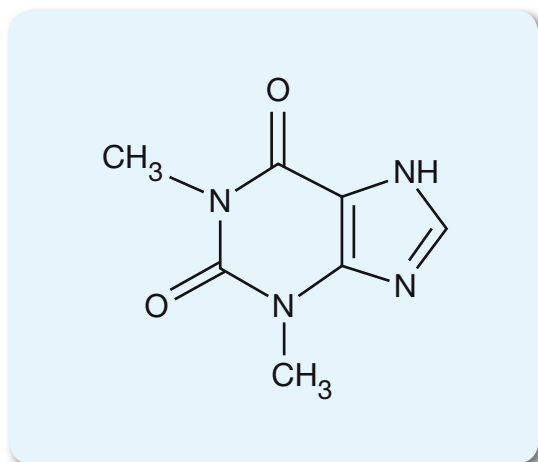
1. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+36>
2. Direttiva 2002/67/CE del 18 luglio 2002 relativa all'etichettatura dei prodotti alimentari che contengono chinina, e dei prodotti che contengono caffeina. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:191:0020:0021:IT:PDF>
3. ARRIA AM, O'BRIEN MC. The "high" risk of energy drinks. *JAMA*. 2011; 305: 600-601.
4. Food and Drug Administration. Substances generally recognized as safe. Code of Federal Regulations. 2003. [Accessed on February 28, 2008]. Title 21 volume 3, Sec 182.1180 <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fcf182.html>.
5. Food and Drug Administration, 2007a. Stimulant drug products for over-the-counter human use. Code of Federal Regulations. Title 21 volume 5, Sec. 340.50.
6. Food Standards Australia New Zealand. Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 2.6.4 (2009): formulated caffeinated beverages. <http://www.comlaw.gov.au/Details/>
7. NEHLIG A, DAVAL JL, DEBRY G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res Brain Res Rev*. 1992; 17: 139-170.
8. SMITH A. Effects of caffeine on human behavior. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40: 1243-1255.
9. LORIST MM, TOPS M. Caffeine, fatigue, and cognition. *Brain Cogn*. 2003; 53: 82-94.
10. KOPPELSTAETTER F, POEPEL TD, SIEDENTOPF CM, ISCHEBECK A, KOLBITSCH C, MOTTAGHY FM. Caffeine and cognition in functional magnetic resonance imaging. *J Alzheimers Dis*. 2010; 20: S71-S84.
11. LIEBERMAN HR, THARION WJ, SHUKITT-HALE B, SPECKMAN KL, TULLEY R. Effects of caffeine, sleep loss, and stress on cognitive performance and mood during U.S. Navy SEAL training. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 164: 250-261.
12. FREDHOLM BB, BATTIG K, HOLMEN J, NEHLIG A, ZVARTAU EE. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev*. 1999; 51: 83-133.
13. REES K, ALLEN D, LADER M. The influences of age and caffeine on psychomotor and cognitive function. *Psychopharmacology*. 1999; 145: 181-188.
14. ROSSO A, MOSSEY J, LIPPA CF. Review: Caffeine: Neuroprotective Functions in Cognition and Alzheimer's Disease *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 2008; 23: 417-422.
15. DERRY CJ, DERRY S, MOORE RA. Caffeine as an analgesic adjuvant for acute pain in adults *Cochrane Database Syst Rev*. 2012, 3:CD009281.
16. HARTLEY T, WILLIAM R, LOVALLO TS, WHITSETT L. Cardiovascular effects of caffeine in men and women. *Am J Cardiol* 2004; 93: 1022-1026.
17. RIESENHUBER A, BOEHM M, POSCH M, AUFRICHT A. Diuretic potential of energy drinks. *Amino Acids* 2006; 31: 81-83.
18. BOEKEMA PJ, SAMSOM M, VAN BERGE HENEGOUWEN GP, SMOUT AJ. Coffee and gastrointestinal function: facts and fiction. A review. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1999; 230: 35-39.
19. INJAC R, SRDJENOVIC B, PRIJATELJ M, BOSKOVIC M, KARLJKOVIC-RAJIC K, STRUKELJ B. Determination of caffeine and associated compounds in food, beverages, natural products, pharmaceuticals and cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography *J Chromatograph Sci*, 2008; 46: 137-143.
20. SAINIO EL, RANTANEN T, KANERVA L. Ingredients and safety of cellulite creams. *Eur J Dermatol*. 2000; 10: 596-603.
21. HERMAN A, HERMAN AP. Caffeine's Mechanisms of action and its cosmetic use. *Skin Pharmacol Physiol*. 2013; 26: 8-14.
22. SEIFERT SM, SCHAECHTER JL, HERSHORIN ER, LIPSHULTZ SE. Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults. *Pediatrics* 2011; 127: 511-528.
23. WOLK BJ, GANETSKY M, BABU KM. Toxicity of energy drinks. *Curr Opin Pediatr* 2012; 24: 243-251.
24. CLAUSON KA, SHIELDS KM, MCQUEEN CE, PERSAD N. Safety issues associated with commercially available energy drinks. *J Am Pharm Assoc* 2008; 48: e55-e63.
25. CANNON ME, COOKE CT, MC CARTHY JS. Caffeine-induced cardiac arrhythmia: an unrecognised danger of healthfood products. *MedJ Aust* 2001; 174: 520-521.
26. HOLMGREN P, NORDEN-PETTERSSON L, AHLNER J. Caffeine fatalities: four case reports. *Forensic Sci Int*. 2004; 139: 71-73.
27. BERTILSSON L, CARRILLO JA, DAHL ML, LLERENA A, ALM C, BONDESSON U. Clozapine disposition co-varies with CYP1A2 activity determined by a caffeine test. *Br J Clin Pharmacol*. 1994; 38: 471-473.
28. DRATCU L, GRANDISON A, MCKAY G. Clozapine-resistant psychosis, smoking, and caffeine: managing the neglected effects of substances that our patients consume every day. *Am J Ther*. 2007; 14: 314-318.
29. ROBSON RA. The effects of quinolones on xanthine pharmacokinetics. *Am J Med*. 1992; 92: 22S-25S.
30. MESTER R, TOREN P, MIZRACHI I, WOLMER L, KARNIN, WEIZMAN A. Caffeine withdrawal increases lithium blood levels *Biol Psychiatry*. 1995; 37: 348-350.
31. PETZER A, PIENAAR A, PETZER JP The interactions of caffeine with monoamine oxidase *Life Sci*. 2013 8; 93: 283-287.
32. MAISH WA, HAMPTON EM, WHITSETT TL, SHEPARD JD, LOVALLO WR. Influence of grapefruit juice on caffeine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacotherapy* 1996; 16: 1046-1052.

33. FUHR U, MAIER A, BLUME H, MUCK W, UNGER S, STAIB AH. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP 1A2 dependent metabolism of caffeine in man. *Br J Clin Pharmacol* 1993; 35: 431-436.
34. BONNET MH, ARAND DL. Caffeine use as a model of acute and chronic insomnia. *Sleep* 1992; 15: 526-536.
35. HOLROYD-LEDU JM, STRAUS SE. Management of urinary incontinence in women: a scientific review. *JAMA* 2004; 291: 986-995.
36. CARRILLO JUAN A, JULIO BENITEZ. Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications. *Clinical Pharmacokinetics* 2000; 39: 127-153.
37. HANSTEN PD, HORN JR. Cytochrome P450 enzymes and drug interactions, table of cytochrome P450 substrates, inhibitors, inducers and P-glycoprotein, with footnotes. In: *The Top 100 Drug Interactions - A guide to Patient Management*. 2007 Edition. Freeland, WA: H&H Publications; 2007: 159-175.
38. WIDYATI I, ZULLIES I, LUKMAN H. Pharmacokinetic study of phenytoin-caffeine combination *Int J Pharm Biomed Res* 2013; 4: 5-9.
39. HENDERSON L, YUE QY, BERGQUIST C, GERDEN B, ARLETT P. St. John's (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54: 349-356.
40. UNDERWOOD DA. Which medications should be held before a pharmacologic or exercise stress test? *Cleve Clin J Med* 2002; 69: 449-450.
41. ZEVIN S, BENOWITZ NL. Drug interactions with tobacco smoking: an update. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: 425-38.
42. GORSKI JC, HUANG SM, PINTO A, HAMMAN MA, HILLIGOSS JK, ZAHEER NA, DESAI M, MILLER M, HALL SD. The effect of echinacea (*Echinacea purpurea*) on cytochrome P450 activity in vivo. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 89-100.
43. HANSTEN PD, HORN JR. Top 100 Drug Interactions Monographs. In: *The Top 100 Drug Interactions - A guide to Patient Management*. 2007 Edition. Freeland, WA: H&H Publications; 2007: 4-141.
44. RIETVELD E, BROEKMAN M, HOUBEN J. Rapid onset of an increase in caffeine residence time in young women due to oral contraceptive steroids. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 26: 371-373.
45. CAMERON MD, WEN B, ROBERTS AG. Cooperative binding of acetaminophen and caffeine within the P450 3A4 active site. *Chem Res Toxicol* 2007; 20: 1434-1441.
46. WENG X, ODOULI R, LI K. Maternal caffeine consumption during pregnancy and the risk of miscarriage: a prospective cohort study. *Am J Obstetrics & Gynecology* 2008; 279: e1-e7.
47. STAVCHANSKY S, DELGADO M, JOSHI A, COMBS A, SAGRAVES R. Pharmacokinetics of caffeine in breast milk and plasma after single oral administration of caffeine to lactating mothers *Biopharmaceutics & Drug Disposition* 1988; 9: 285-299.
48. KEENE AT, ANDERSON LA, PHILLIPSON JD. Investigation of Cinchona leaf alkaloids by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1983; 260: 123-128.
49. MCCALLEY DV. Analysis of Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1983; 260: 184-188.
50. BALTES W, PETERSEN H, DEGNER C. Die remissions spektralphotometrische Bestimmung Von Trigonellin und Coffein in Kaffee. *Z. Lebensm. Unters.-Frosch.* 1973; 152: 145-146.
51. ABOURASHED EA, MOSSA JS. HPTLC determination of caffeine in stimulant herbal products and power drinks. *J Pharm Biomed Anal* 2004; 36: 617-620.
52. DOGAN HN. Simultaneous spectrophotometric determination of dipyrone and caffeine in pharmaceutical formulations. *Indian J Pharm Sci* 1995; 57: 224-226.
53. ALVI S.N., HAMMAMI M. Validated HPLC method for determination of caffeine level in human plasma using synthetic plasma: application to bioavailability studies. *J Chromat Sci* 2011; 49: 292-296.

6.3 Teofillina

La teofillina è un alcaloide contenuto nelle foglie del tè ed in piccola quantità anche nel caffè e nelle fave di cacao. La percentuale maggiore di questo alcaloide è stata riscontrata nelle fave di cacao criollo, un cacao di alta qualità molto diffuso in America centrale e nel nord del Sudamerica⁽²⁾. Chimicamente la teofillina è una 1,3-dimetilxantina con azione vasodilatatrice periferica, antispastica e rilasciante sulla muscolatura liscia, diuretica e broncodilatatrice, stimolante del miocardio.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche del principio attivo⁽¹⁾



Nome: teofillina.

Formula Molecolare: $C_7H_8N_4O_2$ (peso molecolare = 180,1).

Nome sistematico: 3,7-diidro-1,3-dimetil-1H-purina-2,6-dione.

Numero di registro CAS: 58-55-9.

Punto di fusione: 273°C.

UVmax: 275 nm.

Solubilità: poco solubile in acqua, etanolo e cloroformio.

Legislazione

In Italia la teofillina non è soggetta a nessun tipo di restrizione legale.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Il meccanismo d'azione della teofillina è legato all'inibizione dell'enzima fosfodiesterasi⁽³⁾ con aumento della concentrazione intracellulare dell'adenosin-monofosfato (AMP) ciclico il cui livello intracellulare aumenta con effetto di mantenimento nello stato attivato di tutta una serie di enzimi tra cui principalmente la trigliceridolipasi, che idrolizza i trigliceridi, liberando gli acidi grassi dal tessuto adiposo. Un altro meccanismo d'azione è l'inibizione dell'adenosina, che è capace di contrarre la muscolatura liscia bronchiale con conseguente effetto broncodilatatore⁽⁴⁻⁷⁾. Oltre all'effetto broncodilatatore, la teofillina può avere effetti antinfiammatori nel sistema respiratorio come indica la riduzione del numero dei neutrofili e della concentrazione di interleuchina-8 nell'espettorato indotto in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva. Studi in vitro hanno evidenziato che basse dosi di teofillina possono antagonizzare la "resistenza" all'effetto dei glucocorticoidi indotta dal fumo in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva⁽⁴⁾. La teofillina si somministra generalmente per bocca in formulazioni convenzionali o, più frequentemente, in preparazioni a rilascio controllato o per via endovenosa come aminofillina⁽⁸⁾. Sono disponibili formulazioni a rilascio controllato da somministrare ogni 8, 12 o 24 ore. La somministrazione di teofillina per via endovenosa deve essere eseguita molto lentamente, in un tempo non inferiore ai 20 minuti⁽⁹⁾, per il rischio di comparsa di effetti tossici gravi come aritmie e convulsioni. L'assorbimento della teofillina dopo somministrazione di formulazioni convenzionali è rapido e completo con un "picco" di concentrazioni plasmatiche entro 2 ore dalla somministrazione del farmaco; l'assorbimento di teofillina in preparazioni a rilascio controllato presenta ampia variabilità interindividuale per cui è necessario individualizzare la posologia. La teofillina è eliminata principalmente attraverso il metabolismo epatico (una frazione inferiore al 15% è escreta inalterata nelle urine)⁽⁸⁾. L'emivita di eliminazione è mediamente di 8-9 ore nell'adulto di circa 3,5 ore nei bambini⁽⁸⁾ ed è aumentata nell'insufficienza cardiaca ed epatica, nelle infezioni virali, nelle persone anziane e per concomitante somministrazione di

alcuni farmaci come cimetidina, ciprofloxacina, eritromicina, fluvoxamina e contraccettivi orali. L'emivita di eliminazione della teofillina è diminuita nei fumatori e negli alcolisti cronici e per concomitante somministrazione di farmaci come fenitoina, carbamazepina, rifampicina e barbiturici⁽⁹⁾. Oltre all'effetto broncodilatatore, la teofillina può aumentare la contrattilità cardiaca, avere effetto psicostimolante, effetto diuretico ed aumentare la contrattilità diaframmatica⁽⁸⁾. Proprio a quest'ultimo effetto è stata attribuita una possibile valenza terapeutica nella broncopneumopatia cronica ostruttiva. Comunque, la teofillina presenta un basso indice terapeutico che ne limita la somministrazione. Per questo motivo e per l'ampia variabilità interindividuale nella biodisponibilità è necessario il monitoraggio terapeutico delle concentrazioni plasmatiche. Questo comporta l'esecuzione del prelievo ematico dopo il raggiungimento delle concentrazioni del farmaco allo stato stazionario (steady-state). Il range terapeutico per la teofillina è compreso tra 10 e 20 µg/ml ed effetti tossici cominciano a comparire a concentrazioni di teofillina superiori a 25 µg/ml; al di sopra di 45 µg/ml è elevato il rischio di effetti tossici gravi come aritmie e convulsioni. Alle concentrazioni plasmatiche terapeutiche, i principali effetti collaterali della teofillina sono costituiti da anoressia, nausea, emesi, insonnia, agitazione, palpitazioni, ipotensione⁽⁸⁾.

Tossicità¹

In Tabella 1 sono riportati i dati relativi alla tossicità acuta della teofillina nell'uomo:

Tabella 1. Valori di tossicità acuta della teofillina

| Specie | Modalità di somministrazione | DLLo/TDL _o |
|---------|------------------------------|--------------------------------|
| Bambino | Intramuscolare | TDL _o = 50 mg/kg |
| | Orale | TDL _o = 10 mg/kg |
| Uomo | Intravenosa | TDL _o = 10 mg/kg |
| | Orale | TDL _o = 5 mg/kg |
| | Intravenosa | DLL _o = 3.429 mg/kg |
| | Parenterale | DLL _o = 12 mg/kg |
| | Orale | DLL _o = 66 mg/kg |
| Donna | Orale | DLL _o = 130 mg/kg |
| | Intravenosa | TDL _o = 120 mg/kg |
| | Orale | TDL _o = 108 mg/kg |

DLL_o = dose letale minima; DTL_o = dose tossica minima

Effetti avversi

Negli adulti dosaggi superiori alle dosi terapeutiche⁽¹⁰⁾ possono provocare tachicardia, palpitazioni, nausea e altri disturbi gastrointestinali, cefalea, stimolazione del sistema nervoso centrale, insonnia, aritmie e convulsioni specie dopo iniezione endovenosa⁽¹¹⁾.

Inoltre i preparati a base di teofillina vanno usati con precauzione nei pazienti con malattie cardiache e/o ipossimie gravi, ipertensione, ipertiroidismo, infarto miocardico, insufficienza cardiaca congestizia, malattie epatiche e renali, negli anziani e nei neonati.

Interazioni farmacologiche

La teofillina non dovrebbe essere somministrata contemporaneamente ad altri preparati xantini e l'associazione tra teofillina ed efedrina⁽¹²⁾ o altri simpaticomimetici broncodilatatori richiede attenzione durante una eventuale somministrazione congiunta⁽¹³⁾.

Preparazioni a base di *Hypericum perforatum* non dovrebbero essere assunte in contemporanea con medicinali contenenti la teofillina, a causa del rischio di un decremento dei livelli plasmatici e di diminuzione dell'efficacia terapeutica della teofillina⁽¹⁴⁾.

Effetti in gravidanza

Sebbene non siano stati rilevati effetti negativi della teofillina sullo sviluppo fetale, il suo impiego in gravidanza deve essere limitato esclusivamente ai casi in cui il medico ritenga che il mancato controllo dell'asma costituisca un reale rischio per la madre⁽¹⁵⁾. L'impiego è controindicato nelle donne che allattano.

Determinazioni Analitiche

La letteratura scientifica riporta numerose metodologie per la determinazione delle xantine: queste metodologie includono saggi immunochimici⁽¹⁶⁾, cromatografia su strato sottile⁽¹⁷⁾, gas cromatografia⁽¹⁸⁾ e cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa⁽¹⁹⁾. Recentemente è stata messa a punto una metodologia in cromatografia liquida-spettrometria di massa tandem per la determinazione analitica della teobromina, teofillina e caffeina in saliva, plasma e urine di assuntori di prodotti contenenti metilxantine⁽²⁰⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della teofillina, teobromina e caffeina nella saliva, nel plasma e nelle urine⁽²⁰⁾

Estrazione del campione

I campioni vengono inizialmente centrifugati per 5 minuti a 10000 rpm e successivamente 500 µl di surnatante vengono filtrati. Il residuo filtrato viene nuovamente centrifugato a 10000 rpm per 10 minuti e successivamente diluito per essere iniettato nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Bridge-ethyl hybrid (BEH) C18 (1,7 µm x 2,1 mm x 50 mm)

Fase mobile A: acido formico 0,1% in acqua

Fase mobile B: acetonitrile

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile B: tra 0,00-0,5 minuti dal 2% al 10%; tra 0,5-0,7 minuti dal 10% al 13%; tra 0,7-1,25 minuti dal 13% al 14%; tra 1,25-1,50 minuti dal 14% al 50%)

Flusso: 0,6 ml/min

Rivelatore: Spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva.

Temperatura della sorgente: 120°C

Temperatura di desolvatazione: 350°C

Voltaggio del capillare: 3kV

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

teobromina: 0,95 min

teofillina: 1,05 min

caffeina: 1,20 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

teobromina: m/z 181,0 → 108,0

teofillina: m/z 181,0 → 124,0

caffeina: m/z 195,1 → 137,9

Standard

Gli standard di teofillina, caffeina e teobromina utilizzati nelle analisi si possono acquistare presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Le curve di calibrazione per le tre diverse matrici biologiche sono state preparate coprendo un range di concentrazioni da 2,5 a 400 $\mu\text{mol/l}$.

Risultati

Con la presente metodica è possibile analizzare le metilxantine in plasma, urine e saliva in maniera rapida ed efficiente utilizzando un unico protocollo analitico.

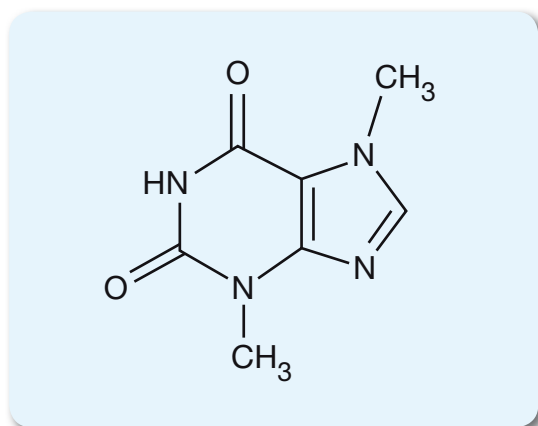
Bibliografia

1. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+3399>
2. APGAR JL, TARKA SM. Methylxanthine composition and consumption patterns of cocoa and chocolate products in Gene A. Spiller Caffeine, CRC Press, 1998, p. 171.
3. ESSAYAN DM. Cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 671-680.
4. BARNES PJ. Theophylline: new perspectives for an old drug. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167: 813-818.
5. SODERLING SH, BEAVO JA. Regulation of cAMP and cGMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Curr Opin Cell Biol.* 2000; 12: 174-179.
6. TORPHY TJ, UNDEM BJ, CIESLINSKI LB, LUTTMANN MA, REEVES ML, HAY DW. Identification, characterization and functional role of phosphodiesterase isozymes in human airway smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993; 265: 1213-1223.
7. FEOKTISTOV I, POLOSA R, HOLGATE ST, BIAGGIONI I. Adenosine A2B receptors: a novel therapeutic target in asthma? *Trends Pharmacol Sci* 1998; 19: 148-153.
8. UNDEM JB, LICHENSTEIN LM. Drugs used in the treatment of Asthma. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A (Ed.). *The pharmacological basis of therapeutics.* 10. Ed. New York: mcgraw-Hill; 2001; p. 733-54.
9. Respiratory system. In: *British National Formulary.* 45. ed. London: Pharmaceutical Press; 2003. p. 131-165.
10. SESSLER CN. Theophylline toxicity: clinical features of 116 consecutive cases. *Am J Med.* 1990 Jun; 88(6): 567-576.
11. BERTINO JS, WALKER JW. Reassessment of Theophylline toxicity serum concentrations, clinical course, and treatment. *Arch Intern Med.* 1987; 147: 757-760.
12. WEINBERGER M, BRONSKY E, BENSCH GW, BOCK GN, YECIES JJ. Interaction of ephedrine and theophylline. *Clin Pharmacol Ther.* 1975; 17: 585-592.
13. UPTON R. Pharmacokinetic Interactions Between Theophylline and Other Medication (Part I). *Clinical Pharmacokinetics.* 1991; 20: 66-80.
14. MORIMOTO T, KOTEGAWA T, TSUTSUMI K, OHTANI Y, IMAI H, NAKANO S. Effect of St. John's wort on the pharmacokinetics of theophylline in healthy volunteers *J Clin Pharmacol.* 2004; 44: 95-101.
15. SCHATZ M, ZEIGER R.S, HARDEN KM, HOFFMAN CC, CHILINGAR L, PETITTI D. The safety of asthma and allergy medications during pregnancy *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 100: 301-306.
16. COOK CE, TALLENT CR, AMERSON EW, MYERS MW, KEPLER JA, TAYLOR GF, CHRISTENSEN HD. Caffeine in plasma and saliva by a radioimmunoassay procedure. *J Pharmacol Exp Ther.* 1976; 199: 679-686.
17. FENSKE, M. Caffeine Determination in Human Saliva and Urine by TLC and Ultraviolet Absorption Densitometry. *Chromatographia* 2007; 65: 233-238.
18. KUMAZAWA, H. SENO, X. LEE, AND A. ISHII. Extraction of methylxanthines from human body fluids by SPME. *Anal Chim Acta.* 1999; 387: 53-60.
19. HIEDA Y, KASHIMURA S, HARA K, KAGEURA M. Highly sensitive and rapid determination of theophylline, theobromine and caffeine in human plasma and urine by gradient capillary high-performance liquid chromatography-frit-fast atom bombardment mass spectrometry. *J Chromatogr B.* 1995; 667: 241-246.
20. PTOLEMY A S, TZIOMIS E, THOMKE A, RIFAI S, KELLOGG M. Quantification of theobromine and caffeine in saliva, plasma and urine via liquid chromatography-tandem mass spectrometry: A single analytical protocol applicable to cocoa intervention studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2010; 878: 409-416.

6.4 Teobromina

La teobromina è un alcaloide naturale presente nelle piante di cacao (0,36-0,70 mg/g) e in piccole quantità nelle foglie di tè (0,65-0,71 mg/g)^(2,3). Chimicamente la sostanza è una 3,7-dimetilxantina con azione vasodilatatrice periferica, broncodilatatrice, diuretica e miocardio-stimolante ed è pertanto usata nel passato per via orale nella terapia dell'asma bronchiale, nell'edema polmonare e nell'arteriosclerosi. Non più di utilizzo in quanto sono disponibili oggi farmaci più efficaci.

Formola chimica e proprietà chimico fisiche del principio attivo⁽¹⁾



Nome: teobromina.

Formola Molecolare: C₇H₈N₄O₂ (peso molecolare = 180,1).

Nome sistematico: 3,7-diidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-dione.

Numero di registro CAS: 83-67-0.

Punto di fusione: 350°C.

UVmax: 274 nm.

Solubilità: soluzione acquose alcalinizzate; parzialmente solubile in etanolo e cloroformio.

Legislazione

In Italia la teobromina non è soggetta a nessun tipo di restrizione legale.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Sebbene la teobromina è la metilxantina maggiormente presente nel cacao, gli studi relativi alle proprietà farmacotossicologiche sono relativamente pochi rispetto a quelli relativi alla caffeina.

La teobromina viene generalmente indicata come vasodilatatore e broncodilatatore, con effetti quindi sul sistema circolatorio e respiratorio⁽⁴⁾. Tuttavia pochi sono gli studi pubblicati che riguardano gli effetti della teobromina sul sistema cardiovascolare; l'attività cardiostimolante della teobromina somministrata con dosaggio di 300-600 mg ha mostrato effetto dilatatore sulle arterie coronariche⁽⁵⁾. Il trattamento per tre settimane con 979 mg di teobromina può determinare un abbassamento della pressione sistolica e un aumento della frequenza cardiaca⁽⁶⁾.

Per quanto riguarda i suoi effetti sull'apparato respiratorio, è stato dimostrato che la teobromina migliora la broncodilatazione nei soggetti asmatici⁽⁷⁾, e maggiormente se somministrata insieme alla caffeina e alla teofillina⁽⁸⁾. Sembra inoltre che la somministrazione di teobromina abbia un effetto regolatorio sull'attività del nervo vago determinando un effetto antitussivo simile a quello della codeina ma senza gli effetti collaterali di quest'ultima⁽⁹⁾.

Tossicità

Dati relativi alla tossicità acuta della teobromina

Nell'uomo- TDL dopo somministrazione orale: 26 mg/kg

Effetti avversi

A dosi elevate la teobromina può causare irrequietezza, tremori, ansietà, azione, aritmie, perdita di appetito, nausea e vomito⁽¹⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Si consiglia di prestare attenzione ad un uso concomitante di teobromina con alcuni inibitori delle monoamino-assidasi⁽¹¹⁾, benzodiazepine⁽¹²⁾ poiché la teobromina potrebbe antagonizzarne gli effetti sedativi, come al contrario l'uso concomitante

di barbiturici potrebbe incrementare il metabolismo di questa e altre xantine⁽¹³⁾. Inoltre, le metilxantine bloccando in maniera competitiva gli effetti dell'adenosina, possono causare falsi positivi alla scintigrafia con dipiridamolo o tallio 201. Per tale ragione si raccomanda ai pazienti che devono effettuare tale indagine di evitare l'assunzione di prodotti contenenti caffeina, teofillina o teobromina nelle 24 ore precedenti all'esecuzione del test⁽¹⁴⁾.

Effetti in gravidanza

Durante la gravidanza il metabolismo della teobromina e delle xantine in generale subisce delle alterazioni che possono portare ad un aumento delle concentrazioni di tali sostanze nei liquidi biologici materni. Poiché la teobromina, come anche la caffeina, attraversa la placenta, tale passaggio potrebbe causare problemi a livello fetale⁽¹⁵⁾.

Determinazioni Analitiche

La letteratura scientifica riporta numerose metodologie per la determinazione della teobromina e delle altre due xantine nei liquidi biologici di consumatori di metilxantine; queste metodologie includono saggi immunochimici⁽¹⁶⁾, cromatografia su strato sottile⁽¹⁷⁾, gas cromatografia⁽¹⁸⁾ e cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa^(19,20).

Per quanto riguarda la determinazione analitica della teobromina nei liquidi biologici di assuntori di cacao o altri prodotti contenenti l'alcaloide si rimanda alla monografia della teofillina⁽²⁰⁾.

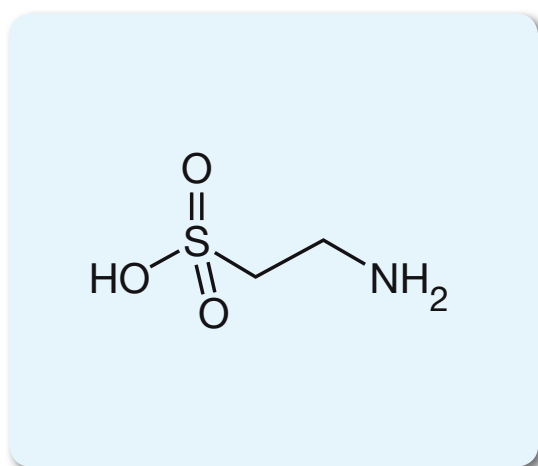
Bibliografia

1. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+7332>
2. RAMLI N, RAHMAN S, HASSAN O, MOHD YATIM A, SAID M, LIM L, NG W. Caffeine and theobromine levels in chocolate couverture and coating products. *Malays J Nutr.* 2000; 6: 55-63.
3. HICKS M, HSIEH P, BELL L N. Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food Res Int.* 1996 ; 29: 325-330.
4. REGES DE SENAA, APARECIDA DE ASSIS S, BRANCO A. Analysis of theobromine and related compounds by reversed phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection: an update (1992-2011). *Food Technol Biotechnol.* 2011; 49: 413-423.
5. MOFFAT AC. Clarke's isolation and identification of drugs Fourth Edition 2011 The Pharmaceutical Press, London.
6. VAN DEN BOGAARD B, DRAIJER R, WESTERHOF BE, VAN DEN MEIRACKER AH, VAN MONTFRANS GA, VAN DEN BORN BJH. Effects on peripheral and central blood pressure of coca with natural or high dose theobromine: a randomized, double-blind crossover trial *Hypertension.* 2010; 56: 839-846.
7. SIMONS FER, BECKER AB, SIMONS KJ. The bronchodilator effect and pharmacokinetics of theobromine in young patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1985; 76: 703-707.
8. BECKER AB, SIMONS KJ, GILLESPIE CA. The bronchodilator effects and pharmacokinetics of caffeine in asthma. *N Engl J Med* 1984; 310: 743-746.
9. USMANI OS, BELVISI MG, PATEL HJ. Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough. *FASEB J.* 2005; 19: 231-233.
10. STAVRIC B Methylxanthines: Toxicity to humans. 3. Theobromine, paraxanthine and combined effect of methylxanthine. *Food Chem Toxicol* 1988; 26: 725-733.
11. Nardil® (phenelzine) package insert. New York, NY: Pfizer; 2003.
12. BONNET MH, ARAND DL. Caffeine use as a model of acute and chronic insomnia. *Sleep* 1992; 15: 526-536.
13. HANSTEN PD, HORN JR. Cytochrome P450 Enzymes and Drug Interactions, Table of Cytochrome P450 Substrates, Inhibitors, Inducers and P-glycoprotein, with Footnotes. In: *The Top 100 Drug Interactions - A guide to Patient Management.* 2007 Edition. Freeland, WA: H&H Publications; 2007: 159-175.
14. UNDERWOOD DA. Which medications should be held before a pharmacologic or exercise stress test? *Cleve Clin J Med.* 2002; 69: 449-450.
15. ÁDÉN U. Methylxanthines During Pregnancy and Early Postnatal Life. *Handb Expl Pharmacol.* 2011; 200:373-389.
16. COOK CE, TALLENT CR, AMERSON EW, MYERS MW, KEPLER JA, TAYLOR GF, CHRISTENSEN HD. Caffeine in plasma and saliva by a radioimmunoassay procedure. *J Pharmacol Exp Ther.* 1976; 199: 679-686.
17. FENSKE, M. Caffeine determination in human saliva and urine by TLC and ultraviolet absorption densitometry. *Chromatographia* 2007; 65: 233-238.
18. KUMAZAWA, H. SENO, X. LEE, AND A. ISHII. Extraction of methylxanthines from human body fluids by SPME. *Anal Chim Acta.* 1999; 387: 53-60.
19. HIEDA Y, KASHIMURA S, HARA K, KAGEURA M. Highly sensitive and rapid determination of theophylline, theobromine and caffeine in human plasma and urine by gradient capillary high-performance liquid chromatography-frit-fast atom bombardment mass spectrometry. *J Chromatogr B.* 1995; 667: 241-246.
20. PTOLEMY AS, TZIOUMIS E, THOMKE A, RIFAI S, KELLOGG M. Quantification of theobromine and caffeine in saliva, plasma and urine via liquid chromatography-tandem mass spectrometry: A single analytical protocol applicable to cocoa intervention studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2010; 878: 409-416.

6.5 Taurina

La taurina è β -sulfio aminoacido che viene aggiunto in molti integratori e bevande energizzanti. Si differenzia dai venti α -aminoacidi che costituiscono le proteine per la presenza del gruppo funzionale acido solfonico (SO₃H) in sostituzione del gruppo carbossilico (COOH). La formazione di taurina nei mammiferi avviene nel fegato attraverso l'ossidazione del gruppo sulfidrilico dell'aminoacido cisteina, ossidato a cisteina-acido solfinico dall'enzima cisteina diossigenasi. La cisteina-acido solfinico viene quindi decarbossilata dalla cisteina-acido solfinico decarbossilasi per formare ipotaurina ossidata infine a taurina. La taurina svolge un ruolo fondamentale nella sintesi degli acidi biliari prodotti nel fegato ed incorporati nella bile essenziali per l'eliminazione del colesterolo, per la digestione dei grassi e per l'assorbimento delle vitamine liposolubili⁽²⁾. La taurina è inoltre presente in grandi quantità nel cervello, nella retina, nel miocardio, nel muscolo scheletrico, nelle piastrine e nei neutrofilo^(3,4).

Formula chimica e proprietà chimico fisiche del principio attivo⁽¹⁾



Nome: taurina.

Formula Molecolare: C₂H₇NO₃S (peso molecolare 125,1).

Nome sistematico: acido 2-aminoetansulfonico.

Numero di registro CAS: 107-35-7.

Punto di fusione: 328°C.

UVmax: 260 - 340 nm se derivatizzata con o-ftalaldeide;

360 nm se derivatizzata con 2,4-Dinitrofluorobenzene;

570 nm se derivatizzata con ninidrina.

Solubilità: acqua.

Legislazione

Nel Regolamento CE n. 953/2009, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. 269/9 del 14/10/2009, la taurina è inserita nell'elenco delle sostanze che possono essere aggiunte per scopi nutrizionali specifici ai prodotti destinati ad una alimentazione particolare⁽⁵⁾.

In Italia il Ministero della Salute attraverso l'elenco: "Altri nutrienti e altre sostanze ad effetto nutritivo o fisiologico", aggiornato al 2 luglio 2012 e consultabile presso il sito del Ministero della Salute⁽⁶⁾ stabilisce che gli aminoacidi contemplati nel Regolamento CE n. 953/2009 sono impiegabili anche negli integratori alimentari stabilendo per alcune sostanze un apporto massimo giornaliero. Tale valore per la taurina è di 1000 mg.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Particolarmente concentrata a livello del muscolo scheletrico, cardiaco e cerebrale, questa molecola osmoticamente attiva rientra innanzitutto nella regolazione del volume cellulare e nella sintesi di alcuni sali biliari, particolarmente efficaci nell'azione emulsionante. Tuttavia la taurina ha trovato anche altre applicazioni nel trattamento dell'epilessia e dei disturbi della sfera psichica, dove ha dimostrato un effetto sedante simile a quello del neurotrasmissore inibitorio GABA; altrettanto utile si è dimostrata nella regolazione della difesa immunitaria e nella prevenzione di alcuni disordini metabolici come il diabete e le patologie cardiovascolari^(7,8).

Dopo l'assunzione, la taurina viene assorbita dall'intestino tenue per mezzo di un particolare sistema di trasporto sodio e cloruro dipendente localizzato sulla membrana apicale delle cellule della mucosa intestinale. Successivamente viene trasportata al fegato tramite la circolazione portale dove forma complessi con gli acidi biliari. La taurina non coniugata

nel fegato viene distribuita tramite la circolazione sistemica nei diversi tessuti dell'organismo mentre la frazione non completamente riassorbita dai reni viene eliminata nelle urine⁽⁹⁾. Infine, la taurina mostra attività di agonista indiretto sul sistema GABAergico, inibendo l'attività dell'enzima GABA-transaminasi, responsabile del metabolismo del GABA a livello sinaptico⁽¹⁰⁾. La taurina può essere utilizzata come aiuto ergogenico nell'ambito sportivo. Essa sembra avere un'azione insulino-simile, attenuando la glicemia in risposta all'assunzione di glucosio e migliorando il trasporto del glucosio e di alcuni aminoacidi all'interno delle cellule muscolari promuovendo in questo modo una maggiore sintesi proteica muscolare e l'inibizione del catabolismo proteico- muscolare⁽¹¹⁾.

Tossicità

Secondo il parere scientifico espresso dalla Authority Europea per la sicurezza alimentare (European Food Safety Authority) nel 2009 gli studi tossicologici fino ad allora noti sulla taurina non contenevano alcuna indicazione di un potenziale genotossico, teratogeno o cancerogeno. In particolar modo il “No Observed Adverse Effect Level”, traducibile in italiano come “dose senza effetto avverso osservabile” ottenuto in un studio di 13 settimane sulla neurotossicità orale condotto su ratti di entrambi i sessi confermava la dose senza effetti osservabili ottenuta in un precedente studio del 2003, pari a 1000 mg di taurina/kg die⁽¹²⁾. Inoltre poiché la taurina è un costituente naturale dell'organismo, il gruppo di esperti scientifici ha concluso che tali margini di sicurezza sono sufficientemente ampi per concludere che l'esposizione alla taurina ai livelli indicati sopra non suscita preoccupazioni per la salute.

In Tabella 1 sono riportati i dati relativi alla tossicità acuta della taurina in modello animale.

Tabella 1. Valori di tossicità acuta della taurina

| Specie | Modalità di somministrazione | DL50 |
|-----------|------------------------------|-------------|
| Cane | Intravenosa | 2000 mg/kg |
| Mammiferi | Orale | 10000 mg/kg |
| Topo | Intramuscolare | 7000 mg/kg |
| | Intravenosa | 7000 mg/kg |
| | Orale | 7000 mg/kg |

DL50 = dose letale per il 50% degli animali testati

Effetti avversi

Anche se l'uso di taurina è considerato generalmente sicuro sia per adulti che per bambini, un sovradosaggio di tale sostanza potrebbe causare effetti collaterali anche gravi di natura gastrointestinale⁽¹³⁾.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate possibili interazioni farmacologiche.

Effetti in gravidanza

L'uso è sconsigliato in gravidanza ed allattamento⁽¹⁴⁾.

Determinazioni Analitiche

In letteratura sono riportate diverse metodologie per la determinazione della taurina sia in prodotti alimentari sia in campioni biologici. Questi metodi includono la spettroscopia con risonanza magnetica nucleare⁽¹⁵⁾, la cromatografia liquida con rivelatore di fluorescenza dopo la derivatizzazione con o-ftalaldeide⁽¹⁶⁾ e fluoescamina⁽¹⁷⁾. Esistono metodologie analitiche per la determinazione della taurina sia in fluidi biologici di consumatori di prodotti che la contengono^(18,19) che in energy drinks⁽²⁰⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della taurina nelle urine ⁽¹⁹⁾

Estrazione del campione

Il campione di urina viene diluito 10 volte, filtrato con un filtro a membrana da 20 µm, addizionato con 20 µl di glutamina (6 ppm) come standard interno e 1460 µl di una miscela acquosa contenente 0.2% di acido formico. Una aliquota di 10 µl di questa soluzione viene iniettata nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Phenomenex Phenyl-Hexyl (3.0 x 150 mm x 3.0 µm)

Fase mobile A: 0.2% Acido formico in acqua

Fase mobile B: 0.2% Acido formico in alcol metilico

Modalità di separazione: isocratica- 60% di fase mobile A e 40% di fase mobile B

Flusso: 250 µl/min

Energia di collisione: 17 V

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

l-glutamina (standard interno): 2,5 min

taurina: 3,0 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

l-glutamina (standard interno): m/z 138 → 130

taurina: m/z 126 → 108

Standard

Lo standard di taurina è stato acquistato presso la Sigma Aldrich (Milano, Italia). Per quanto riguarda lo standard di l-glutamina è reperibile presso Cambridge isotope Laboratories (Andover, MA, USA).

Curva di calibrazione

Non viene descritta la creazione della curva di calibrazione.

Risultati

Le analisi della taurina con la metodologia sopra riportata ha evidenziato una quantità di principio attivo nelle urine variabile tra 0,047 e 8,898 nmol.

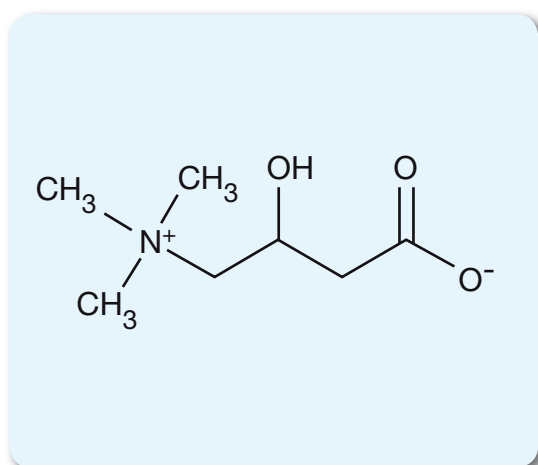
Bibliografia

1. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+8167>
2. JUNYENT F, DE LEMOS L, UTRERA J, PACO S, AGUADO F, CAMINS A, PALLÀS M, ROMERO R, AULADELL C. Content and traffic of taurine in hippocampal reactive astrocytes. *Hippocampus* 2011; 21: 185-197.
3. ITO K, ARKO M, KAWAGUCHI T, KUWAHARA M, TSUBONE H. The effect of subacute supplementation of taurine on spatial learning and memory. *Exp Anim* 2009; 58: 175-180.
4. HENDLER SS, RORVIK D. PDR for Nutritional Supplements Nuova Edizione Italiana 2010.
5. Regolamento CE n. 953/2009, Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. 269/9 del 14/10/2009.
6. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_4_file.pdf
7. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food on a request from the Commission on the use of taurine and D-glucurono- γ -lactone as constituents of the so-called "energy" drinks. *The EFSA Journal* 2009; 935: 1-31.
8. RIPPS H, SHEN W. Review: taurine: a "very essential" amino acid. *Mol Vis.* 2012; 18: 2673-2686.
9. GHANDFOROUSH-SATTARI M, MASHAYEKHI S, KRISHNA CV, THOMPSON JP, ROUTLEDGE PA. Pharmacokinetics of oral taurine in healthy volunteers. *J Amino Acids.* 2010; 2010: 1-5.
10. ABRAHAM JH, SCHOUSBOE A. A GABA-agonist like effect of taurine on the formation of low affinity GABA receptors on cultured cerebellar granule cells. *Prog Clin Biol Res.* 1990; 351: 77-81.
11. KULAKOWSKI EC, MATURO J. Hypoglycemic properties of taurine: not mediated by enhanced insulin release. *Biochem Pharmacol.* 1984; 33: 2835-2838.
12. *The EFSA Journal* 2009; 935: 2-4. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/s935.pdf>
13. Possible Side Effects of Taurine Supplementation
Possible symptoms of toxicity from taurine supplementation include diarrhea. <http://drlwilson.com/Articles/TAURINE.HTM>
14. GUILBEAU JR. Health Risks of Energy Drinks Nursing for Women's Health Volume 2012; 16: 423-428.
15. MUSIO R, SCIACOVELLI OJ. Detection of taurine in Biological Tissues by 33S NMR Spectroscopy. *Magn Reson* 2001; 153: 259-261.
16. PASQUALONE A, CAPONIO F, ALLOGGIO V, GOMES T. Content of taurine in Apulia Cacioricotta goat cheese. *Eur Food Res Technol* 2000; 211: 158-160.
17. MCMAHON GP, O'KENNEDY R, KELLY MT J. High-performance liquid chromatographic determination of taurine in human plasma using pre-column extraction and derivatization. *J Pharm Biomed Anal.* 1996; 14: 1287-1294.
18. INOUE H, FUKUNAGA K, TSURUTA Y. Determination of taurine in plasma by high-performance liquid chromatography using 4-(5,6-dimethoxy-2-phtalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride as a fluorescent labeling reagent. *Anal Biochem.* 2003; 319: 138-142.
19. SANJEEWA G, HONGLAN S, YINFA M. Quantitative determination of taurine and related biomarkers in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2012; 402: 763-770.
20. SAWABE Y, TAGAMI T, YAMASAKY K. Determination of Taurine in Energy Drinks by HPLC using a Pre-column derivate. *J Health Sci.* 2008; 54: 661-664.

6.6 Carnitina

La carnitina è un acido carbossilico a catena corta, identificato per la prima volta nel 1905 da W. Gulewitsch e R. Krimberg nell'estratto di carne bovina, da cui il nome. È una metilammina con una struttura simile a quella di un aminoacido, a cui spesso viene assimilata sebbene essa non partecipi alla biosintesi delle proteine. L'organismo umano sintetizza la carnitina partendo dai due aminoacidi lisina e metionina. Gli organi maggiormente coinvolti nella biosintesi di carnitina e nel suo utilizzo sono i muscoli dove la sostanza funge da trasportatore degli acidi grassi all'interno dei mitocondri per la produzione di adenosina trifosfato. Per tale motivo la carnitina viene spesso utilizzata come integratore alimentare, con lo scopo di aumentare l'ossidazione delle riserve adipose a scopo energetico e/o dimagrante. La forma biologicamente attiva e generalmente utilizzata come integratore alimentare della molecola è la carnitina.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche del principio attivo ⁽¹⁾



Nome: carnitina.

Formula Molecolare: C₇H₁₅NO₃ (peso molecolare = 161,0).

Nome sistematico: (1)-(3-carbossi-2-idrossipropil) trimetilammonio idrossido.

Numero di registro CAS: 406-76-8.

Punto di fusione: 190-195°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua.

Legislazione

In Italia la carnitina è inserita tra le sostanze che possono essere aggiunte per scopi nutrizionali ai prodotti alimentari ⁽²⁾. Inoltre il Ministero della Salute con una Nota Informativa ha definito il quantitativo massimo giornaliero di carnitina ammissibile negli integratori alimentari pari a 1000 mg per la sua plausibile attività fisiologica ⁽³⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

La carnitina modula il rapporto tra le concentrazioni mitocondriali di acilCoenzimaA/Coenzima A. Il mancato accumulo dell'acilCoenzima A mitocondriale porta ad un'azione cardioprotettiva ⁽⁴⁾. Grazie alla sua azione di mobilitazione degli acidi grassi, la carnitina può diminuire i livelli di trigliceridi e nel contempo incrementare quelli del colesterolo-HDL in individui con ipertrigliceridemia e ipercolesterolemia ^(5,6). La sostanza può anche essere utile nel trattamento di deficit colinergici legati all'età, come ad esempio quelli che caratterizzano le manifestazioni di demenza includendo il morbo di Alzheimer ⁽⁷⁾. L'organismo assume dal 60 al 70% di carnitina attraverso la dieta. Tuttavia, la percentuale assorbita dopo assunzione orale di integratori alimentari risulta inferiore al 20% della dose somministrata ⁽⁸⁾.

In seguito ad una somministrazione orale di 1980 mg di carnitina due volte al giorno la concentrazione plasmatica massima è stata di 80 nmol/ml ed il tempo necessario perchè tale concentrazione si manifestasse (T_{max}) è stato di 3.3 ore ⁽⁹⁾.

Tossicità

Non sono segnalati in letteratura casi di tossicità nell'uomo.

In tabella 1 sono riportati i valori di tossicità acuta della carnitina in due specie animali ⁽¹⁾.

Tabella 1. Valori di tossicità acuta della carnitina in due specie animali

| Specie | Modalità di somministrazione | DL50 |
|--------|------------------------------|------------|
| Topo | Orale | 19,2 mg/kg |
| Ratto | Parenterale | 5,4 mg/kg |

DL50 = dose letale per il 50% degli animali testati

Effetti avversi

Per quanto riguarda gli effetti indesiderati sono stati riportati in letteratura casi di lievi disturbi gastrointestinali come nausea, vomito e crampi addominali dopo assunzione di carnitina⁽¹⁰⁾.

Interazioni farmacologiche

Una terapia concomitante con acido valproico, fenobarbital e carbamazepina è in grado di produrre carenze di carnitina in età pediatrica⁽¹¹⁾. Anche l'uso di antibiotici contenenti acido pivalico, come pivampicillina, pivmecillinam e pivcefalexima può causare una carenza della sostanza nell'organismo⁽¹²⁾.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono descritti in letteratura metodi analitici per la determinazione della carnitina in campioni biologici, alimenti ed integratori alimentari mediante metodologie separative cromatografiche associate a metodi spettrofotometrici, fluorimetrici, metodi elettroforetici e alla spettrometria di massa tandem^(13,14).

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione della carnitina ed acetilcarnitina nelle urine⁽¹⁴⁾

Estrazione del campione

A 200 µl di urina si aggiungono 50 µl di standard interno (carnitina d₃) e 50 µl di acido cloridrico 1M; il campione viene portato ad 1 ml aggiungendo acqua e viene successivamente estratto in fase solida mediante l'utilizzo di colonnine per estrazione a scambio cationico. La colonnina viene condizionata inizialmente con alcol metilico, acqua ed acido cloridrico 10 mM; successivamente viene caricato il campione e la colonnina viene lavata con 3 ml di acido cloridrico 10 mM. Il campione viene poi eluito con una soluzione di piridina (75 mM) in alcol metilico-acqua (1:1, v/v). L'eluato viene quindi portato a secco ed il residuo secco viene risospeso in alcol metilico ed evaporato nuovamente. Il residuo secco viene quindi risospeso in 200 µl di una soluzione costituita da alcol metilico-acqua (1:1, v/v) contenente acido eptafluorobutirrico 10 mM e ammonioacetato 10 mM. 10 µl vengono iniettati nel cromatografo liquido.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Luna C8 (150 mm x 2.0 mm x 5 µm)

Pre-colonna: MOS C8

Fase mobile A: acqua-ammonio acetato 10 mM- acido eptafluorobutirrico 10 mM

Fase mobile B: alcol metilico

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile B: 20% tra 0-0,1 minuti; dal 20 al 90% tra 0,1-4,0 minuti; mantenuto al 90% tra 4,0-14,0 minuti; dal 90% al 20% tra 14,0-24,0 minuti)

Flusso: 200 μ l/min

Volume di iniezione: 2 μ l

Energia di collisione: non sono riportati valori relativi all'energia di collisione

Temperatura della sorgente: 300°C

Voltaggio del capillare: non sono riportati dati relativi al voltaggio del capillare

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

carnitina: 4,1 min

acetilcarnitina: 6,0 min

Transizioni caratteristiche delle sostanze ricercate

carnitina: m/z 162,2 \rightarrow 103,6

acetilcarnitina: m/z 204,2 \rightarrow 144,9

Standard

Gli standard di carnitina e acetilcarnitina utilizzati per le analisi si possono acquistare presso la ditta Sigma (St. Louis, MO, USA).

Curva di calibrazione

Le soluzioni standard di carnitina e acetilcarnitina (range di concentrazione: 5-20 nM) sono preparate in alcol metilico. Le soluzioni di calibrazione (range di concentrazione: 80-800 μ mol/l) sono preparate giornalmente diluendo le soluzioni standard con alcol metilico.

Risultati

L'analisi è stata eseguita su matrice urinaria di soggetti volontari e pazienti ospedalizzati per aciduria. I campioni di urine analizzate hanno mostrato concentrazioni di carnitina tra i 20 ed i 50 μ mol/l.

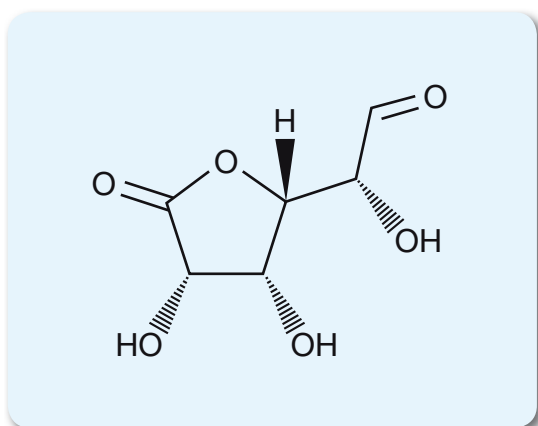
Bibliografia

1. Toxnet: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/jsp/common/Toxicity.jsp?calledFrom=lite>
2. Regolamento CE n. 953/2009 del 13 ottobre 2009 G.U. Unione Europea 14/10/2009.
3. DGSAN 0015732-P, <http://www.salute.gov.it>
4. FERRARI R, MERLI E, CICCHITELLI G, MELE D, FUCILI A, CECONI C. Therapeutic Effects of L-Carnitine and Propionyl-L-carnitine on cardiovascular diseases: A Review Ann NY Acad Sci. 2004; 1033: 79-91.
5. SIRTORI CR, CALABRESI L, FERRARA S, PAZZUCCONI F, BONDIOLI A, BALDASSARRE D, BIRRECI A, KOVERECH A. L-carnitine reduces plasma lipoprotein(a) levels in patients with hyper Lp(a). Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases 2000; 10: 247-251.
6. GULCIN I. Antioxidant and antiradical activities of l-carnitine, Life Sciences 2006; 78: 803-811.
7. PETTEGREW J W, LEVINE J, McCLURE R J Acetyl-L-carnitine physical-chemical, metabolic, and therapeutic properties: relevance for its mode of action in Alzheimer's disease and geriatric depression. Mol Psychiatry. 2000; 5: 616-632.
8. REBOUCHE C J. Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism. Ann NY Acad Sci. 2004, 1033: 30-41.
9. EVANS A M, FORNASINI G Pharmacokinetics of L-Carnitine. Clin Pharmacokinet. 2003; 42: 941-967.
10. KELLY G S. L-Carnitine: Therapeutic applications of a conditionally-essential amino acid. Altern Med Rev. 1998; 3: 345-360.
11. HUG G, MCGRAW CA, BATES SR, LANDRIGAN EA. Reduction of serum carnitine concentrations during anticonvulsant therapy with phenobarbital, valproic acid, phenytoin, and carbamazepine in children. J Pediatr. 1991; 119: 799-802.
12. MELEGH B, PAP M, MOLNAR D. Carnitine administration ameliorates the changes in energy metabolism caused by short-term pivampicillin medication. Eur J Pediatr. 1997; 156: 795-799.
13. DABROWSKA M, STAREK M. Analytical approaches to determination of carnitine in biological materials, foods and dietary supplements. Food Chem. 2014; 142: 220-232.
14. VERNEZ L, HOPFGARTNER G, WENK M, KRAHENBUHL S. Determination of carnitine and acylcarnitines in urine by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization ion trap tandem mass spectrometry. J Chromat A. 2003; 984: 203-213.

6.7 Glucuronolattone

Il glucuronolattone è un carboidrato presente naturalmente nell'uomo, prodotto dal metabolismo del glucosio nel fegato. A pH fisiologico si trova in equilibrio con l'acido glucuronico. È un'importante componente strutturale dei tessuti connettivi, in quanto prende parte alla formazione del glicogeno. Negli animali in grado di sintetizzare acido ascorbico (vitamina C) il glucuronolattone ne è un precursore di biosintesi; questo non accade nell'uomo, che deve introdurre acido ascorbico con l'alimentazione⁽¹⁻³⁾. È presente in modiche quantità in alcuni alimenti (il vino rosso con i suoi 20 mg/l, sembra la fonte più generosa)⁽⁴⁾, ma è stato reso celebre da bevande di recente introduzione comunemente conosciute come "energy drinks" (bevande energetiche). La presenza di questo carboidrato in tali bevande è da attribuire al supposto effetto "ergogenico" che la sostanza avrebbe nell'esercizio fisico prolungato⁽⁵⁾. Nell'uomo il glucuronolattone somministrato oralmente viene rapidamente assorbito, metabolizzato ed escreto come acido glucarico, xilitolo e L-xilulosio⁽⁶⁾.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche del principio attivo⁽¹⁾



Nome: glucuronolattone.

Formula Molecolare: $C_6H_8O_6$ (peso molecolare = 176,1).

Nome sistematico: 2R)-2-[(2S,3R,4S)-3,4-diidrossi-5-osso-tetraidrofuran-2-il]-2-idrossi-acetaldeide.

Numero di registro CAS: 32449-92-6.

Punto di fusione: 176-178°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua, alcol metilico, alcol etilico, acido acetico.

Legislazione

L'Authority Europea per la sicurezza alimentare (European Food Safety Authority, EFSA) ha emanato un parere relativo alla sicurezza del glucuronolattone in seguito alla presenza di questa sostanza nelle bevande energetiche, concludendo che l'esposizione al glucuronolattone attraverso un consumo abituale a livello sia medio che alto di bevande energetiche non desta preoccupazioni dal punto di vista della sicurezza⁽⁷⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Al glucuronolattone vengono ascritte proprietà detossificanti⁽⁸⁾, utili per coadiuvare l'inattivazione epatica di farmaci e sostanze endogene potenzialmente nocive (i.e. bilirubina). In effetti il glucuronolattone partecipa al processo detossificante di glucurono-coniugazione epatica. Scopo di tale processo è l'aggiunta alla sostanza (xenobiotico, farmaco, tossina, ecc.) da inattivare, di una molecola dalle dimensioni steriche nettamente maggiori, capace di rendere il composto altamente idrofilo, farmacologicamente inattivo e facilmente eliminabile dall'organismo.

Sebbene non ci siano evidenze sperimentali dirette dell'azione del glucuronolattone sulla performance fisica, un primo studio del 1968 su modello animale ha dimostrato che ratti trattati con glucuronolattone o altri carboidrati complessi per via iniettiva miglioravano le prestazioni nel nuoto⁽⁹⁾. Risultati simili sono stati ottenuti in due studi su ciclisti a cui venivano somministrati carboidrati complessi prima di un esercizio fisico prolungato. La supplementazione con carboidrati, tra cui il glucuronolattone aveva un effetto ergogenico con differimento temporale significativo della sensazione di fatica^(10,11).

L'assunzione di glucuronolattone in associazione a caffeina e taurina, così come presente nelle bevande energetiche, sembra determinare nell'uomo un miglioramento nelle prestazioni fisiche (aerobiche ed anaerobiche) e mentali (migliore reattività, concentrazione e memoria)⁽¹²⁾.

Tossicità

Non sono disponibili studi tossicologici sul potenziale genotossico, teratogenico o carcinogenico del glucuronolattone; tuttavia tale sostanza è un normale metabolita del glucosio, rapidamente metabolizzato ed escreto nell'organismo umano. Il gruppo di esperti scientifici sugli additivi alimentari e sulle fonti di nutrienti aggiunte agli alimenti dell'EFSA ha rilevato nell'uomo per il glucuronolattone un livello senza effetti avversi osservabili (NOAEL, No Adverse Effects Level) pari a 1000 mg/kg di peso corporeo/giorno⁽⁷⁾.

Effetti avversi

Non sono riportati in letteratura dati relativi agli effetti avversi del glucuronolattone.

Interazioni farmacologiche

Non sono riportate interazioni farmacologiche del glucuronolattone.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso del glucuronolattone in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Nell'uomo il glucuronolattone può essere determinato nelle urine misurando la concentrazione del suo metabolita, l'acido glucarico attraverso delle metodologie immunoenzimatiche⁽¹³⁻¹⁵⁾.

È descritto un metodo analitico per la determinazione del glucuronolattone idrolizzato in ambiente basico a acido glucuronico in preparazioni farmaceutiche e in bevande energetiche mediante cromatografia liquida con rivelatore spettrofotometrico ad assorbimento di luce ultravioletta⁽¹⁶⁾.

L'analisi viene eseguita su preparazioni farmaceutiche e bevande energetiche mediante separazione per cromatografia liquida e identificazione con un rivelatore spettrofotometrico ad assorbimento di luce ultravioletta dell'acido glucuronico che deriva dalla idrolisi del glucuronolattone, derivatizzato con 1-fenil-3-metil-5-pirazolo per formare un composto che dà il massimo assorbimento a 245 nm.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi del glucuronolattone in preparati farmaceutici e bevande energetiche⁽¹⁶⁾

Estrazione del campione

Compresse

Le compresse accuratamente pesate vengono sciolte in 200 ml di acqua e poste in un bagno ad ultrasuoni. Successivamente la soluzione viene portata ad un volume finale di 1000 ml.

Bevande

5 ml di ciascuna bevanda vengono diluiti fino ad un volume finale di 100 ml con acqua.

A 50 µl di soluzione ottenuta sia dalle compresse sia dalle bevande vengono aggiunti 50 µl di una soluzione di standard interno D-galattosio. Una soluzione di idrossido di sodio 0,3 M viene addizionata alla miscela. Si aggiungono quindi 20 µl del derivatizzante 1-fenil-3-metil-5-pirazolo ed il campione viene incubato per 20 minuti a 70°C. Successivamente alla miscela vengono aggiunte le seguenti soluzioni: acido idrocloridrico 0,3 M (20 µl), acqua (100 µl) e cloroformio (200 µl). La miscela così ottenuta viene centrifugata, la fase organica viene eliminata e 20 µl della soluzione acquosa vengono iniettati nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Cosmosil 5C18AR (150 mm x 6 mm)

Fase mobile: Tampone fosfato 30 mM (pH7)/ acetonitrile (82:18 v/v)

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 1,0 ml/min

Volume di iniezione: 20 µl

Rivelatore: spettrofotometro ad assorbimento di luce ultravioletta (245 nm)

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

acido glucuronico: 11,0 min

galattosio (standard interno): 20,0 min

Standard

Gli standard di glucuronolattone ed acido glucuronico e il galattosio sono acquistabili presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione (range 1-10 mg/ml) vengono preparati aggiungendo quantità scalari di soluzioni standard (1 mg/ml) a campioni di controllo precedentemente testati per l'assenza di glucuronolattone.

Risultati

Le analisi effettuate hanno evidenziato la presenza di glucuronolattone (idrolizzato ad acido glucuronico) sia nelle compresse sia nelle bevande vitaminiche con concentrazioni di 1,03 g per confezione di 20 compresse e 1,0 g per 100 ml di bevanda energetica come riportato nelle rispettive etichette dei prodotti analizzati.

Bibliografia

1. Toxnet: <http://toxnet.nlm.nih.gov>
2. BAKER EM, BIERMAN EL, PLOUGH IC. Effect of D-glucuronic acid and D-glucuronolactone on ascorbic acid levels in blood and urine of man and dog. *Am J Clin Nutr.* 1960; 8: 369-373.
3. SMIRNOFF N. L-ascorbic acid biosynthesis. *Vitam Horm.* 2001; 61: 241-266.
4. DWIVEDI C, HECK WJ, DOWNIE AA, LARROYA S, WEBB TE. Effect of calcium glucarate on beta-glucuronidase activity and glucarate content of certain vegetables and fruits. *Biochem Med Metab Biol.* 1990; 43: 83-92.
5. GONZALEZ AM, WALSH AL, RATAMESS NA, KANG J, HOFFMAN JR. Effect of a pre-workout energy supplement on acute multi-joint resistance exercise. *J Sports Sci Med.* 2011; 10: 261-266.
6. MARSH CA. Metabolism of d-glucuronolactone in mammalian systems. 2. Conversion of d-glucuronolactone into d-glucaric acid by tissue preparations. *Biochem J.* 1963b; 87: 82-90.
7. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food on a request from the Commission on the use of taurine and D-glucurono-γ-lactone as constituents of the so-called "energy" drinks. *The EFSA Journal* 2009; 935: 1-31.
8. THE MERCK INDEX an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals 14th ed. Merck &Co NJ USA. 2006, p. 4467.
9. TAMURA S, TSUTSUMI S, ITO H, NAKAI K, MASUDA M. Effects of glucuronolactone and the other carbohydrates on the biochemical changes produced in the living body of rats by hard exercise. *Jpn J Pharmacol.* 1968; 18: 30-38.
10. COYLE EF, HAGBERG JM, HURLEY BF, MARTIN WH, EHSANI AA, HOLLOSZY JO. Carbohydrate feeding during prolonged strenuous exercise can delay fatigue. *J Appl Physiol.* 1983; 55: 230-235.
11. COYLE EF, COGGAN AR, HEMMERT MK, IVY JL. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol.* 1986; 61: 165-172.
12. ALFORD C, COX H, WESCOTT R. The effects of red bull energy drink on human performance and mood. *Amino Acids.* 2001; 21: 139-150.
13. JUNG K, SCHOLZ D, SCHREIBER G. Improved determination of D-glucaric acid in urine. *Clin Chem.* 1981; 27: 422-426.
14. POON R, VILLENEUVE DC, CHU I, KINACH R. HPLC Determination of D-glucaric acid in human urine. *J Anal Toxicol.* 1993; 17: 146-150.
15. APOSTOLI P, MANGILIA, CARASI S, MANNO M. Relationship between PCBs in blood and D-glucaric acid in urine. *Toxicol Lett.* 2003; 144: 17-26.
16. SUZUKI S, HAUASE S, NAKANO M, ODA Y, KAKEHI K. Analysis of glucuronolactone and glucuronic acid in drug formulation by high performance liquid chromatography. *J Chrom Sci.* 1998; 36: 357-363.

6.8 Vitamine del gruppo B

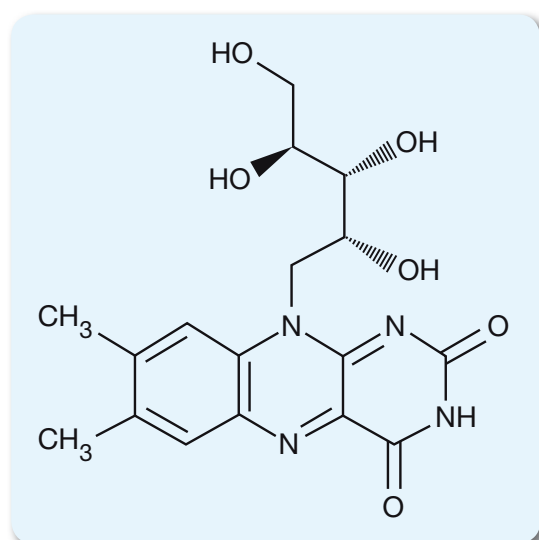
Le vitamine del gruppo B sono un gruppo di vitamine essenziali nell'uomo per il corretto funzionamento epatico e del sistema nervoso centrale, intervengono nella trasformazione dei carboidrati complessi in glucosio e nel metabolismo dei lipidi e delle proteine. Alcune di queste vitamine sono incluse come ingredienti degli energy drinks:

- La riboflavina o vitamina B2
- La niacina o vitamina B3
- La piridossina o vitamina B6
- La cianocobalamina o vitamina B12

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi ⁽¹⁾

Riboflavina o vitamina B2

La riboflavina, o vitamina B2, è una componente essenziale della nutrizione umana e gioca un ruolo chiave nella produzione di energia.



Nome: vitamina B2.

Formula Molecolare: $C_{17}H_{20}N_4O_6$ (peso molecolare = 376,3).

Nome sistematico: Riboflavina, 7,8-Dimetil-10-(D-ribo-2,3,4,5-tetraidrossipentil)isoallossazina.

Numero di registro CAS: 83-88-5.

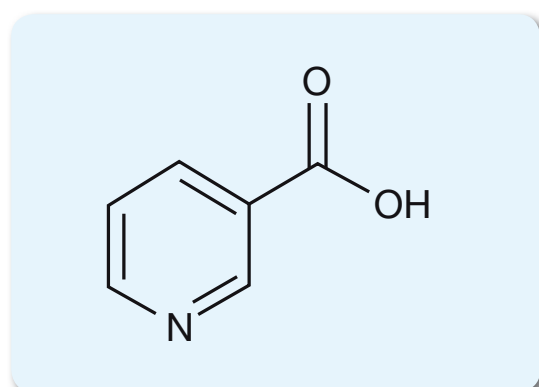
Punto di fusione: 280°C.

UVmax: in soluzione acquosa acida 267 nm; in soluzione acquosa alcalina 270 e 356 nm.

Solubilità: praticamente insolubile in acqua e in alcol; insolubile in etere, in cloroformio, in acetone e in benzene; poco solubile in soluzione fisiologica, in cicloesano, in acetato di amile, in alcol benzilico e in fenolo; molto solubile in alcali diluiti.

Niacina o vitamina B3

La vitamina B3 è nota anche con il nome di niacina o vitamina PP per la sua azione contro la pellagra (“pellagra preventive factor”), una malattia un tempo molto diffusa causata dalla sua carenza. È tra i componenti di due coenzimi (nicotinamide adenina dinucleotide - NAD e nicotinamide adenina dinucleotide fosfato - NADP) fondamentali nelle reazioni di ossidoriduzione che avvengono nel nostro metabolismo. La vitamina B3 è essenziale per il regolare funzionamento del sistema nervoso.



Nome: vitamina B3.

Formula Molecolare: $C_6H_5NO_2$ (peso molecolare = 123,1).

Nome sistematico: acido 3-piridincarbossilico.

Numero di registro CAS: 59-67-6.

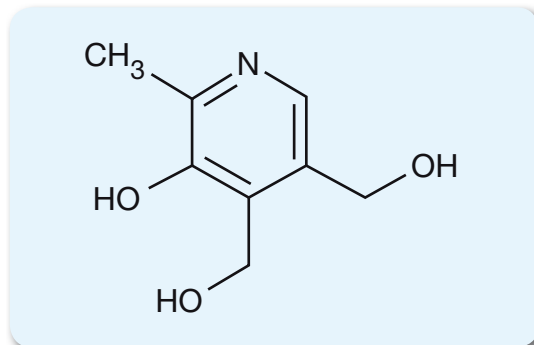
Punto di fusione: 237°C.

UVmax: 261 nm (acqua).

Solubilità: acqua.

Piridossina o vitamina B6

La piridossina, o vitamina B6, svolge un ruolo essenziale per il metabolismo degli amminoacidi. Una sua carenza prolungata può condurre ad anemia.



Nome: vitamina B6.

Formula Molecolare: $C_8H_{11}NO_3$ (peso molecolare = 169,1).

Nome sistematico: 5-idrossi-6-metil-3,4-piridindimetanolo.

Numero di registro CAS: 65-23-6.

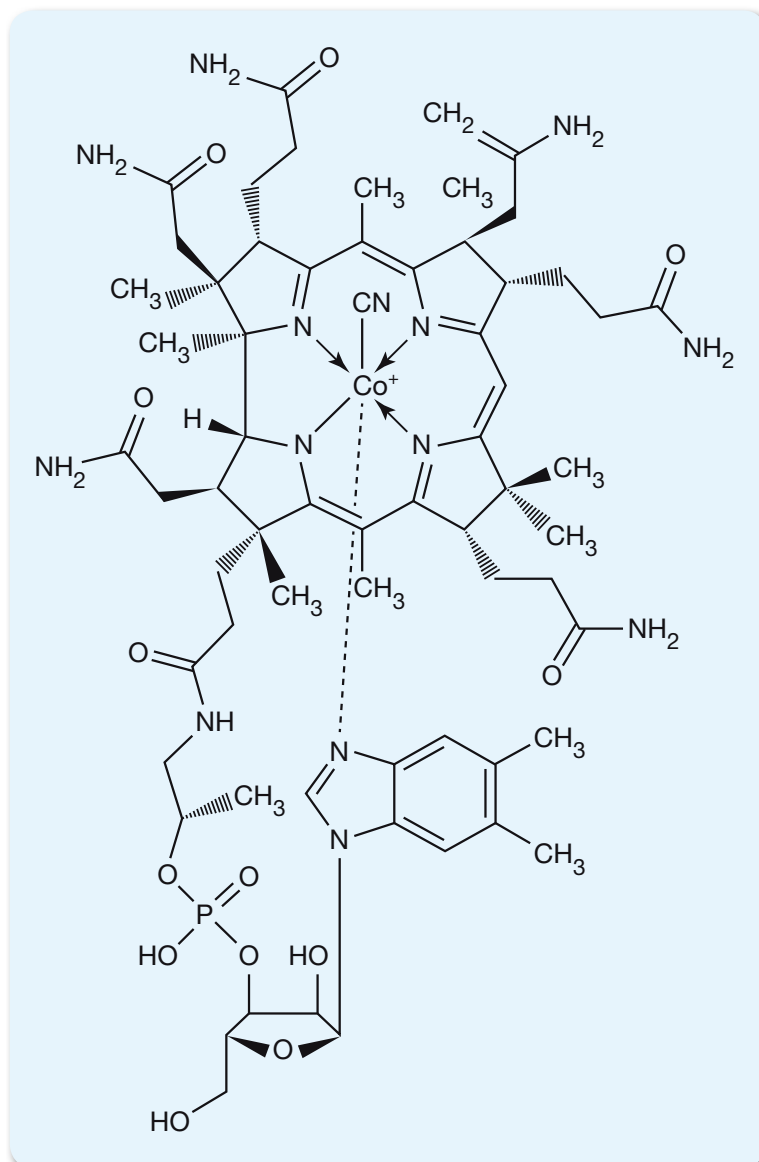
Punto di fusione: 156°-159°C.

UVmax: 290 nm (acqua); 254, 324 nm (tampone fosfato pH 6).

Solubilità: acqua.

Cianocobalamina o vitamina B12

La vitamina B12, o cianocobalamina, è una vitamina fondamentale nei processi di formazione dei globuli rossi e per le cellule del sistema nervoso. Insieme all'acido folico, coadiuva la sintesi del DNA e dell'RNA.



Nome: vitamina B12.

Formula Molecolare:

$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ (peso molecolare = 1355,4)

Nome sistematico:

α (5,6 dimetil benzoimidazolil)-ciano cobamide.

Numero di registro CAS: 68-19-9.

Punto di fusione: 300°C.

UVmax: 278, 361, 550 nm (acqua).

Solubilità: acqua.

Legislazione

In Italia le vitamine impiegabili come ingredienti negli integratori alimentari di cui alla direttiva 46/2002/CE⁽²⁾ e negli alimenti ai sensi del regolamento 1925/2006 CE⁽³⁾, sono elencate nel regolamento (CE) 1170/2009 del 30 novembre 2009⁽⁴⁾, che modifica la direttiva 46/2002/CE⁽²⁾ e il regolamento (CE) 1925/2006⁽³⁾. Inoltre il Ministero della Salute con nota n. 0021450-P-22/05/2013⁽⁵⁾ ha rivalutato gli apporti di vitamine e minerali ammessi negli integratori alimentari, alla luce delle nuove evidenze scientifiche. In tal senso, sono stati ridefiniti i seguenti livelli massimi di apporto giornaliero per:

- Riboflavina (vitamina B2) mg 25
- Niacina (vitamina B3) mg 36
- Piridossina (vitamina B6) mg 9,5
- Cianocobalamina (vitamina B12) mcg 25

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le vitamine del gruppo B sono indispensabili quali catalizzatori per diverse reazioni metaboliche, fondamentali per il corretto funzionamento degli organi più importanti dell'individuo (fegato, sistema nervoso, pelle, apparato intestinale, ecc.). Le vitamine del gruppo B sono inoltre coinvolte nell'attività delle cellule, agendo sia sul metabolismo proteico, glucidico e lipidico, sia nei processi di ossido-riduzione fondamentali per la produzione di energia. Sono inoltre essenziali per il mantenimento del tono muscolare nel tratto gastrointestinale e per la salute della pelle, dei capelli, degli occhi, della bocca e del fegato⁽⁶⁾.

Tossicità

Le vitamine del gruppo B presentano scarsa tossicità fatta eccezione per l'uso di elevati dosaggi di niacina o vitamina B3⁽⁷⁾.

Effetti avversi

Dosi elevate di vitamina B3 possono alterare negativamente la tolleranza al glucosio⁽⁷⁾, i livelli serici delle transaminasi e provocare ulcere a livello gastrico e dare origine ad eritemi⁽⁸⁾.

Interazioni farmacologiche

Le vitamine del gruppo B se assunte contemporaneamente ad alcuni farmaci quali metformina, contraccettivi orali, antistaminici, ed inibitori della pompa protonica, sono assorbite in maniera ridotta a livello intestinale. Inoltre una assunzione contemporanea di isoniazide, levodopa o di penicillamina possono portare ad una carenza funzionale della vitamina B6^(9,10).

Effetti in gravidanza

Le donne in gravidanza non dovrebbero superare le dosi raccomandate per le seguenti vitamine del gruppo B: 3,4 mg/die per la vitamina B2, 20 mg/die per la vitamina B3, 20 mg/die per la vitamina B6 e 12 µg/die per la vitamina B12.

Determinazioni Analitiche

Sono descritte in letteratura scientifica metodologie per l'analisi delle vitamine del gruppo B nei diversi liquidi biologici e nei prodotti alimentari. Queste metodologie prevedono l'utilizzo di una tecnica separativa in cromatografia liquida associata ad un rivelatore spettrofotometrico^(11,12), ad uno spettrofotometro ad assorbimento atomico⁽¹³⁾ e all'elettroforesi capillare⁽¹⁴⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Analisi per la determinazione analitica delle vitamine del gruppo B nei liquidi biologici⁽¹²⁾

Estrazione del campione

A 400 µl di plasma e a 400 µl di urine addizionate con teobromina come standard interno (2 ng/µl) si aggiungono 600 µl di una soluzione costituita da alcol etilico e alcol metilico (95:5 v/v); il campione viene quindi agitato per 30 secondi e centrifugato a 15.000 rpm per 15 minuti ad una temperatura di 4°C. Il supernatante viene raccolto, portato a secco e il residuo secco viene risospeso con una miscela costituita da acqua e alcol metilico (50:50 v/v) prima di essere estratto in fase solida. La colonnina di estrazione supelclean LC18 viene condizionata con 1 ml di alcol metilico ed 1 ml di acqua; successivamente viene introdotto il campione che viene eluito con una miscela di alcol metilico e acqua (85:15 v/v), viene portato a secco sotto flusso di azoto ed il residuo secco viene ricostituito con 100 µl di fase mobile ed iniettato nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: MetaChem Polaris C-18 A (5 µm x 250 mm x 2.1 mm)

Fase mobile A: acqua contenente 0,01% acido trifluoroacetico pH 2,9

Fase mobile B: alcol metilico

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile A tra 0,00-4,00 al 95%; tra 4,00-10,00 dal 95% al 2% per 20 minuti; tra 20,00-25,00 minuti dal 2% al 95%)

Flusso: 0,2 ml/min

Temperatura di colonna: 30°C

Rivelatore: spettrofotometro a fotodiodi (tra i 230 nm e i 280 nm)

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

vitamina B1: 4,30 min

vitamina B3: 5,30 min

vitamina B6: 6,10 min

vitamina B5: 6,80 min

vitamina B9: 13,0 min

vitamina B12: 13,40 min

vitamina B2: 13,80 min

teobromina (standard interno): 11,90 min

Standard

Tutti gli standard delle vitamine e lo standard interno si possono acquistare presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Le soluzioni di lavoro (range 0,25-25 ng/µl) vengono preparate giornalmente dalle soluzioni madre conservate a -20°C in contenitori ambrati per proteggere le vitamine dall'ossidazione dovuta all'esposizione alla luce. La curva di calibrazione presenta un range di concentrazione da 0,5-20 ng/µl e la concentrazione di teobromina (standard interno) è di 2 ng/µl.

Risultati

Le concentrazioni medie plasmatiche e urinarie delle vitamine del gruppo B di pazienti in dissuefazione alcolica sono riportate in Tabella 1. Questa metodologia sensibile e specifica è di facile applicazione nella routine di laboratorio nella ricerca di complessi multivitaminici del gruppo B a basse concentrazioni.

Tabella 1. Concentrazioni medie plasmatiche e urinarie delle vitamine del gruppo B di pazienti in dissuefazione alcolica

| Matrice Biologica | Vitamina B1 | Vitamina B2 | Vitamina B5 | Vitamina B6 | Vitamina B9 | Vitamina B12 |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Plasma (nmol/l) | 51,3 | 15,6 | 35,4 | 73,3 | 8,5 | 5,7 |
| Urina (mg/dl) | 0,15 | 0,01 | 0,14 | 0,23 | 0,02 | 0,02 |

Bibliografia

1. Toxnet: <http://toxnet.nlm.nih.gov>
2. REGOLAMENTO (CE) n. 46/2002 Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee L 7/21 del 10/01/ 2002 (<http://eur-lex.europa.eu/>)
3. REGOLAMENTO (CE) n. 1925/2006 Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee L 404/26 del 30/12/2006 (<http://eur-lex.europa.eu/>)
4. REGOLAMENTO (CE) N. 1170/2009 Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee L 314/36 del 1/12/2009 (<http://eur-lex.europa.eu/>)
5. NOTA MINISTERO DELLA SALUTE 0021450-P-22/05/2013 - Rivalutazione degli apporti ammessi di vitamine e minerali negli integratori alimentari (<http://www.salute.gov.it/>)
6. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline Washington (DC): National Academies Press (US); 1998.
7. ELAM MB, HUNNINGHAKE DB, DAVIS KB, GARG R, JOHNSON C, EGAN D, KOSTIS JB, SHEPS DS, BRINTON EA. Effect of niacin on lipid and lipoprotein levels and glycemic control in patients with diabetes and peripheral arterial disease: the ADMIT study: A randomized trial. *Arterial Disease Multiple Intervention Trial. JAMA* 2000; 284 (10): 1263-1270.
8. GUYTON R, BAYS HE. Safety Considerations with Niacin Therapy *Am J Cardiol.* 2007; 99: 22-31.
9. SCHÜMANN K Interactions Between Drugs Interactions Between Drugs and Vitamins at Advanced Age. *Int J Vitam Nutr Res.* 1999; 69: 173-178.
10. ROGOVIK AL, VOHRA S, GOLDMAN RD. Safety considerations and potential interactions of vitamins: should vitamins be considered drugs? *Ann Pharmacother.* 2010; 44: 311-324.
11. MARKOPOULOU CK, KAGKADIS KA, KOUNDOURELLIS JE. An optimized method for the simultaneous determination of vitamins B1, B6, and B12 in multivitamin tablets by high performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 30: 1403-1410.
12. GIORGI MG, HOWLAND K, MARTIN C, BONNER AB. A novel HPLC method for the current analysis and quantitation of seven water-soluble vitamins in biological fluids (plasma and urine) a validation study and application. *Scient World Journ.* 2012; 2012: 1-24.
13. VIÑAS P, CAMPILLO N, LÓPEZ GARCÍA I, HERNÁNDEZ CÓRDOBA M. Speciation of vitamin B12 analogues by liquid chromatography with flame atomic absorption spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 1996; 318: 319-325.
14. FOTSING L, FILLET M, BECHET I, HUBERT PH, CROMMEN J. Determination of six water-soluble vitamins in a pharmaceutical formulation by capillary electrophoresis. *J Pharm Biomed Anal.* 1997; 15: 1113-1123.

6.9 Ginkgo biloba



Nome: *Ginkgo biloba*

Famiglia: *Ginkgoaceae*

Genere: *Ginkgo*

Specie: *Ginkgo biloba*

Sinonimi: *Salisburia adiantifolia*, *Salisburia macrophylla*, *Pterophyllus salisburiensis*

Provenienza: Cina

Principi attivi: ginkgolide A, ginkgolide B, ginkgolide C, bilobalide, quercetina, kaempferolo, isoramnetina

Il *Ginkgo biloba* è una pianta originaria della Cina, della quale sono stati rinvenuti fossili che risalgono all'era mesozoica (circa 250 milioni di anni fa). È una pianta arborea che raggiunge un'altezza di 30-40 metri, con foglie di 5-8 cm dalla tipica forma a ventaglio (foglia labelliforme) leggermente bilobata e percorsa da un numero elevato di nervature dicotome. Il *Ginkgo biloba* è una pianta dioica, con strutture fertili maschili e femminili separate su piante diverse. Le piante maschili presentano delle strutture definite coni di microsporangii portati a coppie da microsporofilli disposti a spirale su un asse allungato. Le piante femminili portano su peduncoli isolati due ovuli da cui si sviluppa il seme.

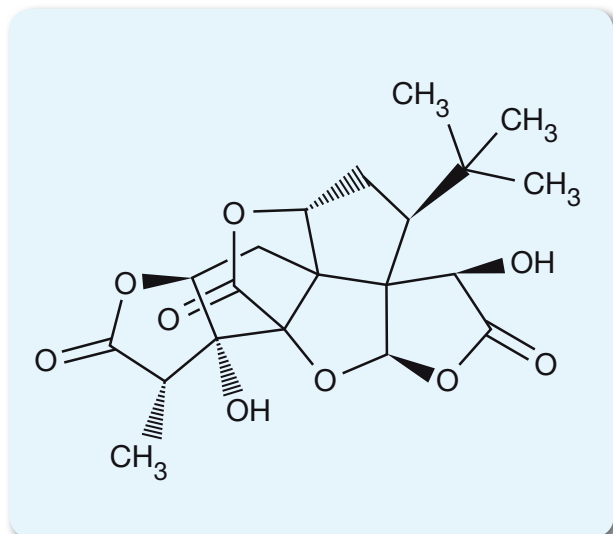
Il seme ha la forma di albicocca, è lungo 1,5-2 cm, ed è ricoperto da un involucro carnoso (sarcotesta) di colore giallo scuro e contenente acido butirrico, responsabile dello sgradevole odore rancido che libera il seme maturo. All'interno del sarcotesta si trova il seme legnoso (sclerotesta) contenente l'embrione. I semi e le foglie del *Ginkgo biloba*, sono utilizzati da secoli nella medicina tradizionale cinese, come riportato in diversi testi risalenti alla dinastia Yuan (1280-1368 dC) per le proprietà vasoregolatrici, in quanto migliorano la permeabilità capillare e riducono la viscosità e l'aggregazione piastrinica aumentando così la fluidità ematica. Essi contengono diverse classi di sostanze, le principali sono presentate in Tabella 1⁽¹⁾.

Tabella 1. Classi di sostanze presenti nelle foglie e/o nei semi del *Ginkgo biloba*

| Classe di sostanze | |
|--------------------------------------|--|
| Trilattoni terpenici | - ginkgolidi A,B,C,J, - bilobalide |
| Flavonoidi glicosidici | - quercetina - kaempferolo - isoramnetina |
| Biflavoni | - bilobetina - ginkgetina - isoginkgetina - sciadopisitina |
| Proantocianidi | - procianidina - prodelfinidina |
| Alchilfenoli | - acidi ginkgolici - ginkgolo - bilobolo |
| Acidi carbossilici | - acido ascorbico - acido d-glucarico - acido chinico - acido shikimico |
| Ginkgotossina (4-O-metilpiridossina) | |
| Poliprenoli | |

Tra le classi di sostanze presentate in tabella, i trilattoni terpenici (ginkgolidi A, B e C, bilobalide) e i flavonoidi glicosidici (quercetina, kaempferolo, isoramnetina) sono considerati i composti farmacologicamente più rilevanti.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi ⁽²⁾



Nome: ginkgolide A.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{24}O_9$ (peso molecolare = 408,4).

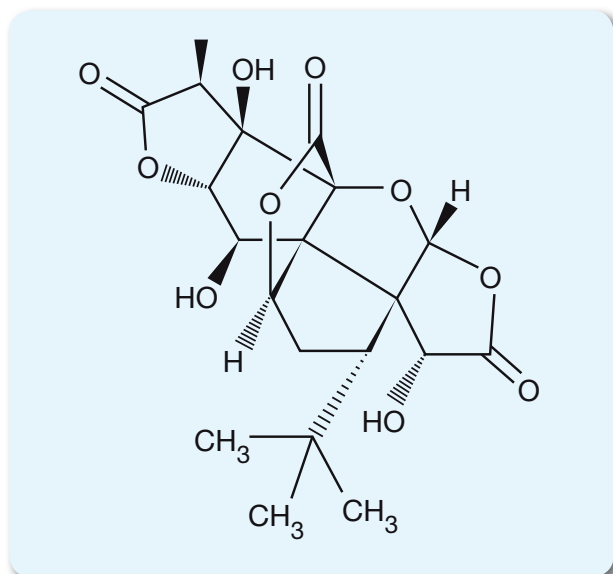
Nome sistematico: 9H-1,7a-(Epossimetano)-1H,6aH-ciclopenta(c)furo(2,3-b)furo(3',2':3,4)ciclopenta(1,2-d)furan-5,9,12(4H)-trione, 3-(1,1-dimetiletil) esaidro-4,7b-di-idrossi-8-metil-, (1R,3S,3aS,4R,6aR,7aR,7bR,8S,10aS,11aS).

Numero di registro CAS: 15291-75-5.

Punto di fusione: 255.65°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua, acetone, alcol metilico, alcol etilico e dimetilsolfossido.



Nome: ginkgolide B.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{24}O_{10}$ (peso molecolare = 424,4).

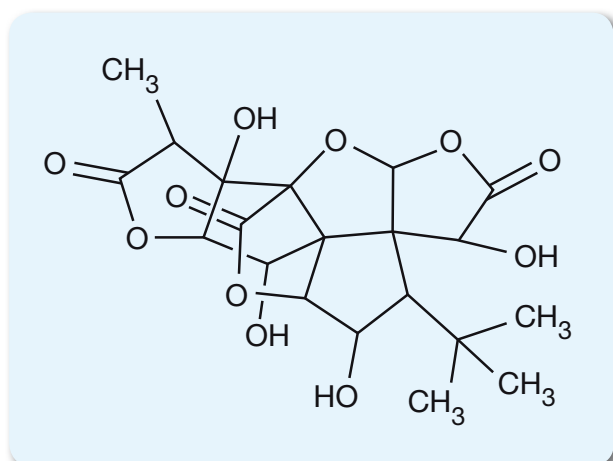
Nome sistematico: 5H-Diciclopenta(b,c)furan-3,5a(6H)-acido diacetico, 6-tert-butil-3a-carbossiesaidro-alfa5a,1,2,3,5,8-esaidrossi-alfa3-metil-, tri-gamma-lattone.

Numero di registro CAS: 15291-77-7.

Punto di fusione: 295-296°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acqua, acetone, alcol metilico, alcol etilico, etil acetato, diossano e dimetilsolfossido.



Nome: ginkgolide C.

Formula Molecolare: $C_{20}H_{24}O_{11}$ (peso molecolare = 440,4).

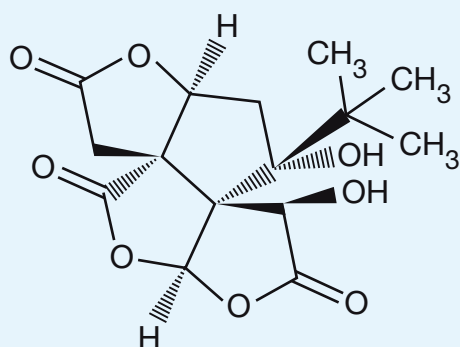
Nome sistematico: non sono presenti dati in letteratura relativi al nome sistematico.

Numero di registro CAS: 15291-76-6.

Punto di fusione: >3000°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: acetone, alcol etilico, acetato d'etile, diossano e metanolo.



Nome: bilobalide.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{18}O_8$ (peso molecolare = 326,3).

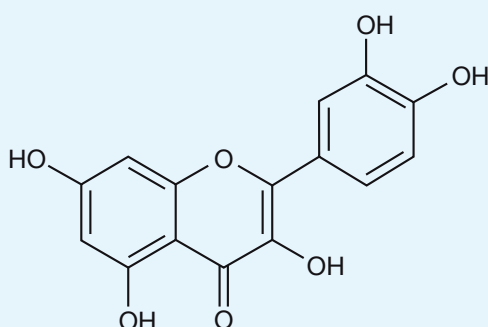
Nome sistematico: (5aR-(3aS*,5a α ,8b,8aS*,9a,10a α))-9-(1,1-dimetiletil)-10,10a-di-idro-8,9-di-idrossi-4H,5aH,9H-furo[2,3-b]furo[3',2':2,3]ciclopenta[1,2-c]furan-2,4,7(3H,8H)-trione.

Numero di registro CAS: 33570-04-6.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.



Nome: quercetina.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{10}O_7$ (peso molecolare = 302,2).

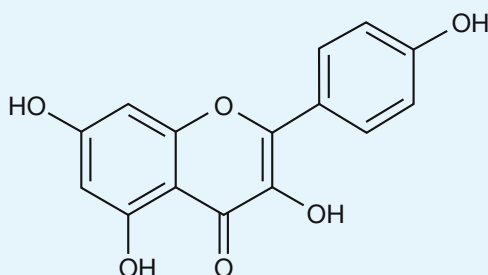
Nome sistematico: 3,3',4',5,7-Pentaidrossiflavone.

Numero di registro CAS: 117-39-5.

Punto di fusione: 316.5°C.

UVmax: (in alcol) 258, 375 nm.

Solubilità: soluzioni acquose alcaline; etere, alcol metilico, alcol etilico, acetone, piridina, acido acetico.



Nome: kaempferolo.

Formula Molecolare: $C_{15}H_{10}O_6$ (peso molecolare = 286,2).

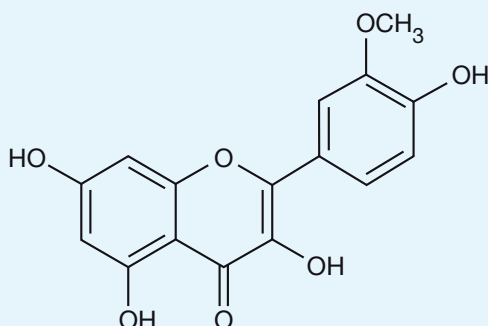
Nome sistematico: 3,4',5,7-Tetraidrossiflavone.

Numero di registro CAS: 520-18-3.

Punto di fusione: 277°C.

UVmax: 265, 365 nm.

Solubilità: insolubile in benzene; poco solubile in cloroformio; solubile in acido acetico; molto solubile in etanolo, etere, acetone, alcol caldo.



Nome: isoramnetina.

Formula Molecolare: $C_{16}H_{12}O_7$ (peso molecolare = 316,3).

Nome sistematico: 3'-metossi-3,4',5,7-tetraidrossiflavone.

Numero di registro CAS: 480-19-3.

Punto di fusione: 307°C.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: non sono presenti in letteratura dati relativi alla solubilità.

Uso storico

Nella medicina tradizionale cinese i semi e le foglie del *Ginkgo biloba* sono utilizzati da secoli per il trattamento di problemi polmonari (i.e. tosse, asma), abuso di alcol, infiammazioni della vescica, problemi cardiaci ed infezioni della pelle^(3,4,5). I semi vengono utilizzati anche nella cucina tradizionale cinese e giapponese; tuttavia un consumo eccessivo e protratto nel tempo, soprattutto nei bambini, causa avvelenamento da ginkgotossina (4-O-metilpiridossina) con vomito e convulsioni e con una letalità nel 27% dei casi^(6,7,8,9).

Uso attuale

Il *Ginkgo biloba* è stato introdotto in Europa intorno al 1990 dalla compagnia tedesca del Dott. Willmar Schwabe, che sviluppò un estratto standardizzato delle foglie della pianta chiamato EGb761⁽¹⁰⁾ e negli ultimi 20 anni l'utilizzo del *Ginkgo biloba*, soprattutto sotto forma di estratti in polvere, si è diffuso in tutto il mondo divenendo uno dei prodotti erboristici più venduti. I prodotti a base di estratti delle foglie di *Ginkgo biloba* vengono utilizzati per migliorare la memoria a breve e lungo termine, l'attenzione e la concentrazione, per stabilizzare l'umore e per combattere la fatica; inoltre questi prodotti vengono indicati per problemi di circolazione cerebrale e periferica e nel caso di danni tissutali⁽¹¹⁾.

Legislazione

Il *Ginkgo biloba* può essere legalmente comprato, venduto e posseduto in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

L'estratto di *Ginkgo biloba* più utilizzato nel mondo è l'EGb761, che si ottiene dalle foglie verdi della pianta dopo essiccazione e che viene standardizzato per il contenuto in flavonoidi glicosidici (24%) e trilattoni terpenici (6%); inoltre il contenuto in alchilfenoli deve essere inferiore a 5ppm (parti per milione) in quanto queste sostanze hanno proprietà allergeniche, citotossiche, mutageniche e neurotossiche⁽¹²⁾.

Le principali indicazioni cliniche per l'utilizzo dell'estratto EGb761 comprendono demenza senile, malattia di Alzheimer, ictus, aterosclerosi cerebrale, insufficienza cerebrale, edema cerebrale, infiammazione, acufene, claudicazione intermittente, malattie cardiovascolari, degenerazione maculare legata all'età, cancro, problemi di memoria e concentrazione^(11,13,14). Alcuni studi suggeriscono l'utilizzo del EGb761 per migliorare le capacità cognitive di pazienti affetti da sclerosi multipla^(15,16).

Il dosaggio raccomandato dell'estratto per ottenere miglioramenti significativi varia tra i 120 mg e i 300 mg, diviso in 2-3 dosi quotidiane, per una durata compresa tra le 3 e le 12 settimane⁽¹¹⁾.

Diversi studi suggeriscono che il ventaglio degli usi clinici dell'estratto EGb761 risulta dall'interazione sinergica delle proprietà farmaco-tossicologiche delle sostanze attive presenti (flavonoidi glicosidici e trilattoni terpenici). Le proprietà antiossidanti di tali sostanze sembrano svolgere un ruolo protettivo nelle malattie neurodegenerative quali la malattia di Alzheimer, nelle malattie cardiovascolari e nel cancro, in quanto sono in grado sia di eliminare i radicali liberi che di inibirne direttamente la formazione^(3,17).

Diversi studi suggeriscono che nella malattia di Alzheimer l'estratto EGb761 protegge i mitocondri dallo stress ossidativo⁽¹⁸⁾, inibisce la formazione e l'aggregazione della beta-amiloide (A β)^(18,20,21), riduce l'apoptosi dei neuroni^(18,22,23) e stimola il flusso sanguigno cerebrale^(24,25).

Gli effetti positivi sul flusso sanguigno sono dovuti sia alla vasoregolazione attraverso il rilascio di ossido nitrico e prostaglandine che all'inibizione del fattore che attiva le piastrine (PAF, platelet activating factor) esercitata soprattutto dai trilattoni terpenici presenti nell'EGb761; tali effetti trovano applicazione clinica nelle malattie cardiovascolari, ictus, claudicazione intermittente e acufeni^(3,26-28).

Studi recenti suggeriscono che l'estratto di *Ginkgo biloba* può avere funzioni chemiopreventive grazie alle sue proprietà antiossidanti e alla capacità di inibire il processo angiogenetico: inoltre può regolare l'espressione di geni coinvolti nella proliferazione cellulare, differenziamento cellulare e apoptosi^(23,30-33).

Tossicità

Poiché gli alchilfenoli hanno proprietà allergeniche, citotossiche, mutageniche e neurotossiche⁽¹²⁾, il loro contenuto negli estratti di *Ginkgo biloba* deve essere inferiore a 5ppm (parti per milione).

Effetti avversi

Il *Ginkgo biloba* è normalmente ben tollerato; tra i rari effetti avversi vengono riportati nausea, vomito, diarrea, mal di testa, palpitazioni e vertigini⁽¹³⁾.

Diversi studi clinici hanno riportato casi di sanguinamento, soprattutto in pazienti che assumevano in concomitanza farmaci anticoagulanti⁽³⁴⁾; tuttavia una recente meta-analisi non ha individuato un rischio maggiore di sanguinamento associato alla terapia con estratti di *Ginkgo biloba*⁽³⁵⁾.

Interazioni farmacologiche

Possibili interazioni farmacologiche del *Ginkgo biloba* possono verificarsi con:

- farmaci ad attività anticoagulante, antiaggreganti piastrinici e antipertensivi (i.e. warfarina, aspirina, nicardipina, nifedipina);
- antagonisti dei canali del potassio (i.e. tolbutamide)
- benzodiazepine (i.e. midazolam, alprazolam)
- inibitori di pompa protonica (i.e. omeprazolo)
- neurolettici (i.e. risperidone)
- antidrepressivi (i.e. trazodone)
- antipsicotici (i.e. aloperidolo)

Effetti in gravidanza

Poiché non sono noti gli effetti del consumo di *Ginkgo biloba* durante la gravidanza e l'allattamento è consigliabile evitarne l'assunzione⁽³⁶⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono descritte diverse metodiche analitiche per la determinazione dei principi attivi presenti nelle foglie, negli estratti e nelle preparazioni commerciali a base di *Ginkgo biloba*. Tali metodi comprendono diverse tecniche cromatografiche e spettroscopiche, quali la cromatografia su strato sottile, la cromatografia liquida, la spettrometria ultravioletta, la spettrometria di massa⁽³⁷⁻⁴⁴⁾.

Le stesse metodiche analitiche sono riportate per la determinazione dei principi attivi di estratti e preparazioni commerciali a base di *Ginkgo biloba* nel plasma e nelle urine di utilizzatori di tali prodotti⁽⁴⁵⁻⁵⁰⁾.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Determinazione dei principi attivi del *Ginkgo biloba* in urine di consumatori degli estratti della pianta⁽⁵⁰⁾

Estrazione del campione

Le urine vengono centrifugate a 14000 rpm per 10 minuti e viene prelevato il surnatante per le analisi. Ad un volume di 100 µl vengono aggiunti 25 µl di acetato di sodio e 1 µl di una miscela composta da 114 unità di beta-glucuronidasi e 3.3 unità di sulfatasi; dopo incubazione per un ora a 37°C si procede ad una estrazione liquido-liquido con tre passaggi in 2 ml di etil etere di 30 minuti ciascuno. Il campione viene poi centrifugato a 2000 g per 5 minuti, viene prelevata la fase di etil etere, portata a secco sotto flusso di azoto, ripresa con alcol metilico e infine iniettata in colonna cromatografica.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: C18 capillare preparata al momento (15 cm x i.d. 320 µm) con due fasi stazionarie C18 (PepMap stationary phase, Dionex, Camberley, UK) e C30 (YMC, Loughborough, UK).

Fase mobile A: 0.1% acido acetico in acqua

Fase mobile B: acetonitrile e alcol metilico

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile A: 90% a 40% in 117 minuti; da 40% a 2% in 5 minuti e mantenuto per 10 minuti; dal 2% al 90% in 3 minuti e mantenuto al 90% per 2 minuti)

Flusso: 4 µl/min

Volume di iniezione: 5µl

Rivelatore: spettrometro di massa in modalità negativa con interfaccia elettrospray

Temperatura del capillare: 200°C

Voltaggio del capillare: 15 V

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

bilobalide: 60 min

ginkgolide C: 65 min

ginkgolide A: 85 min

ginkgolide B: 88 min

quercetina deidrata: 100 min

quercetina 3-β-D-glucoside: 72 min

quercetina 3-ramnoside: 78 min

kaempferolo: 112 min

isoramnetina: 115 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

bilobalide: m/z 325

ginkgolide C: m/z 439

ginkgolide A: m/z 407

ginkgolide B: m/z 423

quercetina deidrata: m/z 301

quercetina 3-β-D-glucoside: m/z 463

quercetina 3-ramnoside: m/z 447

kaempferolo: m/z 285

isoramnetina: m/z 315

Standard

Gli standard di bilobalide, ginkgolide C, ginkgolide A, ginkgolide B, quercetina deidrata, quercetina 3-β-D-glucoside, quercetina 3-ramnoside, kaempferolo, isoramnetina sono stati acquistati presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Gli standard di calibrazione (range 0,01 -100 µg/ml) vengono preparati aggiungendo le soluzioni standard a concentrazione nota ai campioni di urine di controllo.

Risultati

I campioni di urine di soggetti che hanno fatto uso di integratori alimentari a base di *Ginkgo biloba* hanno mostrato le seguenti concentrazioni medie:

| | |
|---------------------|------------|
| bilobalide | 1556 ng/ml |
| ginkgolide C | 97 ng/ml |
| ginkgolide A | 1659 ng/ml |
| ginkgolide B | 652 ng/ml |
| quercetina deidrata | 35,8 ng/ml |
| kaempferolo | 53,6 ng/ml |
| isoramnetina | 23,5 ng/ml |

Bibliografia

1. SINGH B, KAUR P, GOPICHAND, SINGH RD, AHUJA PS. Biology and chemistry of Ginkgo biloba. *Fitoterapia*. 2008; 79: 401-418.
2. TOXNET: <http://toxnet.nlm.nih.gov>
3. MAHADY GB. Ginkgo biloba for the prevention and treatment of cardiovascular disease: a review of the literature. *J Cardiovasc Nurs*. 2002; 16: 21-32.
4. STICHER O, MEIER B, HASLER A. The Analysis of Ginkgo flavonoidi in van Beek TA (ed) *Ginkgo Biloba*. Harwood Amsterdam, 2000; Vol. 12: 179-202.
5. HORI S, HORI T. Ginkgo biloba-a Global Treasure-from Biology to Medicine. Ed. Springer: Tokyo, 1997; 385-411.
6. MIWA H, IJIMA M, TANAKA S, MIZUNO Y. Generalized convulsions after consuming a large amount of ginkgo nuts. *Epilepsia*. 2001; 42: 280-281.
7. HASEGAWA S, ODA Y, ICHIYAMA T, HORI Y, FURUKAWA S. Ginkgo nut intoxication in a 2-year-old male. *Pediatr Neurol*. 2006; 35: 275-276.
8. KAJIYAMA Y, FUJII K, TAKEUCHI H, MANABE Y. Ginkgo seed poisoning. *Pediatrics*. 2002; 109: 325-327.
9. MELZHEIMER V, LICHIOUS J. L. In *Ginkgo biloba*; van Beek, T. A., Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, 2000; 12: 25-47.
10. DEFEUDIS F.V. Ginkgo biloba extract (EGb 761): Pharmacological activities and clinical applications. Paris: Elsevier; 1991.
11. DIAMOND BJ, BAILEY MR. Ginkgo biloba: indications, mechanisms, and safety. *Psychiatr Clin North Am*. 2013a; 36: 73-83.
12. VAN BEEK TA, MONTORO P. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. *J Chromatogr A*. 2009; 1216: 2002-201
13. MAHADEVAN S, PARK Y. Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo biloba L.: chemistry, efficacy, safety, and uses. *J Food Sci*. 2008; 73: R14-19.
14. ABAD MJ, BEDOYA LM, BERMEJO P. An update on drug interactions with the herbal medicine Ginkgo biloba. *Curr Drug Metab*. 2010; 11: 171-181.
15. JOHNSON SK, DIAMOND BJ, RAUSCH S, KAUFMAN M, SHIFLETT SC, GRAVES L. The effect of Ginkgo biloba on functional measures in multiple sclerosis: a pilot randomized controlled trial. *Explore (NY)* 2006; 2: 19-24.
16. DIAMOND BJ, JOHNSON SK, KAUFMAN M, SHIFLETT SC, GRAVES L. A randomized controlled pilot trial: the effects of EGb 761 on information processing and executive function in multiple sclerosis. *Explore (NY)*. 2013; 9: 106-107.
17. DEFEUDIS FV, DRIEU K. Ginkgo biloba extract (EGb 761) and CNS functions: basic studies and clinical applications. *Curr Drug Targets*. 2000; 1: 25-58.
18. SHI C, LIU J, WU F, YEW DT. Ginkgo biloba extract in Alzheimer's disease: from action mechanisms to medical practice. *Int J Mol Sci*. 2010; 11: 107-123.
19. ECKERT A. Mitochondrial effects of Ginkgo biloba extract. *Int Psychogeriatr*. 2012; 24 Suppl 1: S18-20.
20. SHI C, WU F, XU J, ZOU J. Bilobalide regulates soluble amyloid precursor protein release via phosphatidylinositol 3 kinase-dependent pathway. *Neurochem Int*. 2011; 59: 59-64.
21. YAO ZX, HAN Z, DRIEU K, PAPADOPOULOS V. Ginkgo biloba extract (Egb 761) inhibits beta-amyloid production by lowering free cholesterol levels. *J Nutr Biochem*. 2004; 15: 749-756.
22. BASTIANETTO S, RAMASSAMY C, DORÉ S, CHRISTEN Y, POIRIER J, QUIRION R. The Ginkgo biloba extract (EGb 761) protects hippocampal neurons against cell death induced by beta-amyloid. *Eur J Neurosci*. 2000; 12: 1882-90.
23. SERRANO-GARCÍA N, PEDRAZA-CHAVERRI J, MARES-SÁMANO JJ, OROZCO-IBARRA M, CRUZ-SALGADO A, JIMÉNEZ-ANGUANO A, SOTELO J, TREJO-SOLÍS C. Antiapoptotic effects of EGb 761. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013; 2013: 1-18.
24. MASHAYEKH A, PHAM DL, YOUSEM DM, DIZON M, BARKER PB, LIN DD. Effects of Ginkgo biloba on cerebral blood flow assessed by quantitative MR perfusion imaging: a pilot study. *Neuroradiology*. 2011; 53: 185-191.
25. AHLEMEYER B, KRIEGLSTEIN J. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract. *Cell Mol Life Sci*. 2003; 60: 1779-1792.
26. HILTON MP, ZIMMERMANN EF, HUNT WT. Ginkgo biloba for tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 3: 1-23
27. MORGENSTERN C, BIERMANN E. The efficacy of Ginkgo special extract EGb 761 in patients with tinnitus. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2002; 40: 188-197.
28. NICOLAÏ SP, KRUIDENIER LM, BENDERMACHER BL, PRINS MH, STOKMANS RA, BROOS PP, TEIJINK JA. Ginkgo biloba for intermittent claudication. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 6: 1-18

29. DEFEUDIS FV, PAPADOPOULOS V, DRIEU K. Ginkgo biloba extracts and cancer: a research area in its infancy. *Fundam Clin Pharmacol.* 2003; 17: 405-417.
30. YOU OH, KIM SH, KIM B, SOHN EJ, LEE HJ, SHIM BS, YUN M, KWON BM, KIM SH. Ginkgetin induces apoptosis via activation of caspase and inhibition of survival genes in PC-3 prostate cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013a; 23: 2692-2695.
31. KIM MJ, PARK YJ, CHUNG KH, OH SM. The inhibitory effects of the standardized extracts of ginkgo biloba on aromatase activity in JEG-3 Human Choriocarcinoma Cells. *Phytother Res.* 2013; 27: 1756-1762.
32. PARK YJ, KIM MJ, KIM HR, YI MS, CHUNG KH, OH SM. Chemopreventive effects of Ginkgo biloba extract in estrogen-negative human breast cancer cells. *Arch Pharm Res.* 2013; 36: 102-108.
33. RIBONNET L, CALLEBAUT A, NOBELS I, SCIPPO ML, SCHNEIDER YJ, DE SAEGER S, PUSSEMIER L, LARONDELLE Y. Modulation of CYP1A1 activity by a Ginkgo biloba extract in the human intestinal Caco-2 cells. *Toxicol Lett.* 2011; 202: 193-202.
34. BENT S, GOLDBERG H, PADULAA, AVINS AL. Spontaneous bleeding associated with ginkgo biloba: a case report and systematic review of the literature: a case report and systematic review of the literature. *J Gen Intern Med.* 2005; 20: 657-661.
35. KELLERMANN AJ, KLOFT C. Is there a risk of bleeding associated with standardized Ginkgo biloba extract therapy? A systematic review and meta-analysis. *Pharmacotherapy.* 2011; 31: 490-502.
36. DUGOUA JJ, MILLS E, PERRI D, KOREN G. Safety and efficacy of ginkgo (Ginkgo biloba) during pregnancy and lactation. *Can J Clin Pharmacol.* 2006; 13: e277-284.
37. YAO X, ZHOU GS, TANG YP, QIAN YF, GUAN HL, PANG H, ZHU S, MO X, SU SL, JIN C, QIN Y, QIAN DW, DUAN JA. Simultaneous quantification of flavonol glycosides, terpene lactones, biflavones, proanthocyanidins, and ginkgolic acids in Ginkgo biloba leaves from fruit cultivars by ultrahigh-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry. *Biomed Res Int.* 2013b; 2013: 1-11.
38. ZHAO YY, WANG JH, FU XT, CHEN YG, GUO HZ. Simultaneous determination of eleven flavonoid glycosides in ginkgo biloba leaves collected in different seasons by UPLC PDA method. *Yao Xue Xue Bao.* 2013; 48: 98-103.
39. HARNLY JM, LUTHRIA D, CHEN P. Detection of adulterated Ginkgo biloba supplements using chromatographic and spectral fingerprints. *J AOAC Int.* 2012; 95: 1579-1587.
40. KAKIGI Y, HAKAMATSUKA T, ICHO T, GODA Y, MOCHIZUKI N. Comprehensive analysis of flavonols in Ginkgo biloba products by ultrahigh-performance liquid chromatography coupled with ultra-violet detection and time-of-flight mass spectrometry. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2012; 76: 1003-1007.
41. SONG J, FANG G, ZHANG Y, DENG Q, WANG S. Fingerprint analysis of Ginkgo biloba leaves and related health foods by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry. *J AOAC Int.* 2010; 93: 1798-1805.
42. GAWRON-GZELLA A, MAREK P, CHANAJ J, MATLAWSKA I. Comparative analysis of pharmaceuticals and dietary supplements containing extracts from the leaves of Ginkgo biloba L. *Acta Pol Pharm.* 2010; 67: 335-343.
43. TANG D, YANG D, TANG A, GAO Y, JIANG X, MOU J, YIN X. Simultaneous chemical fingerprint and quantitative analysis of Ginkgo biloba extract by HPLC-DAD. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 396: 3087-3095.
44. AVULA B, WANG YH, SMILLIE TJ, KHAN IA. Column liquid chromatography/electrospray ionization-time of flight-mass spectrometry and ultraperformance column liquid chromatography/mass spectrometry methods for the determination of ginkgolides and bilobalide in the leaves of Ginkgo biloba and dietary supplements. *J AOAC Int.* 2009; 92: 645-652.
45. DEW TP, WANG G, WILLIAMSON G. Urinary excretion of ginkgolide terpene lactones following acute consumption of Ginkgo biloba extract. *Biofactors.* 2014; 268-274.
46. UDE C, SCHUBERT-ZSILAVECZ M, WURGLICS M. Ginkgo biloba extracts: a review of the pharmacokinetics of the active ingredients. *Clin Pharmacokinet.* 2013; 52: 727-749.
47. WOELKART K, FEIZLMAYR E, DITTRICH P, BEUBLER E, PINL F, SUTER A, BAUER R. Pharmacokinetics of bilobalide, ginkgolide A and B after administration of three different Ginkgo biloba L. preparations in humans. *Phytother Res.* 2010; 24: 445-450.
48. WANG FM, YAO TW, ZENG S. Determination of quercetin and kaempferol in human urine after orally administrated tablet of ginkgo biloba extract by HPLC. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 33: 317-321.
49. WATSON DG, OLIVEIRA EJ. Solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry determination of kaempferol and quercetin in human urine after consumption of Ginkgo biloba tablets. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999; 723: 203-210.
50. DING S, DUDLEY E, CHEN L, PLUMMER S, TANG J, NEWTON RP, BRENTON AG. Determination of active components of Ginkgo biloba in human urine by capillary high-performance liquid chromatography/mass spectrometry with on-line column-switching purification. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006; 20: 3619-3624.

6.10 Paullinia cupana (guaranà)

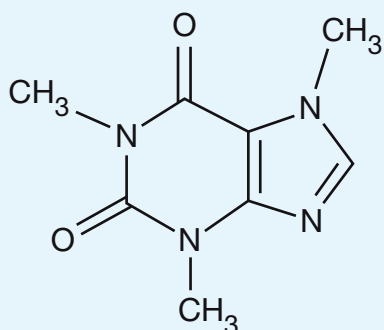


Nome: *Paullinia cupana*
Famiglia: *Sapindaceae*
Genere: *Paullinia*
Specie: *Paullinia cupana*
Sinonimi: Guaranà, *P. crysan*, *P. sorbilis*
Provenienza: Foresta amazzonica (Sud America)
Principi attivi: caffeina (nota anche come guaranina), teofillina e teobromina

La *Paullinia cupana* o guaranà è una pianta rampicante, sempreverde, nativa della foresta amazzonica dove cresce spontaneamente lungo i fiumi. Il termine guaranà deriva dalla tribù di indios dei Guaraní, che a sua volta aveva adottato il termine warana dalla tribù dei Sateré Mawé⁽¹⁾. Il nome *Paullinia cupana* deriva dal botanico tedesco Paulini che scoprì la pianta nel XVIII secolo⁽²⁾.

Il frutto del guaranà è una drupa molto consistente, con epicarpo pergamenaceo di colore rosso fuoco, mesocarpo parenchimoso biancastro che racchiude l'endocarpo (ossia il seme) legnoso. I semi contengono principalmente caffeina, ma sono presenti anche tracce di altre metilxantine, quali teofillina e teobromina, di polifenoli in grado di formare complessi insolubili con la caffeina, tannini e catechine^(3,4). La quantità di caffeina nei semi si aggira tra il 2 e il 5% ed è maggiore della quantità riscontrata in altre specie vegetali, quali i chicchi di caffè (*Coffea arabica*, 1-2%), il tè nero (*Camellia sinensis*, 2.5-4.5%) e i semi di cacao (*Theobroma cacao*, 0.25%)^(1,5).

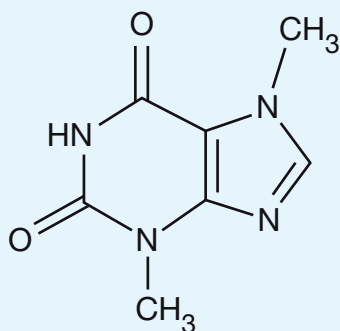
Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi⁶



Nome: caffeina.
Formula Molecolare: $C_8H_{10}N_4O_2$ (peso molecolare = 194,2).
Nome sistematico: 3,7-diidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-dione
Numero di registro CAS: 58-08-2.
Punto di fusione: 238°C (anidro).
UVmax: 273 nm.
Solubilità: poco solubile in acqua, alcol, etere e acetone. Molto solubile in cloroformio, acetato di etile e tetraidrofurano.



Nome: teofillina.
Formula Molecolare: $C_7H_8N_4O_2$ (peso molecolare = 180,2).
Nome sistematico: 3,7-diidro-1,3-dimetil-1H-purina-2,6-dione.
Numero di registro CAS: 58-55-9.
Punto di fusione: 273°C.
UVmax: 275 nm.
Solubilità: poco solubile in acqua, alcol etilico e cloroformio.



Nome: teobromina.

Formula Molecolare: $C_7H_8N_4O_2$ (peso molecolare = 180.1 g/mol).

Nome sistematico: 3,7-diidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-dione.

Numero di registro CAS: 83-67-0.

Punto di fusione: 350°C.

UVmax: 274 nm.

Solubilità: soluzione acquose alcalinizzate; parzialmente solubile in alcol etilico e cloroformio.

Uso storico

Il guaranà è considerato da secoli una pianta sacra per molte tribù di indios, che sfruttano l'effetto tonico-stimolante dei semi per aumentare la resistenza fisica, per la caccia e per la guerra. In molte tribù veniva inoltre utilizzato come rimedio per la diarrea, i dolori mestruali, il mal di testa, l'ipertensione e la febbre⁽⁷⁾.

La lavorazione dei semi varia nelle diverse tribù indios; in genere gli indios brasiliani pongono i frutti semiaperti in contenitori pieni di acqua fredda per estrarre i semi, che vengono successivamente tostati a fuoco lento e ridotti in polvere. Alla polvere viene aggiunta acqua per formare una pasta omogenea a cui si dà la forma di un panetto che viene essiccato al sole e successivamente messo a fumigare al fuoco di legni resinosi. Gli indios del Venezuela trituran i semi in acqua calda e aggiungono farina di manioca per creare una pasta che viene lasciata fermentare e successivamente viene nuovamente impastata con acqua bollente fino ad ottenere una pasta che viene essiccata e fumigata. Al momento del bisogno il panetto viene grattugiato e messo in infusione in acqua calda e zucchero⁽²⁾.

Uso attuale

Il guaranà inizia ad essere coltivato su scala industriale agli inizi del ventesimo secolo per la produzione di diverse bevande che vengono commercializzate in Sud America (specialmente in Brasile). La sua distribuzione in Europa e nel resto del mondo avviene a partire dal 1958⁽²⁾.

Attualmente il guaranà viene commercializzato sotto forma di capsule ed infusi ed è presente in una grande varietà di soft drinks ed energy drinks. La presenza del guaranà in tali prodotti viene pubblicizzata per migliorare la concentrazione, l'energia, le performances atletiche e sessuali, per ridurre l'appetito e aumentare la termogenesi favorendo la perdita di peso. Al guaranà vengono inoltre attribuite proprietà antiossidanti, cardiotoniche e diuretiche.

Legislazione

La *Paullinia cupana* può essere legalmente comprata, venduta e posseduta in Italia.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le proprietà associate al guaranà sono dovute principalmente alla presenza di caffeina, teofillina e teobromina.

Nel 1826 il botanico tedesco Theodore von Martius isola dai semi del guaranà una sostanza cristallina bianca che nomina guaranina; sebbene in accordo con il Biological Magnetic Resonance Data Bank⁽⁸⁾ tale sostanza sia strutturalmente identica alla caffeina, in alcuni prodotti viene riportato il nome guaranina al fine di esercitare un maggiore appeal sui potenziali clienti rispetto alla tradizionale caffeina.

La maggiore capacità di attenzione e concentrazione mentale e la ridotta percezione della fatica sembrerebbero essere dovuti soprattutto all'effetto della caffeina a livello del sistema nervoso centrale. In uno studio nell'uomo, l'assunzione per via orale di quattro diverse dosi (37.5, 75, 150 e 300 mg) di un estratto standardizzato di guaranà⁽⁹⁾ ha determinato un significativo miglioramento della memoria, dell'attenzione e dell'umore. Questi risultati non sono stati successivamente confermati⁽¹⁰⁾.

Diversi studi mettono in relazione il consumo di guaranà ad effetti positivi sul metabolismo lipidico⁽¹¹⁾, sulla perdita di peso^(12,13) e sull'aumento del metabolismo basale⁽¹⁴⁾, soprattutto se in associazione ad altre erbe, quali il ma huang (*Ephedra Sinica*) e il tè verde (*Cammelia sinensis*). Tali effetti sono riconducibili alla capacità della caffeina di favorire il rilascio di due ormoni, adrenalina e noradrenalina, che agiscono determinando un aumento della frequenza cardiaca, della pressione arteriosa e del metabolismo corporeo^(15,16). La presenza di catechine nei semi del guaranà è stata associata ad un effetto cardioprotettivo dovuto all'inibizione dell'aggregazione delle piastrine^(17,18) ed a proprietà antiossidanti⁽¹⁹⁾. Diversamente, il blando effetto diuretico associato al consumo di guaranà sembra essere dovuto alla presenza delle metilxantine⁽²⁰⁾. Studi epidemiologici effettuati su una popolazione amazzonica di anziani (>60 anni) che consumava abitualmente guaranà, hanno riportato una minore prevalenza di ipertensione, obesità e sindromi metaboliche; tali effetti sono stati associati a valori più bassi di colesterolo (totale e LDL) e di biomarcatori ossidativi^(21,22).

Tossicità

Studi *in vitro* hanno dimostrato che il guaranà possiede effetti genotossici e mutagenici^(23,24); tuttavia studi *in vivo* (ratti e topi) riguardanti la somministrazione acuta e cronica di guaranà non hanno evidenziato la presenza di effetti tossici^(19, 25). In contrasto con queste evidenze, uno studio recente designa il fegato come possibile organo bersaglio dopo somministrazione cronica dell'estratto semipurificato di guaranà nei ratti a dosi di 150 e 300 mg/kg⁽²⁶⁾.

Effetti avversi

Un consumo eccessivo di guaranà può determinare ipertensione, cefalea, ansia, nausea, vomito, tachicardia e convulsioni; tali effetti sono riconducibili al contenuto in caffeina e possono essere amplificati dal consumo simultaneo di altri fonti di caffeina. Soggetti cardiopatici, ipertesi, ipertiroidi e soggetti con problemi di ansia, insonnia, disturbi renali ed ulcera peptica dovrebbero evitare l'assunzione di preparati a base di guaranà⁽²⁷⁾.

Interazioni farmacologiche

Per la presenza di caffeina, l'assunzione del guaranà può determinare diverse interazioni farmacologiche, per le quali si rimanda alla monografia della caffeina.

Effetti in gravidanza

A causa dell'alto contenuto in caffeina è sconsigliato il consumo di prodotti a base di guaranà durante la gravidanza e l'allattamento, in quanto la caffeina è in grado di attraversare la placenta e di passare nel latte materno⁽²⁸⁾.

Determinazioni Analitiche

Sono descritte metodiche analitiche per la determinazione dei principi attivi nella frazione semipurificata, nella polvere ottenuta dai semi della pianta e nelle preparazioni commerciali a base di guaranà, con la cromatografia liquida e l'elettroforesi capillare^(29,30,31). Non sono riportati metodi di analisi dei principali principi attivi della *Paullinia Cupana* nei liquidi biologici di consumatori di guaranà o di prodotti a base di guaranà.

La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Determinazione delle metilxantine presenti in integratori alimentari a base di guaranà³⁰

Estrazione del campione

Circa 1 g del campione viene sciolto in 10 ml di acqua calda. A 500 µl di questa soluzione vengono aggiunti 100 µl di standard interno (triptofano, 500 µg/ml). La soluzione viene infine portata ad 1ml aggiungendo la fase mobile e successivamente viene filtrata utilizzando un filtro da 0.45 µm.

Dopo filtrazione, la soluzione viene estratta utilizzando due aliquote da 2 ml ognuna di cloroformio/isopropanolo (90:10 v/v), portata a secco sotto flusso di azoto, ricostituita con 1 ml di fase mobile ed infine iniettata (20 µl) nella colonna cromatografica.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Phenomenex Luna C18 (150 mm x 4.6 mm, 3 mm)

Fase mobile: 75% acqua, 20% alcol metilico, 5% acido acetico

Modalità di separazione: isocratica

Flusso: 0.7 ml/min

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità positiva

Pressione del gas di nebulizzazione: 35 psi

Temperatura del gas di evaporazione: 350°C

Voltaggio del capillare: 3500 V

Flusso del gas di evaporazione: 11 ml/min

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

caffaina: 8,5 min

teobromina: 4,1 min

teofillina: 6,0 min

triptofano (standard interno): 5,2 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

caffaina: m/z 218, 195, 138

teobromina: m/z 203, 181, 124

teofillina: m/z 203, 181, 124

triptofano (standard interno): m/z 205, 188, 246

Standard

Gli standard di caffeina, teobromina, teofillina ed il triptofano usato come standard interno si possono acquistare presso la ditta Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Curva di calibrazione

Le soluzioni standard di caffeina, teobromina, teofillina e triptofano a concentrazioni di 1 mg/ml sono preparate in acqua calda deionizzata e conservate a +4°C. La concentrazione dello standard interno è pari a 500 µg/ml.

I campioni utilizzati per costruire la curva di calibrazione vengono preparati aggiungendo ad 1 g di polvere di campioni precedentemente testati per l'assenza di caffeina, teofillina e teobromina, 100 µg di standard interno e differenti quantità di caffeina (range 0,06-500 µg) teobromina e teofillina (range 0,06-100 µg).

Risultati

Le analisi condotte sui campioni in polvere o capsule hanno evidenziato, a seconda del prodotto, una quantità di caffeina variabile tra 984,8 e 79509,2 µg/g, una quantità di teobromina variabile tra 54,4 e 192,9 µg/g ed una quantità di teofillina variabile tra 3,8 e 58,4 µg/g.

Bibliografia

1. TAYLOR, L. Database File for: Guaraná (Paullinia cupana). From L. Taylor, The Healing Power of Rainforest Herbs. Garden City Park, NY: Square One Publishers. 2005.
2. WEINBERG BA, BEALER BK. The World of Caffeine: The Science and Culture of the World's Most Popular Drug. New York: Routledge. 2002.
3. WECKERLE CS, STUTZ MA, BAUMANN TW. Purine alkaloids in Paullinia. Phytochemistry 2003; 64: 735-742.
4. SCHIMPL FC, DA SILVA JF, GONÇALVES JF, MAZZAFERA P. Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. J Ethnopharmacol. 2013; 150: 14-31.
5. BURKE LM, STEAR SJ, LOBB A, ELLISON M, CASTELL LM. A-Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance--Part 19. Br J Sports Med. 2011; 45: 456-458.
6. Toxnet: <http://toxnet.nlm.nih.gov>
7. SMITH N, ATROCHAL. Guaraná's Journey from Regional Tonic to Aphrodisiac and Global Energy Drink. Evid Based Complement Alternat Med. 2010; 7: 279-282.
8. "Caffeine". Biological Magnetic Resonance Data Bank, University of Wisconsin-Madison. Retrieved 2007-09-19.
9. HASKELL CF, KENNEDY DO, WESNES KA, MILNE AL, SCHOLEY AB. A double-blind, placebo-controlled, multi-dose evaluation of the acute behavioural effects of guaraná in humans. J Psychopharmacol. 2007; 21: 65-70.
10. SILVESTRINI GI, MARINO F, COSENTINO M. Effects of a commercial product containing guaraná on psychological well-being, anxiety and mood: a single-blind, placebo-controlled study in healthy subjects. J Negat Results Biomed. 2013; 12: 9.
11. LIMA WP, CARNEVALI LC JR, EDER R, COSTA ROSA LF, BACCHI EM, SEELAENDER MC. Lipid metabolism in trained rats: effect of guarana (Paullinia cupana Mart.) supplementation. Clin Nutr. 2005; 24: 1019-1028.
12. BOOZER CN, NASSER JA, HEYMSFIELD SB, WANG V, CHEN G, SOLOMON JL. An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. Int J Obes Relat Metab Disord. 2001; 25: 316-324.
13. OPALA T, RZYMSKI P, PISCHEL I, WILCZAK M, WOZNIAK J. Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on body weight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects--a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial. Eur J Med Res. 2006; 11: 343-350.
14. BÉRUBÉ-PARENT S, PELLETIER C, DORÉ J, TREMBLAY A. Effects of encapsulated green tea and Guarana extracts containing a mixture of epigallocatechin-3-gallate and caffeine on 24 h energy expenditure and fat oxidation in men. Br J Nutr. 2005; 94: 432-436.
15. HARTLEY TR, LOVALLO WR, WHITSETT TL. Cardiovascular effects of caffeine in men and women. Am J Cardiol. 2004; 93: 1022-1026.
16. HURSEL R, VIECHTBAUER W, DULLOO AG, TREMBLAY A, TAPPY L, RUMPLER W, WESTERTERP-PLANTENGA MS. The effects of catechin rich teas and caffeine on energy expenditure and fat oxidation: a meta-analysis. Obes Rev. 2011; 12: 573-581.
17. BYDŁOWSKI SP, YUNKER RL, SUBBIAH MT. A novel property of an aqueous guaraná extract (Paullinia cupana): inhibition of platelet aggregation in vitro and in vivo. Braz J Med Biol Res. 1988; 21: 535-538.
18. SUBBIAH MT, YUNKER R. Studies on the nature of anti-platelet aggregatory factors in the seeds of the Amazonian Herb Guarana (Paullinia cupana). Int J Vitam Nutr Res. 2008; 78: 96-101.
19. MATTEI R, DIAS RF, ESPÍNOLA EB, CARLINI EA, BARROS SB. Guarana (Paullinia cupana): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidants activity in vitro. J Ethnopharmacol. 1998; 60: 111-116.
20. OSSWALD H, SCHNERMANN J. Methylxanthines and the kidney. Handb Exp Pharmacol. 2011; 200: 391-412.
21. COSTA KREWER C, RIBEIRO EE, RIBEIRO EA, MORESCO RN, UGALDE MARQUES DA ROCHA MI, SANTOS MONTAGNER GF, MACHADO MM, VIEGAS K, BRITO E, CRUZ IB. Habitual intake of guaraná and metabolic morbidities: An epidemiological study of an elderly amazonian population. Phytother Res. 2011; 25: 1367-1374.
22. PORTELLA RDE L, BARCELOS RP, DA ROSA EJ, RIBEIRO EE, DA CRUZ IB, SULEIMAN L, SOARES FA. Guaraná (Paullinia cupana Kunth) effects on LDL oxidation in elderly people: an in vitro and in vivo study. Lipids Health Dis. 2013; 12: 12.
23. FONSECA CAS, LEAL J, COSTA SS, LEITÃO AC. Genotoxic and mutagenic effects of guaraná (Paullinia cupana) in prokaryotic organisms. Mutat. Res. 1994; 321, 165-173.
24. SANTAMARIA A, LOPEZ A, DIAZ MM, MUNOZ-MINGARRO D, POZUELO JM. Evaluation of the toxicity of guaraná with in vitro bioassays. Ecotoxicol. Environ. Saf. 1998; 39, 164-167.
25. OTOBONE FJ, SANCHES ACC, NAGAE R, MARTINS JVC, SELA VR, MELLO JCP, AUDI EA. Effect of lyophilized extracts from guaraná seeds [Paullinia cupana var. sorbilis (Mart.) Ducke] on behavioral profiles in rats. Phytother Res. 2007. 21, 531-535.
26. ANTONELLI-USHIROBIRA TM, KANESHIMA EN, GABRIEL M, AUDI EA, MARQUES LC, MELLO JC. Acute and subchronic toxicological evaluation of the semipurified extract of seeds of guaraná (Paullinia cupana) in rodents. Food Chem Toxicol. 2010; 48: 1817-1820.
27. WOODS DJ. Guarana: Paullinia cupana, P. sorbilis; also known as Brazilian cocoa and 'zoom'. J Prim Health Care. 2012; 4: 163-164.
28. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion No. 462: Moderate caffeine consumption during pregnancy. Obstet Gynecol. 2010; 116: 467-468.
29. KLEIN T, LONGHINI R, DE MELLO JC. Development of an analytical method using reversed-phase HPLC-PDA for a semipurified extract of Paullinia cupana var. sorbilis (guaraná). Talanta. 2012; 88: 502-506.
30. MARCHEI E, PELLEGRINI M, PACIFICI R, PALMI I, PICHINI S. Development and validation of a high-performance liquid chromatography-mass spectrometry assay for methylxanthines and taurine in dietary supplements. J Pharm Biomed Anal. 2005; 37: 499-507.
31. SOMBRA LL, GÓMEZ MR, OLSINA R, MARTÍNEZ LD, SILVA MF. Comparative study between capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography in 'guarana' based phytopharmaceuticals. J Pharm Biomed Anal. 2005; 36: 989-994.

6.11 Panax quinquefolius (ginseng)



Nome: *Panax quinquefolius*

Famiglia: *Araliaceae*

Genere: *Panax L*

Specie: *Subgenus Panax*

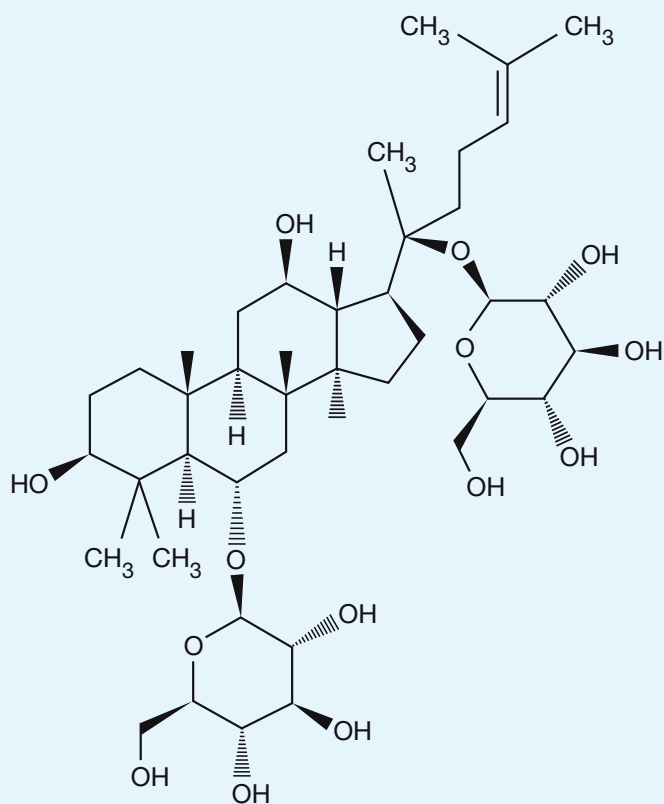
Sinonimi: ginseng, nin-sin, *Panax pseudoginseng*, *Panax schinseng*, ginseng coreano, radice della vita, fenice coreana

Provenienza: Corea del Nord e Manciuria

Principi attivi: ginsenosidi (saponosidi triterpenici).

I componenti caratteristici del Ginseng, presenti principalmente nelle radici della pianta, sono un gruppo di saponine triterpeniche, chiamate ginsenosidi (o panaxosidi) che, in base alla struttura del loro aglicone, possono essere suddivisi in due classi: derivati del protopanaxadiolo (Rb1, Rb2, RC, Rd) e derivati del protopanaxatriolo (Rg1, Re, Rf, Rg2)⁽¹⁻²⁾. Il tenore in saponosidi della radici di *Panax ginseng* va dall'1 al 3%, ed i più abbondanti ed attivi sono i ginsenosidi Rb1, Rb2, Rg1. I derivati protopanaxatriolici, tra cui il composto più importante Rg1, possiedono azione stimolante e tonica. I derivati protopanaxadiolici, invece, tra cui il maggiormente rappresentato è il ginsenoside Rb1, possiedono attività sedativa ed ipotensiva.

Formula chimica e proprietà chimico fisiche dei principi attivi¹



Nome: ginsenoside Rg1.

Formula Molecolare:

$C_{42}H_{72}O_{14}$ (peso molecolare = 801,0).

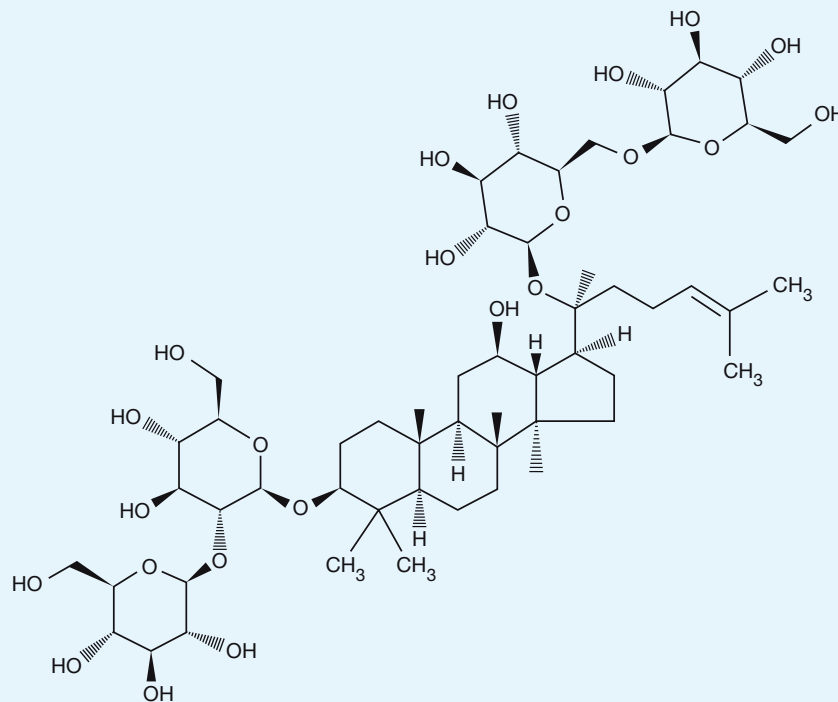
Nome sistematico: (3beta,6alfa,12beta)-3,12-Diidrossidammar-24-ene-6,20-diilbis(beta-D-glucopiranoside).

Numero di registro CAS: 22427-39-0.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: parzialmente solubile in acqua.



Nome: ginsenoside Rb1.

Formula Molecolare: $C_{54}H_{92}O_{23}$ (peso molecolare = 1109,3).

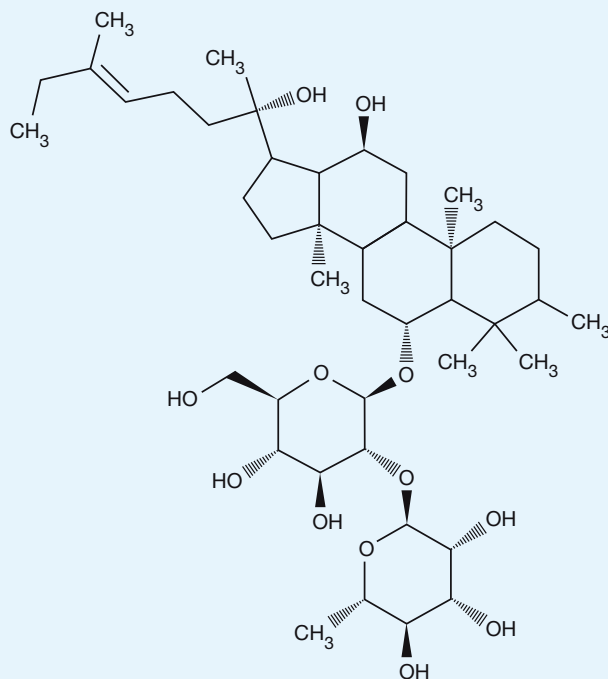
Nome sistematico: 3 β (6 α ,12 β)-20-(β -D-Glucopiranosilossi)-3,12-diidrossidammar-24-en-6-il β -D-glucopiranoside.

Numero di registro CAS: 41753-43-9.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: parzialmente solubile in acqua.



Nome: ginsenoside Rg2.

Formula Molecolare:

$C_{42}H_{72}O_{13}$ (peso molecolare = 785,0).

Nome sistematico:

(3 β ,6 α ,12 β)-3,12,20-Triidrossidammar-24-en-6-il 2-O-(6-deossi- α -L-mannopiranosil)- β -D-glucopiranoside.

Numero di registro CAS: 52286-74-5.

Punto di fusione: non sono presenti in letteratura dati relativi al punto di fusione.

UVmax: non sono presenti in letteratura dati relativi all'UVmax.

Solubilità: parzialmente solubile in acqua.

Uso storico

Il Ginseng è stato utilizzato come pianta medicinale in Cina, Corea ed anche in alcune regioni russe per più di 2000 anni ⁽³⁾, sia per le sue proprietà toniche ma anche per il trattamento di alcune patologie gastro-intestinali. Secondo la medicina tradizionale cinese, il ginseng può essere utilizzato sia per il trattamento dell'ipertensione che dell'ipotensione, in caso di anemia, artrite, insonnia, problemi digestivi e periodi di forte stress. Viene impiegato nella cura del diabete, degli stati di debilitazione, della depressione e per rallentare il processo di invecchiamento dei tessuti dell'organismo. Poiché è anche uno stimolante per il sistema immunitario, il Ginseng è raccomandato in caso di abbassamento delle difese dell'organismo, soprattutto nei periodi invernali, in cui si può essere più di frequente soggetti a raffreddore e febbre ⁽⁴⁾.

Uso attuale

Questa pianta attualmente viene utilizzata come tonico generale poiché gli si attribuiscono effetti rinvigorenti stimolatori del metabolismo e dell'attività cerebrale tonificando i muscoli, sviluppando la resistenza fisica ed irrobustendo il sistema immunitario. È, quindi, indicata per gli anziani e gli individui debilitati, ma anche quale adattogeno in grado di incrementare la resistenza agli sbalzi climatici nei casi di cambi di fuso orario e nei casi di stress (20-40 gocce di tintura madre in acqua al mattino). Infine si consiglia anche come stimolante della funzione sessuale ⁽⁴⁾.

Legislazione

Il *Panax quinquefolius* può essere legalmente comprato, venduto e posseduto in Italia. Il Ministero della Salute ha inserito la pianta nell'elenco delle sostanze e preparati vegetali ammessi negli integratori alimentari ⁽⁵⁾.

Proprietà farmaco-tossicologiche

Le proprietà farmacologiche del Ginseng sono attribuibili a diversi componenti presenti nelle sue radici. Oltre ad un buon contenuto in vitamine, olio essenziale e polisaccaridi (panaxani), i principali responsabili delle azioni della pianta sono le saponine triterpeniche, chiamate ginsenosidi. Si tratta di fitoestrogeni considerati i principi attivi della sostanza. Superato l'iniziale entusiasmo per le sue conclamate virtù afrodisiache, peraltro ancora in attesa di conferme scientifiche, si sono susseguiti numerosi studi per indagarne le reali proprietà curative. Da queste ricerche sono emersi elementi che hanno proposto l'utilizzo di ginseng nel trattamento di diverse condizioni, come diabete di tipo II ⁽⁶⁾ insonnia, gastrite, ipotensione, stati di stress ed affaticamento. Agli estratti di Ginseng sono stati attribuiti anche effetti antiossidanti ⁽⁷⁾, antipiretici, ipocolesterolemizzanti, probiotici, radioprotettivi, anticancerogeni ed antinfiammatori ⁽⁸⁾. Molti di questi effetti, dimostrati solamente sugli animali, sono ancora in attesa di conferme sull'uomo ⁽⁹⁾. Un altro problema deriva dagli enormi interessi economici che ruotano intorno al commercio di questa pianta e che spingono per il riconoscimento delle sue presunte proprietà terapeutiche. Tutto ciò spiega come mai in proposito esistano opinioni differenti, che vanno dall'eccesso di entusiasmo all'esagerato scetticismo ⁽¹⁰⁾.

Il Ginseng è tradizionalmente considerato una droga tonica o adattogena in quanto utile per potenziare le difese immunitarie e migliorare le capacità fisiche e mentali ⁽¹¹⁾. Il presunto effetto afrodisiaco del ginseng sembra legato alla sua capacità di aumentare il rilascio di ossido nitrico dalle cellule endoteliali dei corpi cavernosi del pene; la conseguente vasodilatazione permetterebbe di ottenere un'erezione più vigorosa ⁽¹¹⁾.

Tossicità

Il *Panax quinquefolius* presenta bassi livelli di tossicità⁽¹²⁾. In tabella 1 sono riportati i valori di tossicità acuta in alcune specie di animali.

Tabella 1. Tossicità acuta del *Panax quinquefolius* nelle specie animali⁽¹⁾

| Specie | Modalità di somministrazione | DL50 |
|--------|------------------------------|------------|
| Ratto | Orale | 5000 mg/kg |
| | Intraperitoneale | 1000 mg/kg |
| Cavia | Orale | 2000 mg/kg |
| Topo | Orale | 1000 mg/kg |

DL50 = dose letale per il 50% degli animali testati

Effetti avversi

In letteratura numerosi lavori riportano l'assenza di eventi avversi in seguito alla sola somministrazione di Ginseng⁽¹³⁻¹⁴⁾. Tuttavia sono state osservate reazioni avverse, quali mal di testa, vomito, nausea in seguito a somministrazione di preparati contenenti oltre al Ginseng altre sostanze⁽¹⁴⁾.

Interazioni farmacologiche

È stato osservato che, nelle persone affette da diabete di tipo 2, il Ginseng può determinare una riduzione della glicemia e dei livelli plasmatici di emoglobina A_{1c}⁽¹⁵⁻¹⁶⁾. L'assunzione contemporanea di insulina o ipoglicemizzanti orali e Ginseng, senza un monitoraggio dei livelli ematici di glucosio, può portare all'insorgenza di ipoglicemia. Svariati studi clinici hanno evidenziato l'assenza di attività da parte del Ginseng nei confronti dei principali isoenzimi del citocromo P450⁽¹⁷⁻¹⁸⁾. Tuttavia, in un caso clinico è stata riportata una probabile interazione farmacocinetica a livello del CYP3A4 tra imatinib e Ginseng. Nello specifico, la reazione si è verificata in un paziente in terapia da 7 anni con imatinib, che ha manifestato un'epatite lobulare acuta, dopo tre mesi dall'inizio di un trattamento con Ginseng. È stato osservato anche che, nei pazienti anziani, gli estratti della pianta sono in grado di determinare una lieve inibizione del CYP2D6⁽¹⁹⁻²⁰⁾. In un altro caso clinico, l'assunzione di Ginseng, in un soggetto con protesi valvolare cardiaca, ha comportato una riduzione dell'effetto terapeutico del warfarin⁽²¹⁾. Tuttavia, poiché il paziente in questione era in terapia con diversi altri farmaci, la relazione di causalità è rimasta piuttosto dubbia. In letteratura, viene infine riportato un caso clinico riferito ad un paziente che ha manifestato insonnia, cefalea, tremori e mania in seguito alla somministrazione concomitante di Ginseng e fenelzina⁽²²⁾. In questo caso, la relazione di causalità è stata confermata dalla ricomparsa dei sintomi in seguito alla risomministrazione del rimedio erboristico⁽²³⁾. Di recente, è stato evidenziato, sia *in vitro* che *in vivo*, che un componente del Ginseng asiatico, noto come 20(S)-Ginsenoside Rh2, esercita un'importante azione inibente a carico della glicoproteina-P (P-gp), con una potenza paragonabile a quella del verapamil. L'effetto è stato osservato in particolare sul trasporto di digossina, fexofenadina ed etoposide⁽²³⁾. Sebbene tale evidenza non abbia ancora trovato risvolti in ambito clinico, i pazienti in trattamento con tali farmaci dovrebbero essere al corrente di questa potenziale interazione farmacologica.

Effetti in gravidanza

Non esistono dati sull'uso in gravidanza o durante l'allattamento.

Determinazioni Analitiche

Sono presenti in letteratura scientifica metodologie di analisi per la determinazione dei ginsenoidi in prodotti di natura vegetale ed integratori alimentari^(24,25) ma anche nel plasma di coniglio⁽²⁶⁾. La metodica di seguito riportata è uno schema sintetico utile al ricercatore per organizzare le analisi. Si consiglia di fare riferimento al testo originale.

Simultanea determinazione di cinque ginsenoidi nel plasma di coniglio²⁶

Estrazione del campione

A 0,3 ml plasma si aggiungono 0,1 ml di digossina quale standard interno. Si procede quindi con una estrazione in fase solida caricando il campione su una colonnina di estrazione Supelco C18 (Supelco, Bellefonte, PA, USA) precedentemente condizionata con 3 ml di alcol metilico. Gli analiti sono eluiti con alcol metilico che viene quindi portato a secco sotto flusso di azoto. Il residuo secco viene ricostituito con 0,1 ml di una soluzione acetonitrile ed acqua (23: 77 v/v) e il surnatante viene quindi iniettato nella strumentazione.

Condizioni strumentali

Colonna cromatografica: Zorbax SB- C18 (2.1 mm x 150 mm x 5.0 µm)

Fase mobile A: 60% Acqua: Acido Acetico 0.01%

Fase mobile B: 40% Acetonitrile: Acido Acetico 0.01%

Modalità di separazione: gradiente (fase mobile B: dal 23 al 45% per i primi 10 minuti, mantenuto al 45% per 6 minuti, dal 45 al 90% in un minuto e mantenuto a 90% per alcuni minuti prima di ritornare alle condizioni iniziali)

Flusso: 0.2 ml/min

Volume di iniezione: 10 µl

Energia di collisione: 17 V

Temperatura della sorgente: 350°C

Voltaggio del capillare: 3,5 kV

Rivelatore: spettrometro di massa con interfaccia elettrospray in modalità negativa.

Tempi di ritenzione delle sostanze ricercate

Rg1: 8,5 min

Re: 8,7 min

Rf: 13,0 min

Rb1: 14,0 min

Rd: 16,0 min

Digossina (standard interno): 12,8 min

Frammenti caratteristici delle sostanze ricercate

Rg1: m/z 859

Re: m/z 945

Rf: m/z 799

Rb1: m/z 1107

Rd: m/z 945

Digossina (standard interno): m/z 779

Standard

Gli standard dei ginsenoidi Rg1, Rf, Re, Rd e Rb1 sono stati comprati presso il Centro di Controllo Prodotti Farmaceutici e Biologici (Control of Pharmaceutical and Biological Products - Beijing China). Lo standard interno Digossina era in possesso del laboratorio.

Curva di calibrazione

Tutte le soluzioni madri di ciascun ginsenoide sono preparate utilizzando come solvente una miscela di alcol metilico e acqua (80% v/v). Le soluzioni di lavoro di ciascun analita sono state preparate mediante diluizione della rispettiva

soluzione madre. Gli standard di calibrazione (range di concentrazione 1,24-994,0 ng/ml per Rg1, 0,50-400,0 ng/ml per Rf, 0,75-600,0 ng/ml per Re, 1,50-1200,0 ng/ml per Rd e 2,90-2320,0 ng/ml per Rb1) erano preparati quotidianamente aggiungendo le soluzioni di lavoro a concentrazione nota a campioni di plasma di controllo di coniglio.

Risultati

La presente metodica ha permesso l'identificazione dei ginsenosidi nel plasma di coniglio dopo somministrazione endovenosa di un estratto di pianta ed ha permesso di osservare una maggiore velocità di eliminazione nel plasma di alcuni ginsenosidi (Rg1, Rf, Re) rispetto agli altri che probabilmente presentano una emivita maggiore.

Bibliografia

1. Toxnet: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/jsp/common/Toxicity.jsp?calledFrom=lite>
2. TANSAKU P, SHIBUYA M, KUSHIRO T, EBIZUKA Y. Dammareniol-II synthase, the first dedicated enzyme for ginsenoside biosynthesis, in Panax ginseng. *FEBS Lett.* 2006; 580: 5143-5149.
3. YUN TK. Brief introduction of Panax ginseng C.A. Meyer *J Korean Med Sci.* 2001; 16: s3-s5.
4. PARK HJ, KIM DH, PARK SJ, KIM JM, RYU JH. Ginseng in Traditional Herbal Prescriptions *J Ginseng Res.* 2012; 36: 225-241.
5. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_1268_listaFile_itemName_2_file.pdf
6. JING-TIAN XIEA, SANGEETA R, MEHENDALEA, ANBAO WANGA, AUNG H, HANA, JI AN WUA, JOACHIM OSINSKIA, CHUN-SU YUANA, American ginseng leaf: ginsenoside analysis and hypoglycemic activity *Pharmacological Research.* 2004; 49: 113-117.
7. KIM HG, YOO SR, PARK HJ, LEE NH, SHIN JW, SATHYANATH R, CHO JH, SON CG. Antioxidant effects of Panax ginseng C.A. Meyer in healthy subjects: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 2229-2235.
8. PARK J, CHO JY. Anti-inflammatory effects of ginsenosides from Panax ginseng and their structural analogs. *African J Of Biotechnology.* 2009; 8: 3682-3690.
9. ERNST E. Panax ginseng: An Overview of the Clinical Evidence. *J Ginseng Res.* 2010; 34: 259-263.
10. BAEG IH AND SEUNG-HO SO. The world ginseng market and the ginseng (Korea). *J Ginseng Res.* 2013; 37: 1-7.
11. NOCERINO E, AMATO M, IZZO A. The aphrodisiac and adaptogenic properties of ginseng. *Fitoterapia* 2000; 71: S1-S5.
12. BLUMENTHAL M, GOLDBERG A, BRINKMANN J. *Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs.* Austin, TX 2000: 170-177.
13. ENGELS H-J, SAID JM, WIRTH JC. Failure of chronic ginseng supplementation to affect work performance and energy metabolism in healthy adult females. *Nutr Res.* 1996; 16: 1295-1305.
14. THOMPSON C, EDZARD E. Panax ginseng. A Systematic Review of Adverse Effects and Drug Interactions. *Drug Saf.* 2002; 25: 323-344
15. SOTANIEMI EA, HAAPAKOSKI E, RAUTIO A. Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Care.* 1995; 18: 1373-1375.
16. VUKSAN V, STARVO MP, SIEVENPIPER JL. Similar postprandial glycemic reductions with escalation of dose and administration time of American ginseng in type 2 diabetics. 2000; 23: 1221-1226.
17. GURLEY BJ, GARDNER SF, HUBBARD MA. Clinical assessment of effects of botanical supplementation on cytochrome P450 phenotypes in the elderly: St John's wort, garlic oil, Panax ginseng and Ginkgo biloba. *Drugs Aging* 2005; 22: 525-39.
18. GURLEY BJ, GARDNER SF, HUBBARD MA, WILLIAMS DK, GENTRY WB, CUI Y, ANG CYW. Cytochrome P450 phenotypic ratios for predicting herb-drug interactions in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 2002; 72: 276-287.
19. BILGI N, BELL K, ANANTHAKRISHNAN AN, ATALLAH E. Imatinib and Panax ginseng: a potential interaction resulting in liver toxicity. *Ann Pharmacother.* 2010; 44: 926-928.
20. YANG GF, HUANG X. Development of quantitative structure-activity relationships and its application in rational drug design. *Curr Pharm Des.* 2006; 12: 4601-11.
21. JANETZKY K, MORREALE AP. Probable interaction between warfarin and ginseng. *Am J Health-Syst Pharm* 1997; 54: 692-3.
22. JONES BD, RUNIKIS AM. Interaction of ginseng with phenelzine. *J Clin Psychopharmacol.* 1987; 7: 201-2.
23. ZHANG J, ZHOU F, WU X, GU Y, AI H, ZHENG Y. 20(S)-Ginsenoside Rh2 noncompetitively inhibits P-glycoprotein in vitro and in vivo: a case for herb-drug interactions. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 2179-2187.
24. HARKEY MR, HENDERSON GL, GERSHWIN ME, STERN JS, HACKMAN RM. Variability in commercial ginseng products: an analysis of 25 preparations *Am J Clin Nutr.* 2001; 73: 1101-1106.
25. JI QC, HARKEY MR, HENDERSON GL, GERSHWIN ME, STERN JS, HACKMAN RM. Quantitative Determination of ginsenoside by high-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Phytochem Anal.* 2001; 12: 320-326.
26. YU K, MA YA, SHAO Q, QU H, CHENG Y. Simultaneously determination of five ginsenosides in rabbit plasma using solid-phase extraction and HPLC/MS technique after intravenous administration of 'SHENMAI' injection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007; 44: 532-539.



www.iss.it/ofad