

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

“Gli alcaloidi del veleno delle formiche di fuoco”

Relatore: Prof. Fernando Formaggio

Laureando: Sara Zuppa

Matricola: 2000309

ANNO ACCADEMICO

2023/2024

Indice

1. Introduzione	3
2. Composizione	4
2.1. Alcaloidi	4
2.1.1. Piperidinici.....	4
2.1.2. Piperidenici.....	5
2.1.3. Piridinici.....	5
2.2. Proteine	6
3. Sintesi ed estrazioni	7
3.1. Sintesi.....	7
3.1.1. Piperidine	7
3.1.2. Piperidene	8
3.2. Estrazione.....	9
3.3. Confronto.....	9
4. Apparato e attività biologiche	10
4.1. Apparato	10
4.2. Attività biologiche.....	11
4.2.1. Insetticida	11
4.2.2. Antibatterico	12
5. Usi terapeutici	12
5.1. Inibitore psoriasi.....	13
5.2. Antitumorale.....	13
6. Problemi all'uomo e all'ambiente	14
6.1. Attacchi all'uomo.....	14
6.1.1. Reazioni locali	15
6.1.2. Reazioni sistemiche	15
7. Controllo dell'invasione	15
7.1. Insetticidi botanici	16
7.1.1. Controllo a contatto	16
7.1.2. Repellenti	16
7.1.3. Fumigazione.....	17
7.1.4. Nuovi composti.....	17
8. Conclusioni	18
9. Bibliografia	19

1. Introduzione

Le formiche di fuoco sono delle specie invasive conosciute per il loro comportamento aggressivo e per le loro punture. Sono diventate una preoccupazione in molti stati a causa dell'impatto negativo che hanno sulla salute dell'uomo, sugli altri organismi, l'agricoltura e l'ambiente. Questa invasione è stata facilitata dall'uso del loro veleno, utilizzato per cacciare, sconfiggere avversari o come misura difensiva contro gli agenti patogeni; in questo modo



Figura 1. *Solenopsis invicta*

potrebbero essere riuscite ad invadere velocemente diverse aree stabilendo nuove popolazioni o addirittura rimpiazzando le specie native.

Le specie invasive più conosciute sono le formiche rosse *Solenopsis invicta* (RIFA, *Red Imported Fire Ant*) (figura 1) e le formiche nere *Solenopsis richteri* (BIFAm *Black Imported Fire Ant*) (figura 2); è nota anche un tipo di formica ibrida (HIFA) tra queste due specie. In

generale
entrambe
appartengono al

gruppo di specie *Solenopsis saevissima*.

Il veleno di queste formiche di fuoco è caratterizzato principalmente da alcaloidi insolubili in acqua e da un piccolo numero di proteine idrosolubili. Riuscendo a identificare gli alcaloidi in entrambe le specie si sono potute constatare le caratteristiche intrinseche e a riconoscere la specie ibrida.



Figura 2. *Solenopsis richteri*

Il veleno è prodotto da ghiandole specializzate connesse ad un pungiglione. Questo fa sì che raggiunga l'organismo nemico alterandogli la sua normale fisiologia o i suoi processi biochimici. Il nome formiche di fuoco deriva proprio dalla sensazione di bruciore e dolore avvertiti una volta punti.

Ma proprio gli effetti negativi del veleno possono essere sfruttati a nostro vantaggio. Ad esempio, può essere usato come insetticida e antibatterico. In particolare, come antibatterico, è usato per ridurre la formazione di biofilm da parte dei microorganismi, problematica riguardante sia la salute sia ambiti industriali.

Sempre riguardo alle applicazioni positive che il veleno può avere, si sono cominciati a studiare i suoi possibili effetti terapeutici. In particolare, come attualmente in studio su animali, si è visto che potrebbe agire da antitumorale mediante inibizione della via del segnale PI3k. Oltre a questo, è noto sia efficace contro la psoriasi e che potrebbe avere effetti cardiodepressori.

Nonostante ciò, le formiche rimangono un reale problema per i paesi invasi, tra cui recentemente anche l'Italia essendo approdate in Sicilia. Seppur non estremamente pericolose per l'uomo, la loro aggressività è un grande problema dal punto di vista ambientale. Le loro punture causano infiammazione, prurito e reazioni allergiche, fino all'anafilassi, a causa della presenza sia di alcaloidi che di proteine allergeniche.

Per contrastare l'invasione sono in corso nuovi studi per cercare di combatterle in maniera sostenibile, cercando di trovare formulazioni efficaci ma anche facilmente biodegradabili e che non danneggino piante e animali.

2. Composizione del veleno

Il veleno delle formiche di fuoco è composto alcaloidi piperidinici, piperideinici e piridinici per il 99%. L'altro 1% è formato da proteine idrosolubili e peptidi. [1]

2.1. Alcaloidi

2.1.1. Piperidinici

Nelle specie *Solenopsis invicta* e *richteri* i primi alcaloidi scoperti sono stati una serie di 2-metil-6-alcil o alchenil piperidine, dove i carboni nella posizione 2- e 6- nell'anello piperidinico sono chirali (figura 3). La configurazione assoluta degli alcaloidi piperidinici nelle specie di *S. invicta* e *richteri* è 2R,6R per gli isomeri *trans* e 2R,6S per gli isomeri *cis*. Gli altri due diastereomeri sono stati trovati solo nella *S. saevissima*. La configurazione degli alcaloidi è quindi molto utile per differenziare le varie specie.

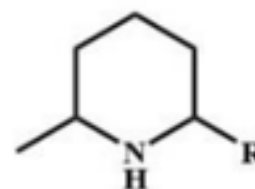


Figura 3. 2-metil-6-alcil/alchenil piperidina

Questi alcaloidi piperidinici sono stati comunemente chiamati solenopsin A, B, C e D in base alla lunghezza della catena alchilica nella posizione 6 dell'anello piperidinico (A: C11, B: C13, C: C15, e D: C17).

Ogni specie ha i propri alcaloidi piperidinici. Infatti, nelle formiche operaie si hanno C13, C13:1, C15, e C15:1; mentre nelle operaie *S. richteri* C11, C11:1, C13 e C13:1. I doppi legami nella catena laterale sono principalmente nella configurazione *cis*, anche se gli isomeri *trans* C13:1 e C15:1 sono stati comunque trovati nel veleno. Questi profili cambiano anche in base alla socialità delle formiche. Infatti, nelle colonie monogine, quindi dove c'è solo una regina che depone le uova, c'è più abbondanza di alcaloidi saturi, al contrario nelle poligine, più ricche di insaturi.

La dipendenza si correla anche al tipo di ruolo delle formiche; gli isomeri *trans* sono di solito più abbondanti nelle formiche operaie, il cui ruolo principale è di procurare cibo, mentre nelle formiche alate, atte alla riproduzione, sono più abbondanti gli isomeri *cis* e *trans* C11:1 (figura 4).

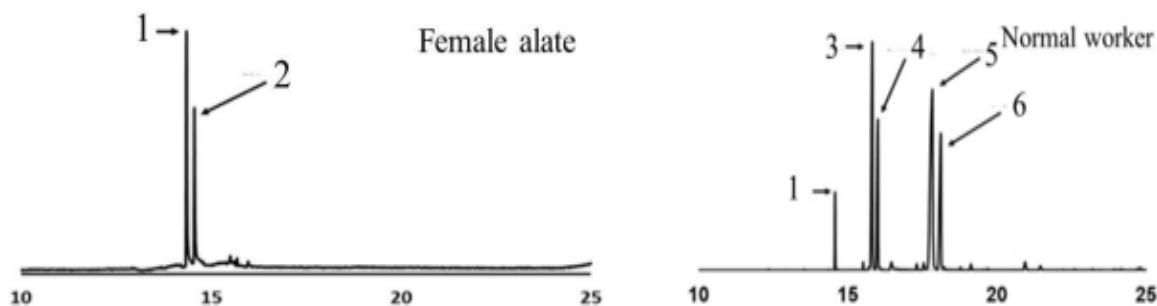


Figura 4. Cromatogrammi di formiche alate e operaie: 1= cis C11:1, 2= trans C11:1, 3= trans C13:1, 4= trans C13:1, 5= trans 15:1, 6= trans C15 (1)

La produzione di veleno invece, dipende dall'età, dalla dimensione del corpo e dalla stagione. In particolare, le formiche di media età ne producono di più rispetto alle giovani e alle più anziane.

2.1.2. Piperidenici

Parecchi anni dopo la scoperta dei primi alcaloidi, sono stati identificati [1] in entrambe le specie gli alcaloidi 2-metil-6-alchil o alchenil piperidenici. Il doppio legame (Δ) può essere sia in posizione 1,2 che in posizione 1,6; creando due ulteriori isomeri (figura 5). Hanno, simili agli alcaloidi piperidinici, le catene laterali di 9, 11, 13, 15, e 17.

I doppi legami di Δ 1,2 e Δ 1,6 C11 piperidenici possono essere ridotti a piperidine cis e trans C11; si pensa che il loro rapporto 4:1 sia legato alla biosintesi degli alcaloidi piperidinici delle due specie di *Solenopsis* trattate, sulla base di un confronto con i componenti principali del veleno di un'altra specie *S. aurea*.

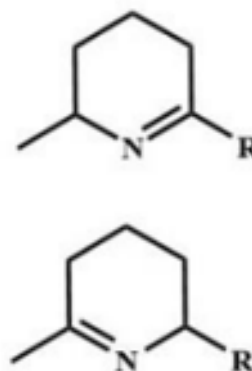


Figura 5. 2-metil-6-alchil/alchenil-6-piperidene e 2-metil-6-alchil/alchenil-1-piperidene

Enzimi enantioselettivi presenti nelle specie si pensa servano per ridurre gli alcaloidi piperidenici Δ 1,2 nella configurazione 2R,6R e Δ 1,6 parzialmente anche nella configurazione 2R,6S. Dato che gli alcaloidi Δ 1,2 e Δ 1,6 non sono quantitativamente distinguibili, si pensa che queste riduzioni siano entrambe importanti per la biosintesi degli alcaloidi piperidinici trans.

Questo tipo di alcaloidi sono stati identificati molto dopo gli alcaloidi piperidinici poiché sono poco abbondanti e a causa della loro struttura molto simile ai piperidinici che non consente una separazione gascromatografica adeguata.

2.1.3. Piridinici

Nel 2019 [2] sono stati trovati anche alcaloidi piridinici (figura 6) nel veleno delle formiche di fuoco tramite HS-SPME (HeadSpace-Solid Phase MicroExtraction) accoppiata con un GC-MS.

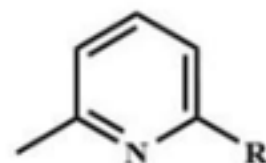


Figura 6 2-metil-6-alchil/alchenil piridina

Si sono fatte assorbire gocce di veleno delle *S. invicta* e *richteri* in carta da filtro messa poi in una vial per la microestrazione in fase solida. Sono quindi stati deassorbiti termicamente gli alcaloidi. L'operazione è stata ripetuta 6 volte con un tempo di deassorbimento più breve. Si è quindi iniettato nel cromatografo gas massa.

Alla prima iniezione tutti i picchi GC degli alcaloidi piridinici erano nascosti da quelli piperidinici e piperidenici. Alla seconda iniezione il picco degli alcaloidi piperidinici era diminuito ma i piridinici erano ancora nascosti dai piperidenici; grazie alle successive iniezioni i picchi si sono ridotti a tal punto da riuscire a riconoscere i piridinici (figura 7). Questo è dovuto alla diversa velocità di deassorbimento dei diversi tipi di alcaloidi.

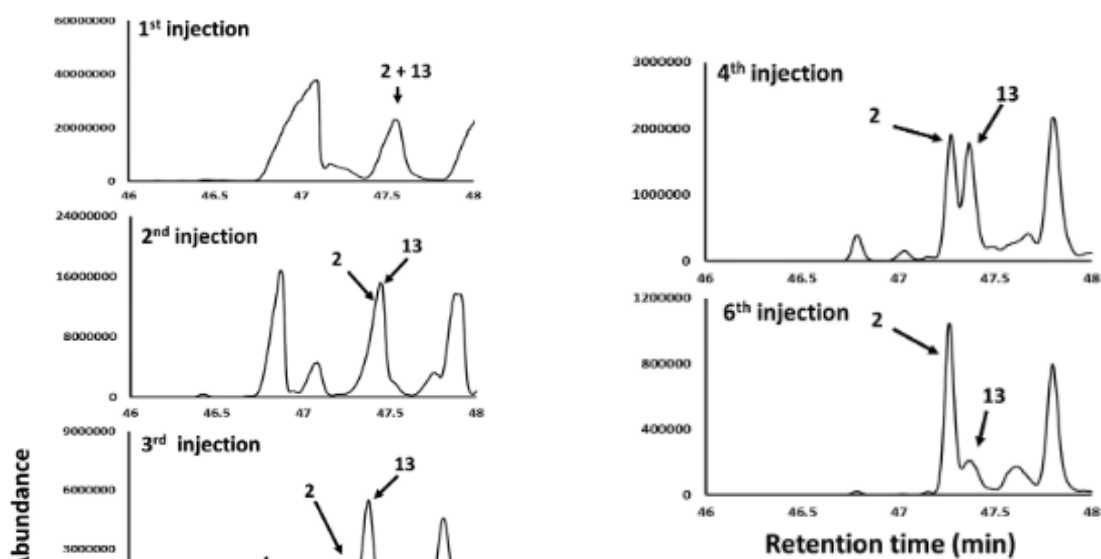


Figura 7. Cromatogrammi di 5 iniezioni SPME, 2: piridina, 13: piperidina (2)

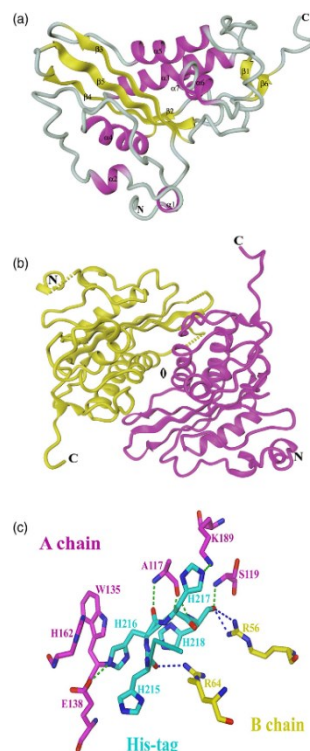
2.2. Proteine

Legate alle proteine sono le reazioni allergiche che derivano dalla puntura delle formiche di fuoco. Con la cromatografia a gel filtrazione e a HP scambio cationico, sono stati isolati e caratterizzati [3] quattro allergeni: Sol i 1, Sol i 2, Sol i 3 (figura 8), e Sol i 4.

Le proteine più abbondanti nella specie *S. invicta* sono Sol i 2 e Sol i 3; gli allergeni più potenti sono considerati Sol i 2 e Sol i 4. Tra i diversi ruoli delle formiche si sono identificate diverse isoforme con circa un 75.6% di sequenza identica.

Tra le 46 proteine identificate nel veleno di *S. invicta*, la più abbondante è una pseudetochetoxin, una proteina simile a quelle presenti nella scolopendra (millepiedi). Queste proteine sono divise in quattro gruppi: componenti del veleno, proteine per la casa, per il corpo e altre per la comunicazione chimica. Quelle del veleno sono

Figura 8. Struttura molecolare di Sol i 3 ottenuta per diffrazione dei raggi X di cristalli.



state ulteriormente categorizzate in base alle loro funzioni: protezione, prevenire infezioni nella colonia e sempre per la comunicazione chimica. Le tossine invece sono divise in: neurotossine, allergeni e proteine che causano l'infiammazione dei tessuti e altre che promuovono la diffusione del veleno.

Le proteine nelle *S. richteri* possono differire rispetto alle *S. invicta*. Ci sono gli omologhi Sol i 1, Sol i 2 e Sol i 3 ma non di Sol i 4. Gli ibridi hanno proteine che invece non si trovano nelle loro specie d'origine.

3. Sintesi ed estrazioni

3.1. Sintesi

Si sono cercati di produrre degli analoghi in laboratorio del veleno naturale per riuscire a capire più facilmente le sue applicazioni senza doverlo estrarre. Si sono proposti diversi metodi di sintesi, diversi per i vari tipi di alcaloidi.

3.1.1. Piperidine

Una delle sintesi proposte [4] per Solenopsin A, quindi con catena laterale C11, parte da un addotto di alanina (1), questa viene sottoposta a idroborazione con una reazione successiva di NaOH/H₂O₂. Si ottiene con una buona regioselettività (2), che viene poi trattato con MeSO₂Cl/Et₃N ottenendo il mesilato (3). Si è usato per il processo successivo senza ulteriori purificazioni. Per idrogenazione catalitica si è rimosso da N il gruppo benzilico e così N ha potuto attaccare il C con il mesilato, gruppo uscente, ottenendo un prodotto ciclico (4). Per introdurre la catena laterale nel (5) si è usato sec-BuLi/TMEDA (Tetra MEtil Etilen Di Ammina) a -30°C con DMF(-78°C); con condizioni di Wittig si è trasformato il (5) in (6) tramite la reazione del deciltrifenilfosfonio bromuro/n-BuLi/THF a -78°C. Un'idrogenazione catalitica ha dato il (7). Il gruppo protettore TBS (*tert*-butil-dimetil-silil) in posizione 3 si è tolto tramite Bu₄NF/THF ottenendo (8). La riduzione con NaBH₃CN/acido acetico e il successivo trattamento con acido trifluoroacetico (TFA, rimuove il Boc) portano ad avere (9) all'88%.

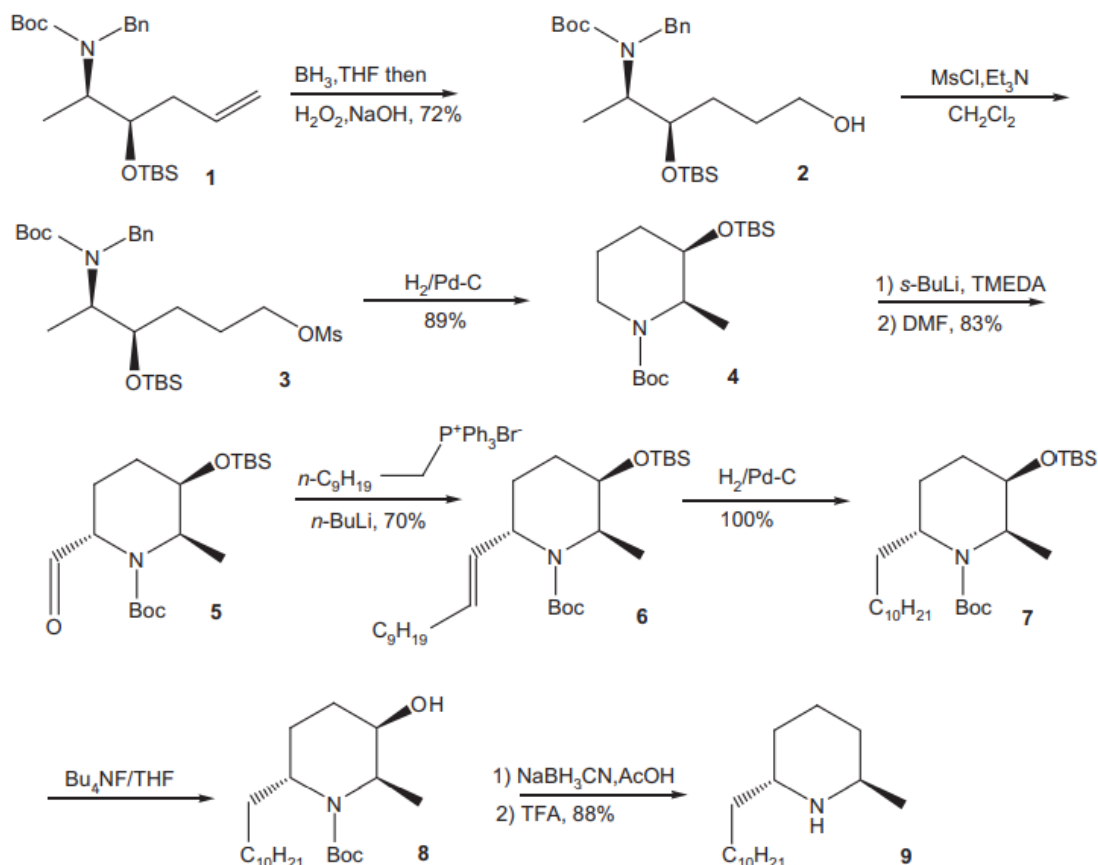


Figura 9. Sintesi di solenopsin A. ⁽⁴⁾

3.1.2. Piperidene

Si è sintetizzato ^[5] il 2-metil-6-alcil- Δ 1,6-piperidene invece con questa via sintetica:

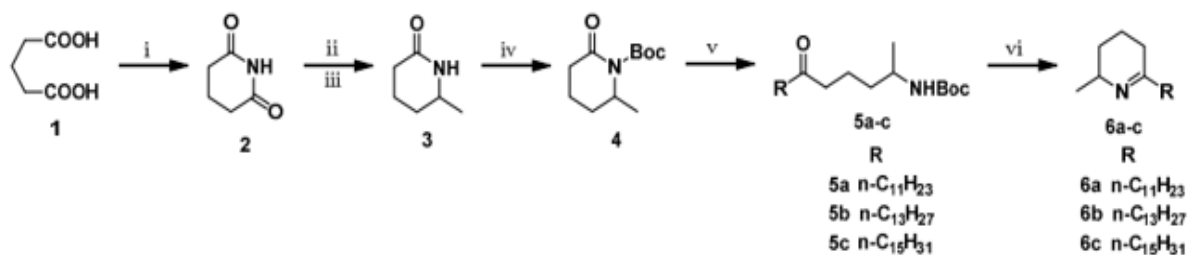


Figura 10. Sintesi del piperidene. ⁽⁵⁾

È stato usato l'acido glutarico (1) e l'urea come materiali di partenza, questi hanno reagito ad alta temperatura, ottenendo così la glutarimide (2). Successivamente uno dei gruppi carbonili dell'anello è stato convertito in un gruppo metilico (3) tramite reazione del composto (2) con il reattivo di Grignard $\text{CH}_3\text{-MgBr}$ e una reazione successiva con NaBH_3CN in HCl concentrato. Lo step chiave è stata la generazione di un N-Boc-amminochetone (5a-c) dal composto (4), che aveva reagito con dei reagenti di Grignard causando l'apertura dell'anello.

Il composto voluto (6a-c) è stato ottenuto tramite ciclizzazione catalitica del composto (5a-c) con HCl concentrato.

3.2. Estrazione

Per ottenere gli alcaloidi naturali estraendoli dalle IFA, si è invece sviluppata una tecnica [6] semplice e veloce.

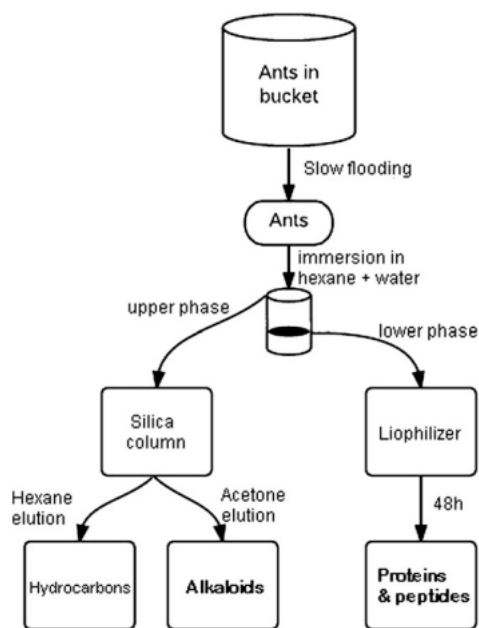


Figura 11. Schema di estrazione degli alcaloidi dalle formiche di fuoco. (6)

Dopo aver separato le formiche dal nido con acqua, le si mettono in un bicchiere largo insieme ad una piccola quantità di acqua distillata (o soluzione tampone) con una quantità un po' più elevata di un solvente apolare come l'esano, perché meno volatile rispetto per esempio all'etere. La miscela si separerà quindi in due fasi, in modo che il volume del solvente organico immerga completamente le formiche.

Una volta che le formiche vengono a contatto con il solvente organico, rilasciano il loro veleno annegando e morendo rapidamente.

Con un imbuto separatore si estrae la fase organica (meno densa) che contiene sia gli alcaloidi del veleno, sia idrocarburi cuticolari; questi ultimi possono essere separati dagli alcaloidi mediante cromatografia su colonna di silice. Si eluisce con esano per far uscire gli idrocarburi (meno polari) e successivamente con

acetone per far uscire gli alcaloidi.

La parte più densa acquosa, contiene invece le proteine, che riescono a venire estratte tramite precipitazione.

3.3. Confronto

Gli alcaloidi piperidenici di sintesi si sono anche confrontati [5] con gli alcaloidi naturali estratti (figura 12). Poiché con l'estrazione si è ovviamente ottenuta una miscela di alcaloidi, è stato necessario un passaggio di purificazione in una colonna di silice e quindi in un gas cromatografo per isolare gli alcaloidi con R alchilico o alchenilico.

In entrambe le frazioni di alcaloidi le Δ 1,6-piperidene hanno picchi caratteristici a 96 e 111 m/z, mentre le Δ 1,2-piperidene a 96, 97 e 110 m/z.

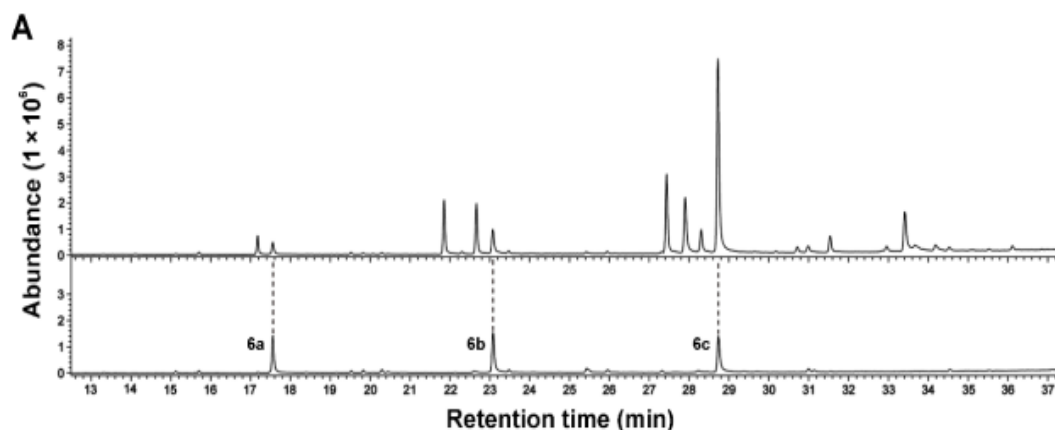


Figura 12. Cromatogrammi GC-MS degli alcaloidi cis estratti (traccia superiore) e dei composti 6a-c sintetizzati (traccia inferiore) [5]. (5)

Ciò conferma la riuscita della sintesi e dell'effettiva presenza della Δ 1,6 piperidine nelle formiche di fuoco *S. invicta*.

4. Apparato e attività biologiche

4.1. Apparato

L'apparato delle formiche di fuoco legato al veleno comprende un pungiglione, una sacca del veleno e due ghiandole, una del veleno e una Dufour (figura 13).

La ghiandola del veleno è connessa con la sacca e la sua funzione principale è di sintetizzare i componenti del veleno che vengono poi immagazzinati lì. La ghiandola di Dufour è accessoria e consiste in una fila di cellule cuboidali che producono feromoni.

I muscoli attorno alla base del pungiglione si contraggono per controllare il suo movimento per penetrare la pelle negli attacchi. Alla base del pungiglione invece c'è una valvola che connette i muscoli per aprire o chiudere la sacca.

Non ci sono fibre muscolari associate alla sacca del veleno; tuttavia, la forza dell'iniezione del veleno probabilmente è abbastanza per permettere la contrazione. [7]

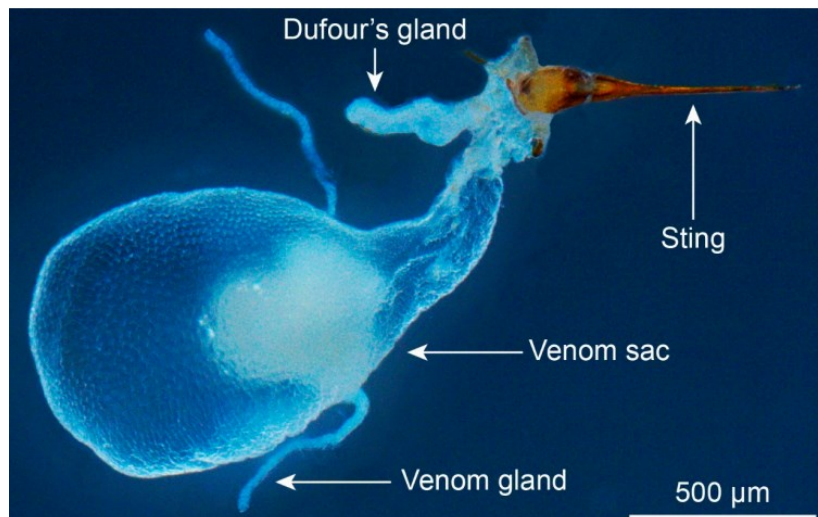


Figura 13. Apparato del veleno nelle formiche (?)

4.2. Attività biologiche

Gli alcaloidi piperidinici del veleno delle formiche di fuoco hanno diverse attività biologiche, come insetticida e antibatterica, che sono le più importanti per la loro sopravvivenza. [7]

4.2.1. Insetticida

Il veleno di queste formiche è risultato tossico per diversi tipi di insetti, come la mosca o i moscerini della frutta.

Spesso usano il loro veleno contro altre specie per la competizione delle risorse. In particolare, hanno alta attività insetticida contro i bruchi. Una volta punti nel torace dorsale hanno immediate contrazioni, mostrano paralisi e una colorazione scura, seguita dalla morte. Il cambiamento di colorazione si pensa che potrebbe risultare da un accumulo di melanina nel tegumento.

Per le specie di formiche di fuoco, si è visto come le *S. geminata* siano più tossiche rispetto alle *S. invicta*. Essendo le prime più ricche di piperidine sature con una catena laterale corta, si pensa che questo tipo di piperidine siano più tossiche rispetto a quelle con una catena laterale più lunga.

Tuttavia, si è notato in altri studi che quest'ipotesi possa non essere del tutto corretta dal momento che, valutando la tossicità di *cis*- e *trans*-C11, si è mostrata essere circa uguale rispetto a *cis*-, *trans*-C13 e *trans*-C15, ma più alta rispetto a *cis*-C15.

Inoltre, a sostegno di questo dubbio, si è visto anche che le formiche poligine sono più tossiche rispetto a quelle monogine. Ma, come riportato nella composizione, le formiche poligine hanno un numero più alto di alcaloidi insaturi rispetto a quelle monogine.

Si può concludere in generale che sia 2-metil-6-alchilpiperidine sia 2-metil-6-alchenilpiperidine sono buoni repellenti, in particolare con la catena laterale di carbonio corta e in configurazione *cis* se presente un alchene. Dato che le *S. invicta* contengono principalmente isomeri *trans*, sono meno deterrenti rispetto alle altre specie.

4.2.2. Antibatterico

È stato studiato [7] come il veleno delle formiche fungesse da antibatterico contro *micrococcus pyogenes*, *streptococcus pyogenes* o *escherichia coli*.

I primi due, Gram positivi, sono più sensibili a *trans*-C11, *trans*-C13 e *trans*-C15 rispetto ai Gram negativi; l'attività di queste piperidine tende a diminuire con l'aumento della lunghezza della catena laterale. Tuttavia, questa scala di attività potrebbe non essere corretta, perché alla stessa concentrazione si è visto [8] che *trans*-C11 ha meno effetto rispetto al *trans*-C13 contro l'*E. Coli*.

In particolare, si è testato l'effetto del veleno contro il (CMM), un batterio Gram positivo che causa alle piante di pomodoro una malattia altamente distruttiva come il cancro batterico. Sia gli alcaloidi piperidinici che piperidenici hanno mostrato alta attività inibitoria contro il CMM. Sembra che le piperidine uccidano direttamente il batterio o che inibiscano la sua divisione cellulare.

Un altro particolare uso è quello di inibire la formazione di biofilm (figura 14), una problematica che interessa un gran numero di superfici esposte, a partire dall'acciaio inossidabile, fino alle infiammazioni urinarie o rigetto di protesi. È un importante fattore di perdita economica sia dal punto di vista della salute, sia da quello industriale a causa del deterioramento che causa ai materiali e ai cibi.

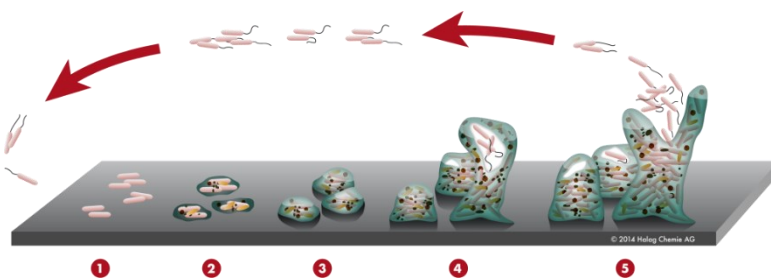


Figura 14. Formazione di biofilm. (9)

I microorganismi una volta secreto il loro biofilm diventano molto più resistenti ai disinfettanti. Questi sono tipicamente composti organici con alogeni o perossidi, acidi inorganici o detergenti anionici, molti dei quali hanno alta tossicità e sono difficilmente biodegradabili.

Si è visto [10] come i solenopsin avessero attività antimicrobica in una concentrazione tra 750 a 5000 µg/ml contro un batterio Gram negativo *Pseudomonas fluorescens*, attualmente largamente studiato. Oltre ad avere effetto antiadesivo su polistirene e acciaio inossidabile, hanno mostrato anche capacità di ridurre i biofilm già preformati sul polistirene.

Il meccanismo di questa azione antimicrobica rimane ancora poco chiaro; tuttavia, si pensa che induca un cambio di permeabilità nella membrana plasmatica, inducendo una perdita delle componenti cellulari. Per quanto riguarda invece l'inibizione della formazione di biofilm, gli alcaloidi sembra agiscano grazie alla loro anfipaticità che potrebbe portare a un cambiamento nelle caratteristiche fisico-chimiche della superficie.

5. Usi terapeutici

Nonostante gli effetti negativi che il veleno può portare all'uomo, la sua composizione particolare potrebbe avere delle applicazioni terapeutiche.

Infatti, [11] si è visto che le piperidine stimolano le cellule a rilasciare istamina. In particolare, sia la *solenopsin A*, che l'*isosolenopsin A*, (*cis*- e *trans*-2-metil-6-undecenil-piperidina) interferiscono con l'accoppiamento tra i canali ionici e il riconoscimento dei siti dei recettori nicotinici (recettori colinergici presenti nella membrana plasmatica di alcuni neuroni e nella porzione postsinaptica delle giunzioni muscolari). Essendo l'istamina un vasodilatatore causa rigonfiamento e rossore nel luogo della puntura.

Si è visto inoltre che iniettando il veleno all'interno delle vene di un topo, gli alcaloidi danneggiano le cellule nervose e il sistema cardiovascolare, con la conclusione che gli alcaloidi possono penetrare all'interno della barriera ematoencefalica.

5.1. Inibitore psoriasi

Si è pure riscontrata la capacità del *solenopsin* di inibire i i sintomi della psoriasi, una malattia infiammatoria cronica della pelle [12].

Un componente importante nella barriera della pelle è la ceramide che, una volta sviluppata la malattia, si idrolizza in sfingosite-1-fosfato (S1P), un mediatore della crescita delle cellule, dell'infiammazione e della carcinogenesi. Il *solenopsin* può avere lo stesso ruolo della ceramide, ma non può essere degradato in S1P e può essere quindi usato come barriera per la pelle.

5.2. Antitumorale

Si sono infine testati [13] i possibili effetti antitumorali di questo veleno, sostenuti dalle recenti scoperte in questo ambito per quanto riguarda il veleno di api, serpenti, rane e scorpioni. Tali veleni promuovono apoptosi, autofagia e lisi delle cellule tumorali, inibendo inoltre la loro proliferazione, adesione e migrazione. L'apoptosi delle cellule tumorali viene promossa inibendo l'attivazione della fosfoinositide 3-chinasi (PI3k) e della fosfo-Akt (p-Akt) (figura 15).

L'iperattivazione della via del segnale PI3k ha un ruolo fondamentale nell'angiogenesi, dato che porta a una proliferazione cellulare incontrollata:

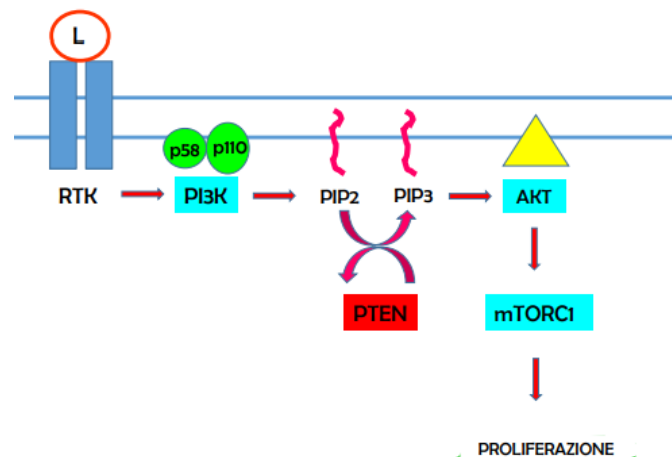


Figura 15. Meccanismo della via del segnale PI3k (14)

Si è visto [15] che le *solenopsin A* inibiscono l'attivazione di PI3K; quindi la fosforilazione di Akt alla Thr308 e Ser473 e la fosforilazione di FOXO1A, un substrato fisiologico di Akt.

6. Problemi all'uomo

Nelle aree rurali, le formiche di fuoco attaccano persone e animali. Inoltre, danneggiano aziende agricole, sistemi elettrici e d'irrigazione. Oltre a questo, costruiscono le colonie spesso lungo le pareti di edifici o sotto i pavimenti. Disturbando queste colonie le IFA reagiranno pungendo tutto ciò che a portata una volta in superficie.

6.1. Attacchi all'uomo

Solitamente tra il 20 e il 60% degli abitanti di aree infestate vengono morsi dalle formiche. In particolare, la fase più grave riguarda le prime tre settimane circa in cui le formiche hanno appena infestato una nuova area. [16]

Pungono tipicamente più i bambini e in generale le estremità del corpo (figura 16). Quando pungono, spesso possono farlo più volte se non vengono rimosse velocemente. Gli effetti della puntura, da cui deriva il loro appellativo "di fuoco", sono caratterizzati da un immediato bruciore intenso e prurito causato dal rilascio di istamina e dalla sua attivazione di una fibra neurale. Sembra che questo tipo di effetto sia limitato al periodo estivo a causa della diversa concentrazione di proteine durante le diverse stagioni.



Figura 16. Effetti della puntura. [17]

Per la bassa percentuale di proteine presenti nel veleno, le loro punture sono diverse dagli altri insetti. Il veleno infatti possiede attività emolitica, neurotossica e citotossica e ha l'abilità di inibire la pompa sodio potassio, cioè la Na⁺/K⁺ ATPasi, ridurre la respirazione mitocondriale e disaccoppiare la fosforilazione.

Oltre a questo, inibisce anche l'ossido nitrico sintasi, promuovendo un broncospasmo durante l'anafilassi e interferendo negativamente con la funzione cardiaca.

Tutte queste proprietà contribuiscono all'attivazione del sistema della coagulazione e a una forte anafilassi in alcuni pazienti, che può raggiungere un picco di gravità 15-30 minuti dopo la puntura.

Ci possono essere ulteriori complicazioni nel caso siano coinvolte anche infezioni batteriche.

Le reazioni possono essere classificate come locali o sistemiche. [18]

6.1.1. Reazioni locali

Le reazioni locali si suddividono ulteriormente come pomfo-fiammata con pustola sterile e una vasta reazione locale. Tutti gli individui punti subiscono la prima in 20 minuti, seguita da 24 ore di lesione necrotica, cioè una pustola sterile. Questa può perdurare anche per diversi giorni. La pelle sopra questa pustola si erode tra i 2 e 4 giorni. Non è da sottovalutare perché l'escoriazione potrebbe portare a gravi infezioni.

Le vaste reazioni locali sono invece prima risposte di pomfo-fiammata mediate da IgE, seguite da prurito ed eritemi che perdurano tra uno a 4 giorni.

Le risposte IgE sono indotte dalle proteine Sol 1-4, mentre gli alcaloidi inducono la pustola sterile.

6.1.2. Reazioni sistemiche

Questo tipo di reazioni spaziano tra manifestazioni cutanee come orticaria, angioedema, prurito, eritema fino a manifestazioni letali di broncospasmo, edema laringeo o ipotensione. Non ci sono dati esatti dell'incidenza dell'anafilassi ma un'indagine ha riportato che tra l'1 e 16% delle persone punte potrebbero subirla.

7. Controllo dell'invasione

Attualmente, date le problematiche che stanno causando a diversi stati, si sono cominciate a cercare [19] delle alternative *green* agli attuali agenti di controllo, quali insetticidi come l'indoxacarb (figura 17), appartenente alla classe delle ossadiazine, e l'idrametilnon (figura 17), un composto organofluoro. Tuttavia, l'uso eccessivo di questi pesticidi è noto che causi inquinamento e colpisca anche organismi buoni per l'ecosistema, oltre che mal influenzare la salute e l'ambiente circostante.

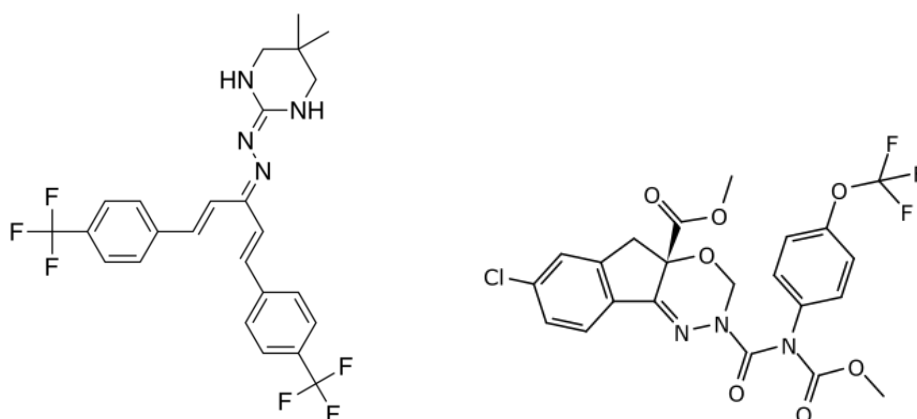


Figura 17. Strutture molecolari di indoxacarb e idrametilnon (a destra).

Si sono perciò cercate delle alternative che siano meno dannose per l'ambiente, facilmente degradabili e non inquinanti.

7.1. Insetticidi botanici

Si è studiato [19] come diverse piante, specificatamente i loro oli essenziali, abbiano attività insetticida e siano funzionali contro le formiche di fuoco. In particolare, i loro effetti includono avvelenamento allo stomaco, uccisione a contatto e fumigazione.

7.1.1. Controllo a contatto

Il controllo a contatto avviene principalmente usando l'insetticida nel formicaio e nell'area circostante.

Un esempio è il pyrethrin (figura 18), un veleno che agisce a livello dei nervi degli insetti, uccidendoli nel giro di minuti o ore. È poco tossico per gli umani o altri mammiferi ed è facilmente degradabile. Tuttavia, le api e altri organismi acquatici ne sono molto sensibili.

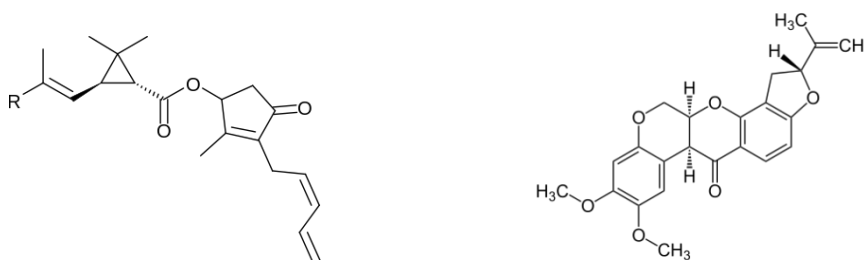


Figura 18. Strutture molecolari del pyrethrin e del rotenone (a destra).

Un altro tipo è il rotenone (figura 18), un composto prodotto principalmente nelle radici di alcuni legumi tropicali. Il rotenone interferisce con la catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri e previene la produzione di energia.

Tuttavia, si è scoperto che usandolo nei topi causava lesioni al cervello ed era correlato con casi di Parkinson, oltre al fatto che rimaneva nell'organismo per diverso tempo.

Altri insetticidi sono gli oli essenziali delle piante, come il d-limonene e l'eugenolo.

7.1.2. Repellenti

Data l'aggressività delle formiche di fuoco una volta distrutto il formicaio, si sono cercati dei metodi [19] per abbassarla o inibirla completamente. Anche se i repellenti non sono utilizzabili per prevenire che le formiche pungano, possono essere usati per evitare che invadano aree con equipaggiamento elettrico, case o ospedali, dove le loro punture potrebbero avere effetti gravi.

Alcuni oli essenziali sembrano essere utilizzabili come repellenti efficaci, come per esempio l'olio di menta; in generale sono composti volatili dato il loro basso peso molecolare. Per poterli applicare c'è bisogno di usare opportune tecnologie per arrivare ad una efficacia

sostenibile. In particolare, recentemente si è usata una tecnica di incapsulamento in nanoparticelle.

È inoltre necessario controllare la loro efficacia a diverse concentrazioni. Infatti, un particolare olio di ylang ylang si è visto essere efficiente solo ad alte concentrazioni, mentre a basse si è ottenuto l'effetto completamente opposto di attrarle. Dal momento che la concentrazione dei repellenti diminuisce con il tempo, è necessario trovare un metodo efficace per usarlo senza ottenere effetti indesiderati.

7.1.3. Fumigazione

La fumigazione del nido è possibile dal momento che i formicai sono sistemi abbastanza chiusi. Attualmente negli Stati Uniti sono utilizzati due prodotti: l'*ant-zap ant killer mound destroyer* e l'*earthfire injection system*.

Il primo è un fumigante basato sulla CO₂, il secondo usa il calore per vaporizzare l'insetticida *resmethrin*, composto di piretroidi, per poi iniettare il vapore tossico all'interno dei formicai. Dati scientifici hanno determinato il secondo più efficace del primo dato che si è trovato che riducesse l'attività del formicaio dell'84%.

7.1.4. Nuovi composti

Data la necessità di trovare nuovi metodi efficaci per il contrasto delle formiche, si sono studiate [20] nuove formulazioni di polimeri polisaccaridi come il chitosano (CS) (figura 19), buono dal punto di vista ambientale e degradabile naturalmente; è stato largamente usato nell'agricoltura data la sua efficienza come pesticida; si è visto infatti che nanoparticelle di chitosano migliorano la fotostabilizzazione, la dispersibilità in acqua e l'attività insetticida.

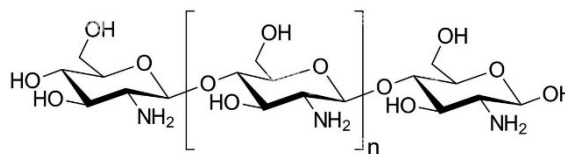


Figura 19. Struttura molecolare del chitosano.

Si è già visto che [20] nanoparticelle di chitosano inibiscono crescita e sviluppo delle formiche, dal momento che le particelle non sono facili da digerire o espellere e l'attività degli enzimi digestivi risulta ridotta. Questa modifica dell'attività degli enzimi comporta una mancanza nella fisiologia dell'insetto e porta alla morte. Tuttavia, il chitosano in nanoparticelle non è adeguato all'applicazione pratica dal momento che la sua efficienza non è sufficiente.

Si è deciso [21] così di unire il meccanismo d'azione delle nanoparticelle di chitosano con il rotenone per preparare un pesticida *green* con maggiore attività insetticida. Si è osservata una diminuzione dell'aggressività delle formiche e una riduzione del loro contenuto del veleno.

8. Conclusioni

L'estrazione del veleno delle formiche di fuoco ha permesso di identificare gli alcaloidi piperidinici, piperidenici e piridinici e di quantificarli nella loro composizione: sono presenti in percentuale maggiore i piperidinici.

Una volta identificati si sono trovate vie sintetiche più facili e veloci dell'estrazione in modo da poter testare più facilmente le proprietà di queste molecole.

Grazie alla disponibilità di buone quantità di alcaloidi sintetici si sono analizzate le proprietà biologiche e terapeutiche. Riguardo alle attività insetticida e antibatterica, si è trovata una possibile applicazione come inibitori del biofilm batterico e contro il cancro batterico nei pomodori. Per quanto riguarda gli usi terapeutici, si è trovato che possono sostituire la ceramide come barriera della pelle nei casi di psoriasi. Potrebbero anche avere utilizzi antitumorali. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi che approfondiscano questa tematica in modo da avere risultati certi.

Sarebbe necessario anche approfondire gli studi sulla biosintesi di questi alcaloidi, ancora non completamente chiara. In questo modo si potrebbero studiare più facilmente nuovi metodi per impedire la loro sintesi.

I nuovi metodi per fermare l'invasione delle formiche di fuoco, come le nanoparticelle di chitosano e il rotenone, sono *green* perché queste molecole sono biodegradabili, non dannose per l'ambiente e gli altri organismi, pur rimanendo efficaci nel ridurre l'aggressività delle formiche.

Per la salute dell'uomo non sono eccessivamente pericolose. Tuttavia, per persone molto suscettibili al veleno di queste formiche sarebbe necessario trovare un rimedio efficace.

L'invasione in Italia delle formiche di fuoco preoccupa più per l'ambiente e per la loro aggressività contro altre specie di animali che competono con le stesse risorse. Ciò potrebbe portare ad avere un impatto grave sulle coltivazioni.

9. Bibliografia

- (1) Chen J.; Chemistry and Functions of Imported Fire Ant Venom. *Toxins* **2023**, *15* (8), 489.
- (2) Chen J., Zhao Y., Li X., Zhao J.; Pyridine Alkaloids in the Venom of Imported Fire Ants. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, *67*, 11388-11395
- (3) Hoffman D. R., Dove D. E., Jacobson R. S.; Allergens in Hymenoptera Venom: XX. Isolation of Four Allergens from Imported Fire Ant (*Solenopsis Invicta*) Venom. *J. Allergy Clin. Immunol.* **1988**, *82* (5, Part 1), 818–827.
- (4) Arévalo-García E. B.; An Efficient Synthesis of (\pm) Solenopsin A. *Heterocyclic Communications* **2012**, *18* (2), 61–65.
- (5) Wu X., Wang G., Xu G., Chen, L.; Synthesis and Insecticidal Activity of Fire Ant Venom Alkaloid-Based 2-Methyl-6-Alkyl- Δ 1,6-Piperideines. *Molecules* **2022**, *27* (3), 1107.
- (6) Fox E. G. P.; A Simple, Rapid Method for the Extraction of Whole Fire Ant Venom (Insecta: Formicidae: Solenopsis). *Toxicon* **2013**, *65*, 5–8.
- (7) Xu G.; Chen L.; Biological Activities and Ecological Significance of Fire Ant Venom Alkaloids. *Toxins* **2023**, *15* (7), 439.
- (8) Jouvenaz D. P., Blum M. S., MacConnel J. G.; Antibacterial Activity of Venom Alkaloids from the Imported Fire Ant, *Solenopsis Invicta* Buren. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1972**, *2* (4), 291–293.
- (9) <https://www.halagchemie.ch/it/biofilm/>; accesso in rete 06/11/2023
- (10) Carvalho D. B. D., Fox E. G. P., Santos D. G. D., Sousa J. S. D., Freire D. M. G.; Nogueira, F. C. S.; Domont, G. B.; Castilho, L. V. A. D.; Machado, E. D. A. Fire Ant Venom Alkaloids Inhibit Biofilm Formation. *Toxins* **2019**, *11* (7), 420.
- (11) Lind N. K.; Mechanism of Action of Fire Ant (*Solenopsis*) Venoms. I. Lytic Release of Histamine from Mast Cells. *Toxicon* **1982**, *20* (5), 831–840.
- (12) Sadewa R., Nurdian Y.; Bite and Sting of Fire Ant: A Double-Edged Sword Phenomenon. **2017**.
- (13) Mo Y., Shi Q., Qi G., Chen K.; Potential Anti-Tumor Effects of *Solenopsis Invicta* Venom. *Front. Immunol.* **2023**, *14*, 1200659.
- (14) Sabatini S.; Targeting il pathway PI3K-AKT-mTOR: buone notizie dai trial clinici **2019**
- (15) Arbiser J. L., Kau T., Konar M., Narra K., Ramchandran R., Summers S. A., Vlahos C. J., Ye K., Perry B. N., Matter W., Fischl A., Cook J., Silver P. A., Bain J., Cohen P., Whitmire D., Furness S., Govindarajan B., Bowen J. P.; Solenopsin, the Alkaloidal Component of the Fire Ant (*Solenopsis Invicta*), Is a Naturally Occurring Inhibitor of Phosphatidylinositol-3-Kinase Signaling and Angiogenesis. *Blood* **2007**, *109* (2), 560–565.
- (16) Goddard J.; Fire Ant Attacks on Humans. In *Infectious Diseases and Arthropods*; NJ, **2008**; pp 195–199.
- (17) <https://keepkidshealthy.com/2016/11/19/fire-ant-bites/>; accesso in rete 06/11/2023
- (18) Kemp S. F.; Expanding Habitat of the Imported Fire Ant (*Solenopsis Invicta*): A Public Health Concern. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *105* (4), 683–691.
- (19) Chen J., Oi D. H.; Naturally Occurring Compounds/Materials as Alternatives to Synthetic Chemical Insecticides for Use in Fire Ant Management. *Insects* **2020**, *11* (11), 758.
- (20) Zheng Q., Qin D., Wang R., Yan W., Shen S., Huang S., Cheng D., Zhao C., Zhang Z.; Novel Application of Biodegradable Chitosan in Agriculture: Using Green Nanopesticides to Control *Solenopsis Invicta*. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *220*, 193–203.

- (21) Zheng Q., Wang R., Qin D., Yang L., Lin S., Cheng D., Huang S., Zhang Z.;
Insecticidal Efficacy and Mechanism of Nanoparticles Synthesized from Chitosan and
Carboxymethyl Chitosan against *Solenopsis Invicta* (Hymenoptera: Formicidae).
Carbohydr. Polym. **2021**, *260*, 117839.