

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL
FARMACO

Corso di laurea in Scienze farmaceutiche applicate

TESI DI LAUREA

***Il ruolo degli Herbal Bioenhancers nel potenziare
l'effetto terapeutico dei fitoterapici***

Relatore: Prof.ssa Mariangela Garofalo

Laureando: Zago Martina

Matricola: 1175479

Anno accademico 2021/2022

Sommario

1. Abstract	1
2. Introduzione	3
2.1 Le fasi farmacocinetiche	5
2.3 I trasportatori coinvolti nei processi di assorbimento	8
2.4 Citocromo P450	8
2.5 Biodisponibilità orale: le limitazioni dei fitoterapici	9
3. Herbal Bioenhancers	13
4. Il ruolo dei differenti tipi di Herbal Bioenhancers	17
4.1 Piperina	17
4.2 Curcumina	31
4.3 Allicina	33
4.4 Naringina	34
4.5 <i>Zinger officinalis</i> R.	36
4.6 Glicirrizina	37
4.7 <i>Carum carvi</i> L.	38
4.8 Capsaicina	38
5. Conclusioni	41
6. Bibliografia	43

1. Abstract

L'obiettivo di questo elaborato è quello di porre l'attenzione su possibili metodiche efficaci per fronteggiare le difficoltà, che riguardano gli aspetti farmacocinetici della biodisponibilità di farmaci e fitoterapici. Per ottimizzare una terapia farmacologica è utile concentrare l'attenzione su quegli aspetti che possano intervenire sui processi farmacocinetici di ADME (Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Eliminazione) degli xenobiotici. Ciò si rivela interessante non solo per aumentare la biodisponibilità di farmaci e fitoterapici, ma anche per affrontare problematiche di farmacoresistenza, tossicità da sovradosaggio e di accesso alle cure da parte dei paesi in via di sviluppo.

Il focus di questo elaborato sono gli Herbal Bioenhancers, delle entità chimiche che da sole non presentano un'attività farmacologica specifica ma se somministrate insieme a farmaci, fitoterapici, preparazioni erboristiche e nutraceutici ne promuovono e ne aumentano la biodisponibilità, mostrando un sinergismo di potenziamento con il farmaco stesso.

Questo concetto affonda le sue radici nell' Ayurveda, il sistema di medicina tradizionale indiano, e può creare un punto d'incontro con la medicina convenzionale.

L'elaborato mostra come gli Herbal Bioenhancers svolgano un ruolo cruciale nel migliorare la bioefficacia di molte classi di farmaci e fitoterapici come: antipertensivi, antitumorali, antivirali, antitubercolari, antimicotici.

Il documento vuole mettere in evidenza quali possano essere i principi attivi, le sostanze o le specie di origine vegetale che possano svolgere il ruolo di biopotenziatori; spiegandone i meccanismi d'azione e le interazioni enzimatiche, i risvolti terapeutici, le caratteristiche fitochimiche e le metodiche di somministrazione, utili a favorire l'efficacia di una determinata terapia farmacologica.

2. Introduzione

La moderna ricerca farmaceutica si sta focalizzando sullo studio di nuove molecole o sostanze con nuovi meccanismi d'azione che siano in grado di promuovere la biodisponibilità di farmaci e fitoterapici, ciò ha portato allo sviluppo di tecnologie innovative che puntino a migliorare tutti gli aspetti legati alla terapia farmacologica in termini di biodisponibilità, tossicità, dosaggio e farmacoresistenza.

Prima di capire com'è possibile promuovere l'attività di farmaci e fitoterapici è importante definire il concetto di biodisponibilità che misura la velocità e il grado con cui un principio attivo o un farmaco attivo raggiunge immodificato la circolazione sistemica, acquisendo così la capacità di accedere al proprio sito d'azione. Questo fattore indica quindi sia la quantità di farmaco che entra nell'organismo dopo la somministrazione, sia la velocità con cui è assorbito per esercitare una certa attività terapeutica (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

“Secondo l’OMS, la biodisponibilità di un medicamento rappresenta la frazione di principio attivo somministrato che raggiunge la circolazione sistemica e la rapidità con la quale la raggiunge” (Palatini, 2017). Un principio attivo per essere somministrato viene incluso in una preparazione farmaceutica (medicamento), le cui caratteristiche possono influenzarne la biodisponibilità, non viene perciò somministrato come una sostanza pura (Palatini, 2017).

Perché un farmaco possa manifestare un qualche effetto farmacologico deve infatti raggiungere concentrazioni sufficienti a livello dei recettori degli organi bersaglio. Tale scopo viene perseguito seguendo una curva cinetica indicante i livelli di concentrazione plasmatica di farmaco, finché esso non viene eliminato (Figura 1). Si definisce come concentrazione plasmatica “la quantità di farmaco disciolto in un volume noto di plasma”. Nel momento in cui viene formulato un farmaco, è essenziale individuare quale sia la somministrazione necessaria, affinché sia corretta in termini di efficacia senza causare tossicità. Ci si preoccupa di valutare un intervallo definito “range terapeutico”, che indica le concentrazioni da raggiungere comprese tra la concentrazione minima attiva (al di sotto della quale il farmaco è chiaramente inefficace) e la concentrazione minima tossica. Più sarà ampio il range, più sarà semplice la somministrazione del farmaco (Palatini, 2017).

La concentrazione massima corrisponde al picco di concentrazione del farmaco dopo

una determinata somministrazione e dovrà sempre ricadere all'interno del range terapeutico, più sarà elevata e maggiore sarà l'intensità del principio attivo (Figura 1) (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

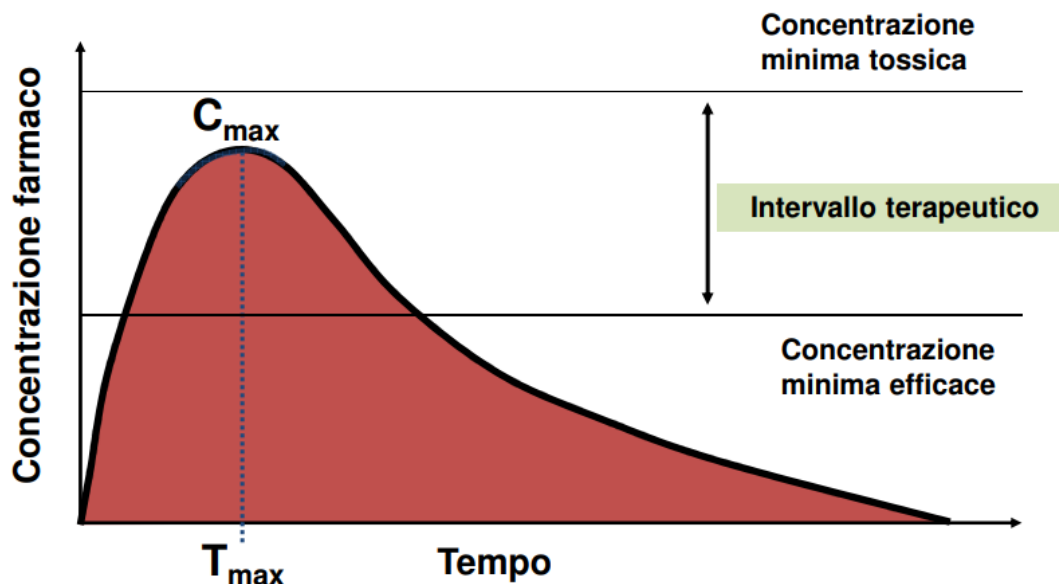


Figura 1. Profilo di concentrazione-tempo di un farmaco. Si definisce intervallo terapeutico il range compreso tra la concentrazione minima tossica e quella efficace nel quale troviamo la concentrazione massima che un farmaco può raggiungere una volta entrato in circolo (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

Si parla di bioequivalenza quando due diverse formulazioni di uno stesso farmaco possiedono uguale biodisponibilità, stessi principi attivi, dosaggio, formulazione e via di somministrazione (Palatini, 2017).

Due prodotti farmaceutici sono considerati bioequivalenti nel momento in cui, a seguito di test specifici, non presentano differenze significative. Quando si fa riferimento ai farmaci equivalenti generici, è importante prendere in considerazione questo concetto, diverso dalla bioequivalenza terapeutica che invece si manifesta quando due formulazioni differenti di uno stesso farmaco possiedono diversa biodisponibilità ma hanno un effetto terapeutico uguale (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

2.1 Le fasi farmacocinetiche

La branca della farmacologia che si occupa dello studio dei processi coinvolti nel raggiungimento e nel mantenimento di una certa concentrazione di farmaco nei vari compartimenti dell'organismo è definita come farmacocinetica e descrive l'andamento di quest'ultimo durante le fasi di assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione (ADME) dei farmaci (Palatini, 2017).

Utilizzare e comprendere i principi della farmacocinetica può aumentare e ottimizzare la probabilità di successo terapeutico, riducendo la frequenza degli effetti collaterali del farmaco nell'organismo (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

Possiamo suddividere l'andamento di un principio attivo all'interno dell'organismo in fasi farmacocinetiche:

-L' **assorbimento** è il movimento del farmaco dal sito di somministrazione al compartimento centrale. Esso dipende dalla via di somministrazione, dato che solitamente le vie intramuscolari, endovenose e sottocutanee favoriscono il passaggio di buona parte del farmaco; mentre nel caso più frequente di somministrazione orale non tutto lo xenobiotico che supera l'epitelio gastrico o intestinale è in grado di arrivare al circolo sistemico, e quindi si parla di effetto di primo passaggio (Palatini, 2017).

- Con **distribuzione** « Si definisce come il trasferimento reversibile del farmaco dal plasma agli altri distretti dell'organismo ad esso accessibili»; questa fase decorre fino al raggiungimento di un equilibrio dove coesisteranno assorbimento e distribuzione. I fattori che influenzano questa fase sono: le caratteristiche chimiche del principio attivo, flusso ematico, legame del farmaco alle proteine plasmatiche, siti di accumulo del farmaco nell'organismo, volume del compartimento, presenza di "tessuti protetti" o barriere(Palatini,2017).

- **Eliminazione** intesa come la rimozione irreversibile del farmaco dall'organismo tramite processi di **metabolismo**, grazie ad enzimi metabolizzanti che sono coinvolti reazioni di fase I e II, e di escrezione (Palatini, 2017).

La sommatoria tra la fase di assorbimento e quella di distribuzione andrà a definire la concentrazione massima (Cmax), che dipende dalla dose e dalla velocità di assorbimento (Palatini, 2017).

I processi farmacocinetici di assorbimento, distribuzione, biotrasformazione e

eliminazione (ADME) di un farmaco implicano il passaggio di quest'ultimo attraverso le membrane cellulari; tali meccanismi sono influenzati dalle caratteristiche fisico-chimiche, dal peso molecolare, dalla struttura dello xenobiotico; dal suo grado di ionizzazione, dalla liposolubilità delle forme ionizzate e non ionizzate e dal legame con le proteine plasmatiche e tissutali (Figura 2) (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

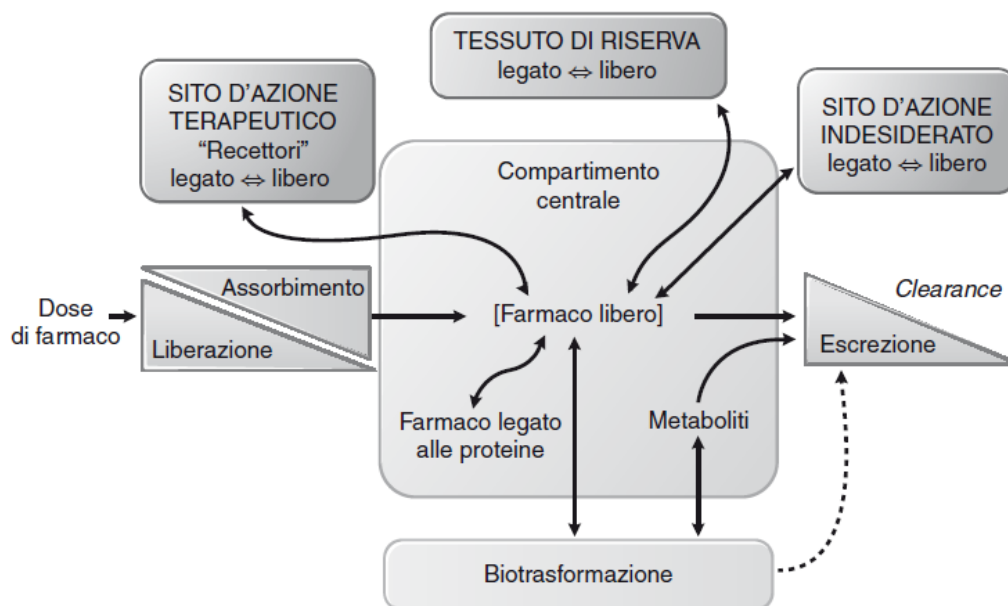


Figura 2. Relazione tra i processi farmacocinetici di assorbimento, distribuzione, legame, metabolismo ed escrezione di un farmaco. Dopo che il farmaco è stato somministrato e assorbito, esso giunge al compartimento centrale in forma libera e una volta legato alle proteine plasmatiche e ai tessuti, esplica la sua azione fino a che non va incontro a biotrasformazioni metaboliche che ne consentono l'eliminazione (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

2.2 Passaggio dei farmaci attraverso le membrane biologiche

Salvo poche eccezioni (capillari ematici e terminali linfatici), i farmaci passano attraverso le cellule e non tra cellula e cellula. Nonostante la diversità strutturali delle cellule nei vari organi, il passaggio degli xenobiotici è definito dagli stessi principi che in letteratura vengono spiegati dalla Legge di Fick e Henderson-Hasselbalch (Palatini, 2017).

La membrana plasmatica rappresenta la barriera comune alla distribuzione di un farmaco, è formata da un doppio strato fosfolipidico, specifico in base al tipo di

membrana. In essa sono immerse diverse proteine che oltre a svolgere una funzione strutturale, fungono da canali ionici, trasportatori o recettori, e sono perciò i bersagli selettivi per l'azione dei farmaci che andranno a stabilire dei legami generalmente deboli e reversibili tra la molecola (principio attivo) e il target, secondo un'interazione

Dinamica (Palatini, 2017). In generale ci sono quattro meccanismi che favoriscono il passaggio dei principi attivi attraverso le barriere biologiche, definiti come: *diffusione passiva*, *trasporto* attivo o passivo mediato da trasportatori e *filtrazione* attraverso pori e *transitosi* mediata da vescicole (Palatini, 2017).

La maggior parte dei farmaci lipofili con dimensioni superiori a 100-200 Da, deve passare mediante la membrana cellulare attraverso processi attivi (che si servono di ATP e quindi di energia) e passivi (Trasporto paracellulare, diffusione semplice, diffusione facilitata).

Nel trasporto passivo il farmaco penetra per diffusione secondo gradiente di concentrazione fino a raggiungere lo steady state, nel caso di composti ionici lo spostamento dipende dal pH e dal gradiente elettrochimico dello ione che influenzano il grado di ionizzazione delle molecole. Molti farmaci sono acidi o basi deboli presenti sia in forma ionizzata che non ionizzata, la distribuzione è influenzata perciò dallo pKa, il rapporto tra farmaco ionizzato e non ionizzato si calcola con l'equazione di Henderson-Hasselbalch, all'equilibrio un farmaco acido sarà accumulato sul lato basico della membrana, un farmaco basico sul lato acido (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

Il trasporto attivo e la diffusione facilitata sono mediati da un carrier che attraverso meccanismi biochimici legano i principi attivi, regolandone l'afflusso e l'efflusso, uno dei più importanti è la glicoproteina-P che è in grado di limitare l'assorbimento del farmaco per via orale ed è resistente a diversi chemioterapici (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015).

In generale la velocità di penetrazione di una molecola neutra attraverso una membrana cellulare è data dalla Legge di Fick (Palatini, 2017).

Essenziale è considerare che un farmaco deve "sciogliersi" nel doppio strato lipidico, deve quindi possedere una certa liposolubilità, questo valore nella legge di Fick è espresso come coefficiente di ripartizione. «Maggiore è l'affinità del farmaco per la fase lipidica rispetto a quella acquosa, più elevata sarà la sua concentrazione nella membrana e più rapida la diffusione» (Palatini, 2017).

Aumentando la polarità di un farmaco attraverso l'inserimento di gruppi ossidrilici, carbonilici, etc è possibile aumentare l'idrofilia a spese della liposolubilità. (Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan, 2015)

2.3 I trasportatori coinvolti nei processi di assorbimento

Il trasporto di farmaci è mediato da 2 famiglie di trasportatori: ABC (ATP-Binding cassette) e SLC (Solute carrier). I primi presentano due domini che legano ATP e due domini inseriti nella membrana, sono quindi ATPasi che trasportano il substrato all'esterno della cellula o all'interno di organelli cellulari (Palatini, 2017).

Tra questo tipo di trasportatori troviamo la Glicoproteina P (Pgp) denominata MDR1 o ABCB1, una flippasi trovata per la prima volta nelle cellule tumorali nelle quali svolge l'azione di farmacoresistenza eliminando il farmaco, è infatti una trasportatrice di xenobiotici. La si trova a livello dei tessuti che fungono da barriera, nel fegato, nel rene e in alcuni linfociti (Palatini, 2017).

Altro tipo di proteine facenti parte della famiglia di trasportatori ABC sono la MDR2, la quale mediante l'escrezione di fosfatidilcolina contribuisce alla formazione della bile, le proteine MRP, la cui isoforma più importante è la MRP2 adibita al trasporto di sostanze esogene ed endogene localizzata sempre a livello delle barriere, la BCRP con stessa localizzazione di MRP2 e Pgp ma presente anche a livello della mammella ed è responsabile della secrezione di farmaci durante l'allattamento (Palatini, 2017).

La superfamiglia SLC è predisposta al trasporto di composti ionici e non ionici endogeni e esogeni, questo tipo di trasportatori sono localizzati a livello dei tessuti con funzione di barriera, ne fanno parte SLC21, SLC22, SLC47, SLC15 (Palatini, 2017).

2.4 Citocromo P450

Il citocromo P450 è l'enzima coinvolto maggiormente nel metabolismo degli xenobiotici, si trova immerso nella membrana, contiene al suo interno il gruppo eme e catalizza una serie di reazioni di ossidazione. Rappresenta una famiglia di enzimi costitutivi o inducibili presenti in tutte le cellule comprese quelle del sistema nervoso centrale, in grado di catalizzare la biotrasformazione ossidativa della maggior parte dei

farmaci e di altri xenobiotici lipofili e sono quindi di particolare rilevanza per la farmacologia clinica (Zanger & Schwab, 2013).

Il CYP450 è suddiviso in famiglie e sottofamiglie, nell'essere umano sono state identificate circa 57 isoforme coinvolte quasi tutte nelle reazioni metaboliche di xenobiotici con elevata specificità d'azione e composizione caratteristica per ogni individuo, hanno specifiche funzioni endogene tra cui la biosintesi degli ormoni steroidei, prostaglandine, acidi biliari e altri (Zanger & Schwab, 2013).

Il citocromo più rappresentato è il CYP3A4 coinvolto nel metabolismo del 50% dei farmaci ed ha una selettività per il substrato simile alla P-gp, con la quale può formare un complesso che è un vero sistema di difesa per gli xenobiotici, infatti le molecole che hanno un substrato compatibile con queste proteine hanno in genere una biodisponibilità ridotta. Il CYP3A4 è il principale P450 espresso negli enterociti intestinali, con livelli non correlati a quelli del fegato, e contribuisce sostanzialmente al metabolismo di primo passaggio dei farmaci somministrati per via orale (Zanger & Schwab, 2013).

Molto importante è la downregulation mediata dalle citochine del CYP3A4 nel corso della risposta infiammatoria, ciò è clinicamente rilevante nei pazienti oncologici perché i tumori possono essere una fonte di citochine circolanti sistemiche che poi portano a una sostanziale sottoregolazione del CYP3A4 e di altri enzimi e trasportatori che metabolizzano i farmaci (Zanger & Schwab, 2013).

Una funzione simile ce l'ha anche CYP3A5 ma è una proteina presente solo in alcuni individui, se presente, è importante aumentare la dose di farmaco perché si verifichi l'effetto terapeutico (Palatini, 2017).

« La conoscenza del particolare enzima che metabolizza un farmaco è anche importante perché permette di prevedere le conseguenze cliniche della somministrazione di un farmaco induttore o inibitore di quel particolare enzima » (Palatini, 2017).

2.5 Biodisponibilità orale: le limitazioni dei fitoterapici

Considerando la via di somministrazione orale e tenendo conto che l'azione farmacologica è direttamente proporzionale alla quantità di attivo capace di raggiungere la circolazione plasmatica; tutti i principi attivi di origine vegetale hanno la caratteristica

comune di essere poco o per nulla biodisponibili, in media un fitoterapico presenta una biodisponibilità orale che si aggira intorno al 2% della dose somministrata, quindi estremamente bassa, questo può essere dovuto a una serie di fattori legati all'instabilità chimica dei componenti a contatto con i fluidi gastrici, ai processi degradativi a cui le sostanze fitoterapiche sono sottoposte, la minor o maggior solidità delle giunzioni serrate enterocitarie, etc (Francesco di Pierro, 2017).

Basti pensare a sostanze come la curcumina, la barberina, gli antociani o il resveratrolo, tutte difficilmente assorbibili, ciò è causato da una possibile instabilità chimica nel succo gastrico e/o enterico, dai meccanismi degradativi ai quali i fitoterapici sono sottoposti, dal tipo di barriere coinvolte, etc. In generale è essenziale prendere in considerazione il ruolo dei citocromi e dei sistemi proteici ABC (Francesco di Pierro, 2017).

L'interazione pianta-animale ha favorito dei processi genetici evolutivi nell'organismo con la produzione di citocromi e proteine che consentissero la degradazione dei vari metaboliti secondari, sostanze senza alcun significato alimentare ma che invece presentano degli effetti farmacologici e che l'organismo percepisce come sostanze che non sono endogene. Tali enzimi metabolizzanti sono compresi in reazioni di fase I e II: i primi demoliscono quei composti che arrivano al fegato direttamente dall'intestino inattivandoli, i secondi entrano in gioco nel momento in cui esistono metaboliti provenienti dalle reazioni di fase II che possono essere potenzialmente riassorbibili a causa dell'elevata lipofilia, viene perciò coniugato un composto altamente idrofilo, come acido glucuronico, che ne facilita l'eliminazione (Francesco di Pierro, 2017).

Questo spiega il motivo della bassa biodisponibilità che possono presentare dei fitopreparati e un caso eclatante è quello della curcumina, sostanza scarsamente assorbita soprattutto a livello intestinale, la quale a causa di enzimi di Fase II raggiunge il fegato in piccola parte. Se però si modula l'assorbimento di questa sostanza con piperina creando un antagonismo, la glucuronazione viene ridotta (Francesco di Pierro, 2017).

Altri sistemi noti che interferiscono con l'assorbimento di fitoterapici somministrati per via orale sono i sistemi proteici ABC, in particolare la gp-P che riescono a limitare l'assorbimento di sostanze a livello intestinale; esistono però degli antagonisti naturali di questi complessi enzimatici degradativi che riescono ad aumentare la biodisponibilità

e l'efficienza terapeutica di molte sostanze, questi composti sono chiamati Herbal Bioenhancers e i nuovi studi in ambito farmaceutico si stanno concentrando sullo sviluppo di formulazioni che sfruttino il meccanismo d'azione di questi potenziatori di biodisponibilità (Francesco di Pierro, 2017).

Tutto ciò che riguarda l'assorbimento di un farmaco sta suscitando un importante interesse in campo farmaceutico e gli studi circa le metodiche hanno fatto notevoli passi avanti servendosi di strategie di tipo formulativo come: sistemi di micro e nanoemulsioni per migliorare la lipofilia del farmaco, SLN (Solid Liquid Nanoparticles), SEEDS (Self emulsifying drug delivery systems), forme fitosomiali che formano strutture micellari in grado di veicolare il farmaco e sistemi di somministrazione gastroritentive. Anche i sopra citati Herbal Bioenhancer sono composti che si stanno rivelando particolarmente strategici e soddisfacenti per i relativi scopi (El & Naggar, 2015).

3. Herbal Bioenhancers

Sono delle sostanze definite generalmente incrementatori erbali di biodisponibilità orale, ovvero sostanze vegetali di origine botanica che agiscono da biopotenziatori di altre sostanze, fitoterapiche e non, che invece hanno una scarsa biodisponibilità, agendo quindi in sinergismo (Francesco di Pierro, 2017).

Un bioenhancer da solo non presenta una particolare attività farmacologica, ma somministrato con altri farmaci riesce ad incrementarne l'azione, ne ha parlato per primo Bose nel 1929 che ha riportato come determinate sostanze vegetali contenenti piperina siano in grado di incrementare il potere antiasmatico della vasaka (*Adhatoda vasica*) (Ajazuddin et al., 2014).

Questi concetti però risalgono alle antiche conoscenze delle tradizioni medicinali Ayurvediche utilizzate tra il VII secolo a.C. e il VI secolo d.C. nelle quali si parla del Trikatu, una preparazione che contiene tre erbe in proporzioni uguali: pepe nero (*Piper nigrum* L.), pepe lungo (*Piper longum* L.) e zenzero (*Zingiber officinale* R.) utilizzato per il trattamento di una serie di patologie e disturbi; infatti molti studi hanno dimostrato che il Trikatu, grazie alla presenza di componenti attivi come la piperina, risulta essere un promotore della biodisponibilità (R.K. Johri and U. Zutshi, 1992).

Nella tradizione medicinale Ayurvedica il Trikatu è descritto come un decotto capace di ristabilire l'equilibrio dei tre umori del corpo: kapha, rata e pitta il cui squilibrio potrebbe causare una serie di malattie, perciò questo preparato risulterebbe utile per il trattamento di stati febbrili, disturbi gastrici e addominali, difficoltà urinarie e esternamente per il trattamento di reumatismi, nevralgie e foruncoli (R.K. Johri and U. Zutshi, 1992).

Il consumo di antibiotici e l'uso di farmaci da parte dell'uomo sta aumentando in modo considerevole, tanto che il 20-50% delle volte che si assumono preparati farmaceutici non è necessario o non richiesto, ciò ha contribuito ad un aumento della farmacoresistenza che rende difficoltoso il controllo delle malattie, conseguentemente individui infetti saranno costretti ad aumentare i dosaggi per avere un effetto farmacologico (Dudhatra et al., 2012a).

Un percorso terapeutico può essere più o meno impegnativo, ciò dipende dalla patologia che si deve curare, dallo stato fisico e dalle condizioni socio-economiche del paziente; in generale possiamo trovarci davanti a farmaci che possono essere costosi e

somministrati per lunghi periodi, che possono avere effetti collaterali tossici e sono poco biodisponibili. Questo avviene soprattutto con l'utilizzo di terapie combinate e l'introduzione di bioenhancers nei percorsi terapeutici risulta essere utile per migliorare le condizioni terapeutiche attraverso una riduzione della dose utilizzata e una limitazione dei fenomeni di farmacoresistenza promuovendo l'assorbimento dei farmaci, a patto che siano sostanze inerti e non tossiche per l'essere umano, semplici da formulare e con un effetto biologico combinato a basse concentrazioni (Figura 3) (Tatiraju et al., 2013).

I farmaci che non sono abbastanza biodisponibili sono subterapeutici perché una buona parte di essi non riescono a raggiungere il plasma e quindi ad agire a livello sistemico, a meno che non vengano somministrate dosi sufficientemente elevate con il rischio di causare gravi effetti collaterali, compresa la perdita di nutraceutici essenziali durante la terapia. Una biodisponibilità orale incompleta può essere causata da una scarsa solubilità acquosa, scarsa permeazione delle membrane intestinali, degradazione del farmaco nei fluidi gastrointestinali, ciò ha portato inevitabilmente sviluppare nuove tecnologie di sviluppo dei farmaci (Dudhatra et al., 2012a).

Nello specifico un potenziatore biologico co-somministrato agisce a livello sistemico aumentando l'afflusso di sangue del tratto gastrointestinale promuovendo l'assorbimento di farmaco, è in grado di modulare la gp-P inibendola e impedendo che il farmaco venga pompato fuori, rallentandone il metabolismo e andando ad inibire gli enzimi coinvolti nei processi di eliminazione: CYP3A4, CYP1A1, CYP1B2, CYP2E1. Riesce inoltre a rallentare la filtrazione glomerulare facilitando il riassorbimento durante il ciclo entero-epatico; assumendo questi promotori di biodisponibilità assistiamo a una modificazione della permeabilità della cellula epiteliale con inibizione del metabolismo di I passaggio, migliorando il legame farmaco recettore, promuovendo il trasporto di nutrienti anche attraverso la barriera emato-encefalica (Tatiraju et al., 2013) (Dudhatra et al., 2012a).

Queste molecole oltre a essere dei promotori dell'assorbimento di farmaci riescono a modificare le condizioni fisiologiche, ci sono infatti altre funzioni che vengono attribuite a queste molecole come: riduzione della secrezione di HCL a livello gastrointestinale e rallentamento del tempo di svuotamento gastrico, vi è attribuito un effetto colagogo e un'attività bioenergica e termogenica (Tatiraju et al., 2013).

Quest'ultima è innescata dall'attivazione di termorecettori, dal rilascio di catecolammine e dall'azione degli agonisti beta-adrenergici con un aumento del numero di recettori dell'insulina una diminuzione di glucosio nel sangue, provocando un effetto antidiabetico che contribuisce ai meccanismi bioenergetici e di termogenesi (Dudhatra et al., 2012a).

Esistono diversi tipi di biopotenziatori e ognuno agisce in modo diverso e su farmaci co-somministrati specifici, alcuni di questi sono piperina, quercetina, naringina e genisteina che svolgono un'azione inibitoria nei confronti del CYP450, mentre curcumina, glicirrizina e sinomenina agiscono come antagonisti della glicoproteina P, promuovendo un aumento della biodisponibilità di un dato farmaco e una diminuzione della tossicità, anche se somministrato a dose minori (Figura 3) (Francesco di Pierro, 2017).

In linea generale il meccanismo d'azione si definisce con un antagonismo della gp-P e degli enzimi metabolizzanti di Fase I e II, quindi devono essere necessariamente delle sostanze inerti o che comunque presentino inerzia farmacologica (Francesco di Pierro, 2017).

Prendendo in considerazione il meccanismo d'azione è possibile fare una classificazione dei bioenhancers dividendoli come:

- inibitori della P-gp e simili che comprendono il *Carum carvi* L., Genisteina, Sinomenin, *Cuminum cyminum* L., Naringina e Quercetina;
- soppressori dell'enzima CYP450 e dei suoi isoenzimi come Piperina, Naringina, acido Gallico e Quercetina
- regolatori delle funzioni GIT per un migliore assorbimento, ne sono un esempio *Aloe vera* L., Niaziridina, *Zingiber officinale* R., Glicirrizina (Tatiraju et al., 2013).

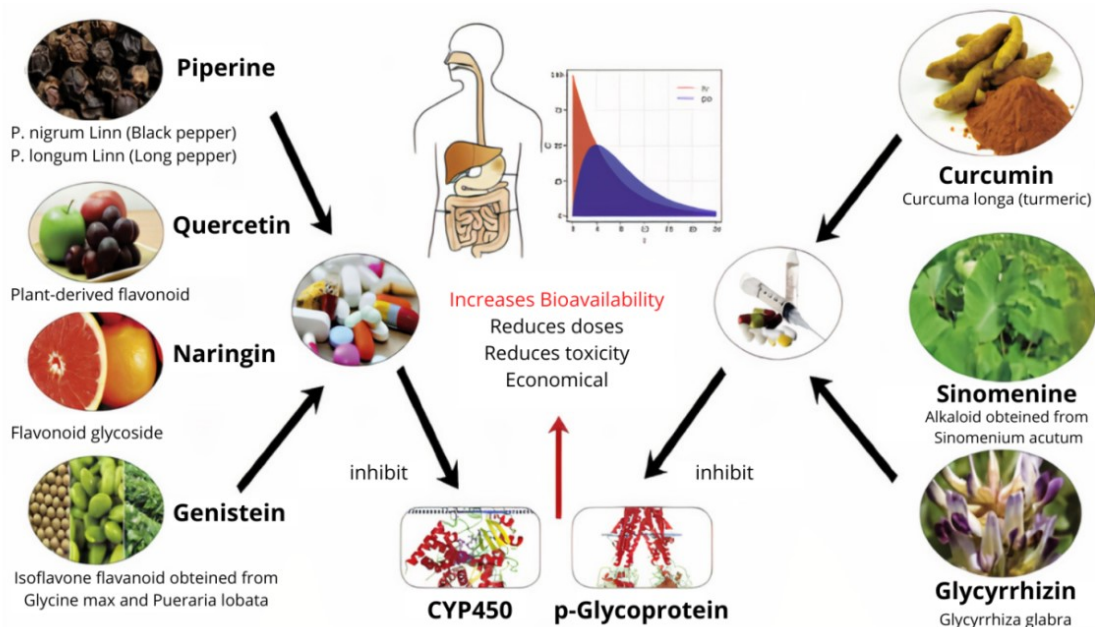


Figura 3. Differenti meccanismi d'azione di alcuni tipi di Herbal Bioenhancers che vanno ad agire su CYP450 e p-Gp andando ad incrementare la biodisponibilità, permettendo una conseguenze riduzione della dose e della tossicità (Ajazuddin et al., 2014).

Sebbene i biopotenziatori stiano riscuotendo successo e interesse in campo farmacologico, non tutti gli approcci formulativi hanno avuto lo stesso trattamento, occorrono dei miglioramenti incentrati su un aumento della superficie funzionale, una protezione strutturale che protegga dalla degradazione, un miglioramento nell'attraversamento delle barriere biologiche, in linea di massima si preferisce infatti lavorare con nanomateriali per una maggiore facilità di lavorazione, intervento e modifica (Tatiraju et al., 2013).

I bioenhancers non sono in grado di migliorare solo l'assorbimento e l'efficacia di farmaci, antibiotici, antivirali e antitumorali ma anche di nutraceutici come vitamine, minerali, amminoacidi e alcuni composti a base di erbe. Le categorie di farmaci più soggette ad un effetto biopotenziatore sono anitumorali, antibiotici, medicinali che hanno un effetto sul sistema nervoso centrale, gastrointestinale e respiratorio; ne sono un esempio quelli che includono tetracicline, fenitoina, nimesulide, curcumina, carotene, coenzima Q₁₀, amminoacidi e molti altri (Dudhatra et al., 2012a).

La lista di Bioenhancers studiati è lunga, quelli che hanno riscosso maggiore successo dal punto di vista farmacologico e che hanno effettivamente un ruolo nell'incremento farmacocinetico di fitoterapici sono: piperina, salimarina, zenzero,

curcumina, allicina, naringenina, niaziridina, lisergolo e sinomenina. Ne esiste anche uno di origine animale che è il distillato di urina di mucca (Francesco di Pierro, 2017).

4. Il ruolo dei differenti tipi di Herbal Bioenhancers

Esplorando i meccanismi metabolici dell'organismo umano, sono stati riconosciuti i limiti di alcuni farmaci e fitoterapici.

Approfondendo gli aspetti legati a come la struttura di una molecola può portare a dei cambiamenti circa l'attività di farmaci e fitoterapici si può provare la superiorità di una formulazione di un farmaco biopotenziato rispetto a quella priva di un biopotenziatore.

Capire come funzionano le molecole che possono intervenire a livello farmacocinetico può essere importante per promuovere i processi terapeutici.

4.1 Piperina

L'attività benefica di questa molecola, affonda le sue radici nell'Ayurveda, il sistema di medicina tradizionale indiano che già tra il VII secolo a.C. e il VI secolo d.C. utilizzava diverse varietà di pepe nella formulazione del Trikatu, utilizzato per il trattamento di diverse patologie. (Mhaske DB, 2018)

La piperina è stata ufficialmente scoperta nel 1819 da Hans Christian Orsted che la isolò dai frutti di *Piper nigrum* L. appartenenti alla famiglia delle *Piperaceae* ed è la principale costituente delle oleoresine di pepe, la si trova anche in *Piper longum* L. e il quantitativo, che varia dal 2% al 7,4%, può essere influenzato da fattori climatici, dalle condizioni di crescita e dalle origini botaniche (Gorgani et al., 2017).

La piperina conferisce alla pianta il caratteristico sapore pungente, anche se un contributo alla piccantezza viene dato anche da altri alcaloidi presenti nella pianta quali piperanina, piperettina, piperilina A, piperoleina B e pipericina; invece gli oli essenziali contenuti, possono avere una concentrazione dallo 0,4% al 7% e sono responsabili dell'aroma del pepe (Gorgani et al., 2017).

Dal punto di vista fitochimico la piperina o 1-peperoil piperidina, è un alcaloide avente formula molecolare $C_{17}H_{19}O_3N$. La si trova in forma solida e il suo punto di fusione è di 128°C, è scarsamente solubile in acqua, ma otticamente attiva con una isomeria cis-trans. Inoltre è una molecola debolmente basica che vanta un'elevata

lipofilia e mostra una cinetica di assorbimento non saturabile, ciò rende la piperina un composto molto interessante dal punto di vista farmacologico (Mhaske DB, 2018).

Infatti nel 1979 alcuni scienziati del Regional Research Laboratory (Indian Institute of Integrative Medicine) hanno definito la piperina come il primo Herbal Bioenhancer al mondo, coniando anche il nome di incrementatore di biodisponibilità inaugurando nuovi studi e prospettive in termini farmaceutici (Mhaske DB, 2018).

Quando viene usata in combinazione con diversi farmaci o fitoterapici la piperina può portare a una riduzione della dose somministrata, degli effetti indesiderati e può aumentare la biodisponibilità agendo a livello sistemico con diverse e specifiche modalità (Mhaske DB, 2018).

I meccanismi d'azione con cui va ad agire questa molecola quando viene usata come Bioenhancer, coinvolgono diverse sfere dell'organismo, si nota infatti un aumento dell'assorbimento gastrointestinale grazie ad un maggior afflusso sanguigno a livello del tubo digerente e al miglioramento della solubilità. Gli acidi biliari favoriscono la formazione di micelle, che sono determinanti per l'assorbimento di lipidi e farmaci liposolubili, piperina Bioenhancer interviene su questi meccanismi andando a favorire la secrezione di acidi biliari e inibendone il metabolismo (Mhaske DB, 2018).

Inoltre l'assorbimento gastrointestinale è favorito da un aumento della permeabilità dovuta alla modifica delle cellule epiteliali da parte della piperina, che andando ad interagire con quest'ultime, stimola l'attività della γ -glutamyl transpeptidasi, favorendo l'assorbimento di amminoacidi da parte delle cellule (Mhaske DB, 2018).

Piperina Bioenhancer è inoltre capace di favorire l'allungamento dei microvilli, con un notevole aumento dei ribosomi liberi e dei ribosomi sul reticolo endoplasmatico degli enterociti, coinvolgendo la sintesi dei componenti delle proteine di membrana associate alla funzione citoscheletrica. Tra i meccanismi d'azione attribuiti è dimostrata anche la capacità di questa molecola di aumentare la fluidità della membrana cellulare grazie alla sua natura apolare, interagendo con i lipidi circostanti in modo da impedire che possano agire da vincoli stearici alle proteine enzimatiche (Khajuria et al., 2002).

Oltre ad un aumento dell'assorbimento intestinale la piperina scoraggia l'efflusso di farmaco dal sito d'azione, interagendo con la glicoproteina-P che è la più importante pompa efflusso del nostro organismo, favorendo la permanenza del farmaco al sito d'azione (Mhaske DB, 2018).

Sia la glicoproteina-P che il CYP3A4 sono espressi negli enterociti e influenzano la

biodisponibilità di molti farmaci come ciclosporina A, midazolam, verapamil, inibitori dell'HIV proteasi, digossina o talinololo (Bhardwaj et al., 2002).

Sebbene gli studi sull'effetto della piperina sulla disposizione del farmaco siano ancora limitati, la somministrazione di piperina ha aumentato significativamente le concentrazioni plasmatiche di rifampicina, fenitoina, propranololo e teofillina nell'uomo (Bhardwaj et al., 2002).

Recentemente è stato dimostrato che la somministrazione di 1g di pepe nero ha più che raddoppiato l'area sotto la curva di concentrazione plasmatica e l'emivita di eliminazione della fenitoina. I meccanismi che stanno alla base di queste interazioni sono stati definiti utilizzando microsomi epatici umani, indagando sulla potenziale influenza che il pepe nero può avere sulla funzione di due proteine: il CYP3A4 e la glicoproteina-P, che sono di notevole importanza per la disposizione di farmaci e le possibili interazioni farmacologiche (Bhardwaj et al., 2002).

Poiché un ampio numero di farmaci sono substrati della glicoproteina-P e del CYP3A4, una parte delle interazioni farmacologiche che possono presentarsi, sono attribuite a un'inibizione di queste due proteine, alcune sostanze tra cui la piperina possono intervenire sui processi metabolici di assorbimento del farmaco, quindi sulle reazioni enzimatiche di fase II e sull'effetto di primo passaggio, andando a influenzare la farmacocinetica degli xenobiotici (Bhardwaj et al., 2002).

Uno studio di Bhardwaj et al. dimostra che la piperina, è stata identificata come un possibile inibitore della glicoproteina-P e del CYP3A4, che fungono da substrati per la digossina, principio attivo appartenente alla classe dei glicosidi digitalici usato per incrementare la forza di contrazione cardiaca. È stato dimostrato come la piperina abbia determinato un aumento di circa due volte della concentrazione plasmatica del substrato rispetto alla somministrazione senza Bioenhacer (Figura 4) (Bhardwaj et al., 2002).

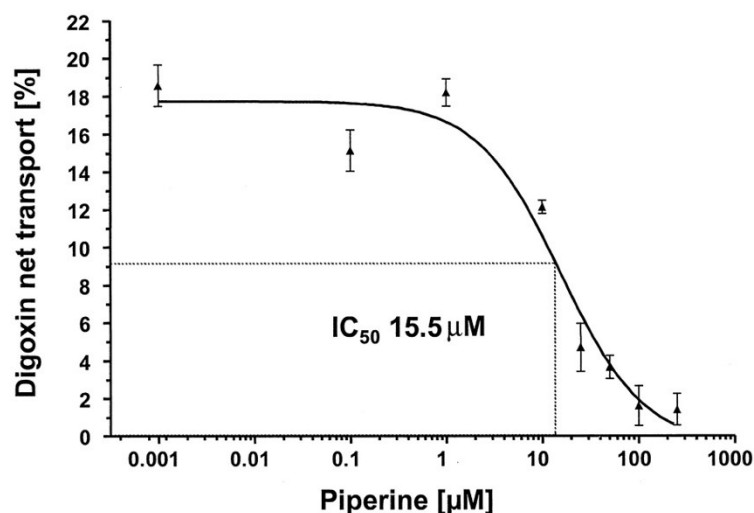


Figura 4. Il grafico rappresenta l'inibizione della glicoproteina-P mediata da digossina a concentrazioni diverse di piperina. I valori di IC₅₀ calcolati per l'inibizione del trasporto di digossina indotta dalla piperina sono rispettivamente 15,5 μM (Bhardwaj et al., 2002).

Tra i meccanismi con cui piperina Bioenhancer influenza la biodisponibilità di farmaci e fitoterapici si riconosce anche la capacità della molecola di inibire l'acido glucuronico, infatti quando una sostanza è chimicamente legata ad un'altra altamente solubile in acqua, come l'acido glucuronico, viene impedito il loro ingresso nelle cellule e vengono escrete nelle urine o nell'intestino tenue. La piperina in questo modo, facilita un maggior ingresso di sostanze nella cellula (Mhaske DB, 2018).

Grazie a questa molecola possiamo assistere a una riduzione del metabolismo grazie alla sua capacità di inibire diverse isoforme di P-450 (come CYP1A1, CYP1A2, CYP2C8, CYP2D6 e CYP3A4) insieme alla glucuroniltransferasi UDP e all'arilidrocarburo idrossilasi epatica. Inibisce inoltre la fase metabolica di glucuronidazione bloccando l'enzima UDP-glucosio deidrogenasi (Mhaske DB, 2018).

In uno studio del pubblicato dal Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics viene confermato che la piperina ha causato una diminuzione correlata alla concentrazione del contenuto di acido UDP-glucuronico e del tasso di glucuronidazione nelle cellule, infatti a 50 microM di piperina, la velocità di glucuronidazione è stata ridotta del 50% della velocità basale causando un'inibizione non competitiva dell'UDP-glucuroniltransferasi epatica (J Singh, 1986).

Tra tutti i citati aspetti positivi riconosciuti a piperina Bioenhancer, è stata dimostrata la capacità di contrastare effetti citotossici indotti da procancerogeni nel momento in cui culture cellulari venivano sottoposte all'effetto combinato di 60 mM di piperina con il diolo, fornendo protezione dalla morte cellulare.

A queste concentrazioni di piperina, l'alcaloide offre una protezione quasi massima contro la più alta concentrazione di tossicità indotta dall' aflatossina B1 (Reen et al., 1996).

A questo punto si può sintetizzare che il meccanismo d'azione della piperina si basa su processi inibitori che coinvolgono la glicoproteina-P, il CYP450 e le sue isoforme, la citocromo C reduttasi e il principale enzima metabolizzante il CYP3A4, responsabile del metabolismo di primo passaggio dei farmaci. Svolge un'azione bloccante anche su CYP450B1 del ratto che è responsabile della conversione dell' aflatossina B1 in un metabolita citotossico e genotossico, favorendo la biodisponibilità di aflatossina B1 progenitrice e producendo un effetto chemioprotettivo contro i procancerogeni attivati dal CYP450B (Figura 5) (Mhaske DB, 2018).

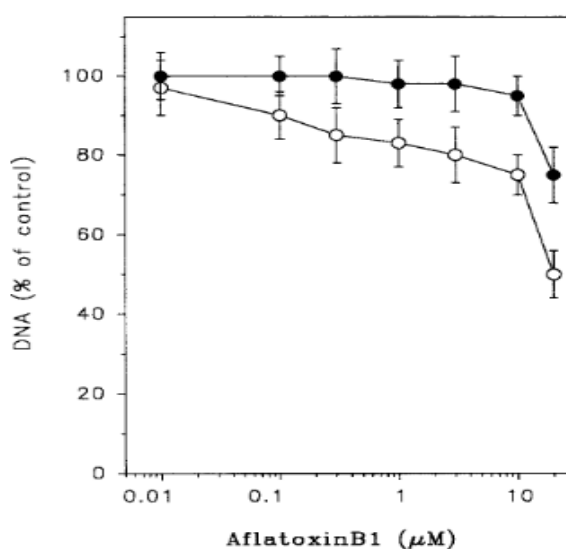


Figura 5. Effetto della piperina sulla citotossicità dell' aflatossinaB1 nelle cellule dopo la somministrazione con (●) e senza piperina (○). AFB1 a concentrazioni inferiori di 0,1-10 µM ha prodotto una citotossicità inferiore, ma significativa; la crescita cellulare è stata ridotta al 30% del controllo da 10 µM AFB1 dopo 72 ore di esposizione. La piperina a 60 µM ha contrastato completamente questa tossicità (Reen et al., 1996).

Questa serie di azioni bloccanti svolte dalla piperina nei confronti di determinati enzimi e proteine, possono essere attribuite alla struttura della molecola. Comprende tre parti: l'anello metilendioossifenile (MDP), la catena laterale e la parte della piperidina, se una qualsiasi parte della struttura dovesse essere modificata, ciò potrebbe alterare lo stato di inibizione (Mhaske DB, 2018).

Per incentivare la flessibilità della molecola è possibile saturare la catena laterale in modo tale da favorire l'interazione del dominio proteico con l'inattivatore, e con lo stesso scopo saturare i doppi legami coniugati a tetraidro derivati dell'anello MDP per rendere la catena laterale più flessibile (Mhaske DB, 2018).

Si ritiene infatti che la catena laterale abbia lo scopo di fungere da maniglia, orientando il gruppo MDP verso il sito attivo del CYP450. Questo complesso proteico è ancorato in un ambiente fortemente idrofobico in cui l'interazione con la piperina causa l'alterazione dei suoi gruppi funzionali, questo può aiutare a capire l'entità e la specificità dell'inibizione (Mhaske DB, 2018).

Viene attribuita alla presenza della catena laterale con i doppi legami saturi legati attraverso il legame ammidico, la capacità della molecola di legare in modo specifico e selettivo diverse isoforme di CYP450, infatti la struttura di questo alcaloide è strategica per influenzare l'ossidazione microsomiale di un gran numero di composti (Figura 6) (Mhaske DB, 2018).

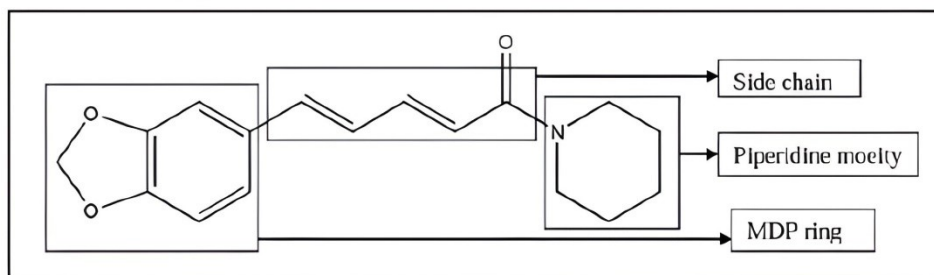


Figura 6. Struttura della piperina (Mhaske DB, 2018).

Per quanto riguarda la sensibilità con cui il CYP450 viene discriminato sembra che ciò sia condizionato dalla parte della piperidina e dall'anello MDP (Mhaske DB, 2018).

A proposito della struttura, la piperina recentemente è stata definita come una specie trimorfa, è proprio questo che la rende un efficace Bioenhancer, poiché i due nuovi polimorfi della piperina mostrano maggiore solubilità rispetto al polimorfo commerciale (Mhaske DB, 2018).

Per quanto riguarda le metodiche estrattive l'oleoresina è la parte del pepe estraibile con solvente, si ottiene per estrazione ripetuta del pepe nero macinato da solventi organici volatili come etanolo, acetone, etere, diclorometano o aceto di etile e successiva rimozione del solvente a pressione ridotta (Gorgani et al., 2017).

In generale la metodica di estrazione deve essere la più semplice, economica ed efficace possibile, in molti casi i costi inerenti alle fasi di estrazione e purificazione occupano dal 50% al 90% del costo sul prodotto finale. Pertanto occorre selezionare con attenzione la metodica estrattiva e il solvente di estrazione adatti per aver il più vantaggioso impatto economico sul prodotto finale (Gorgani et al., 2017).

Per quanto riguarda l'estrazione della piperina i metodi convenzionali più utilizzati sono quelli che prevedono l'estrazione con solvente mediante idrocarburi alifatici e clorurati, tuttavia questi solventi non sono selettivi per quanto riguarda la piperina, pertanto l'estratto ottenuto conterà alcuni componenti come resine e gomme (Gorgani et al., 2017).

Nel momento in cui è necessario allestire una preparazione farmaceutica, è importante che la purezza della piperina sia compresa tra il 95% e il 98% , a tal proposito l'estratto di oleoresina con purezza del 40%-50% richieda ulteriori purificazioni. I metodi più comuni per la purificazione della piperina sono la cristallizzazione da soluzioni alcoliche acquose e il trattamento con soluzioni alcaline acquose che inevitabilmente diminuiscono la resa della piperina (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

Le metodiche estrattive tradizionali, che comprendono macerazione e Soxhlet, richiedono lunghi tempi di estrazione, elevate temperature che rischiano di degradare i principi attivi, un grande quantitativo di solvente e un selettività tutto sommato ridotta (Gorgani et al., 2017).

Ciò ha portato a ricercare metodi estrattivi avanzati per ridurre al minimo la perdita di prodotto e produrre composti bioattivi con specifiche

caratteristiche qualitative, le tecniche più moderne per l'estrazione della piperina sono: estrazione con CO₂ supercritica, estrazione assistita da ultrasuoni (UAE), estrazione assistita da microonde (MAE) (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

Considerando gli aspetti formulativi di questa interessante molecola, più del 40% dei composti vegetali sono insolubili in acqua e la piperina fa parte di questa categoria in quanto membro della famiglia dei lipidi (Gorgani et al., 2017).

Nonostante le numerose proprietà terapeutiche, la sua scarsa solubilità in acqua e la bassa dissoluzione ne hanno limitato l'efficacia clinica. Infatti la sua natura idrofoba e il suo elevato indice di ripartizione lipidi/acqua, sono la ragione principale della sua limitata biodisponibilità e la ragione vincolante per il suo sviluppo come farmaco poiché la scarsa solubilità in acqua incide sulla velocità di assorbimento, per ovviare il problema sono state introdotte nuove tecniche formulative (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

Le nanoformulazioni e gli incapsulamenti nei corpi lipidici sono tra gli approcci più utilizzati per rendere la piperina più biodisponibile (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

Facendo una panoramica sulle possibili soluzioni formulative che possono ovviare il problema, spiccano le nanoparticelle lipidiche (Lee et al., 2018).

Le nanoparticelle si trovano in forma solida con grandezze che variano tra i 10-1000 nM, dove il farmaco è dissolto, incapsulato e attaccato ad una specifica matrice. Presentano notevoli vantaggi in quanto: sono compatibili sia con farmaci idrofili che idrofobici, mostrano elevata stabilità e elevata specificità per il sito attivo, permettendo il rilascio controllato dei farmaci, possiedono la capacità di attraversare le barriere biologiche (Lee et al., 2018).

Vengono usate per modificare e migliorare le proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche di diverse tipi di molecole rilasciando una certa quantità di farmaco in locazioni specifiche, influenzando la distribuzione di farmaci nell'organismo (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

In uno studio di Veerareddy e Vobalaboina sono state preparate tre tipi di nanoparticelle: nanosfere lipidiche di piperina, stearilamina caricata positivamente e nanosfere lipidiche coniugate con polietilenglicole (PEGilato) di piperina. Dopo aver valutato l'efficacia di ciascuna formulazione in termini di farmacocinetica e distribuzione tissutale di piperina nei topi, è stato osservato che le nanosfere lipidiche migliorano in modo significativo il tempo di resistenza medio e l'AUC della piperina (Veerareddy & Vobalaboina, 2008). Tra le formulazioni testate le nanosfere lipidiche PEGilate (Figura 7) sono risultate le più efficaci nel migliorare l'esposizione sistemica di piperina, presentando una C_{max} e l'AUC più elevate rispetto le soluzioni di piperina (Lee et al., 2018).

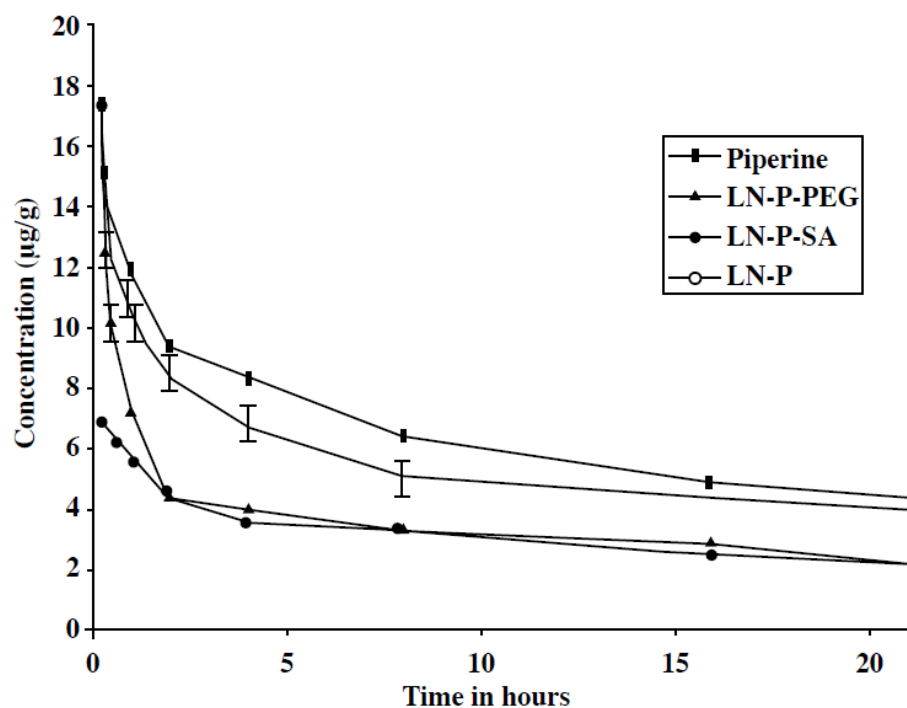


Figura 7. Rappresentazione della concentrazione di piperina nel fegato dopo la somministrazione endovenosa di piperina, LN-P-PEG (nanosfere lipidiche piperina pegilate), LN-P-SA(nanosfere di stearilamina caricate positivamente con piperina), LN-P (nanosfere lipidiche di piperina). La piperina incapsulata con LN pegilato ha mostrato una maggiore AUC e una minore clearance con un relativo incremento del profilo farmacocinetico (Veerareddy & Vobalaboina, 2008).

Questo tipo di formulazione permette inoltre di sfruttare il potere neuroprotettivo della piperina, pertanto Yusuf et al. hanno fabbricato

nanoparticelle lipidiche solide di piperina rivestite con polisorbato-80 mediante una tecnica di diffusione del solvente per emulsione, per il targeting specifico del cervello, in modo tale da permettere una valutazione circa gli enzimi coinvolti nella manifestazione del morbo di Alzheimer (Yusuf et al., 2013).

Le nanoparticelle lipidiche hanno mostrato un'esposizione maggiormente prolungata e più elevata di piperina nel cervello riducendo lo stress ossidativo, rispetto alla soluzione di piperina (Yusuf et al., 2013).

In un altro studio di Pachauri et al. sono state preparate delle nanoparticelle PEGilate di piperina coniugate con un aptamero contro mucina 1 (proteoglicano associato alla superficie delle cellule epiteliali di polmone, stomaco, intestino e altri organi), per la somministrazione di piperina alle cellule tumorali destinate a superare la multiresistenza nella chemioterapia oncologica. Questo tipo di formulazione ha aumentato notevolmente la biodisponibilità di piperina diminuendone l'assorbimento metabolico, quindi rallentandone l'eliminazione, e ha dimostrato che l'effetto combinato di questa formulazione con farmaci chemioterapici come il paclitaxel (Figura 8), ha migliorato l'effetto terapeutico del farmaco contro la crescita delle cellule tumorali, con una riduzione della dose e della tossicità di farmaco (Pachauri et al., 2015).

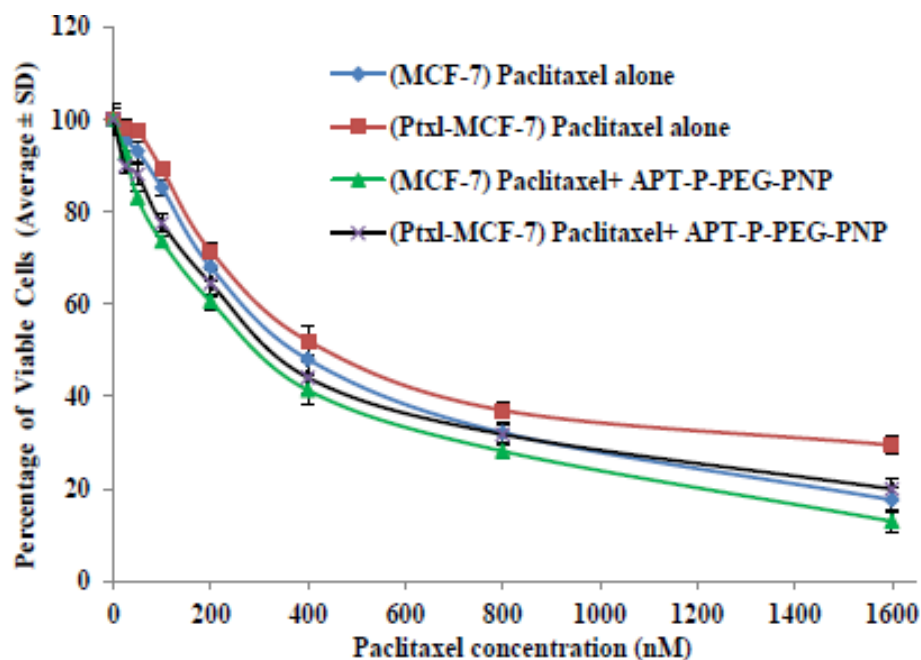


Figura 8. Rappresentazione di studi combinati con APT-P-PEG-PNP con paclitaxel e 50 μ M di piperina dimostrano una discreta riduzione del valore di paclitaxel IC₅₀ da 369,5 nM a 290,2 Nm per le cellule MCF-7 (ovvero una linea cellulare di carcinoma mammario). Pertanto, è dimostrato che la terapia in combinazione con piperina sotto forma di APT-P-PEG-PNP, mostra una migliore efficienza di paclitaxel permettendone una riduzione della dose (Pachauri et al., 2015).

Uno degli approcci più efficienti per somministrazione continua e controllata di farmaci è quello delle microsfe: polveri a flusso libero fatte di polimeri e proteine biodegradabili e non con dimensioni che variano da 1tp (total protein) a 1000 μ M. Quelle utilizzate nei sistemi di somministrazione di farmaci sono le microsfe adesive, galleggianti e magnetiche. Nel tipo mucoadesivo, il farmaco si attacca alla membrana mucosa utilizzando polimeri idrosolubili che hanno una proprietà adesiva. Nel tipo flottante invece, la densità apparente delle microsfe è inferiore a quella del liquido gastrico, il che fa sì che rimanga fluttuante nello stomaco (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

Una volta che si verifica lo svuotamento gastrico, le particelle si distribuiranno su un'ampia area di siti di assorbimento, aumentando la possibilità di rilascio del farmaco e rallentandone la velocità ottenendo un effetto

terapeutico prolungato che inevitabilmente ne diminuisce il dosaggio (Gorgani et al., 2017).

Uno studio condotto da Khatri e Awasthi ha dimostrato come microsfele galleggianti caricate con piperina e aciclovir, dove la piperina è stata incorporata come biopotenziatore mentre l'aciclovir svolge la funzione di antivirale in grado di interferire con la sintesi del DNA dei virus; hanno aumentato l' AUC di due volte rispetto la soluzione di aciclovir senza piperina, se somministrate per via orale. Questi risultati possono essere attribuiti alla maggiore residenza delle microsfele all'interno del tratto gastrointestinale superiore e all'attività biopotenziatrice della piperina (Khatri & Awasthi, 2016).

Un'altra tecnica formulativa promettente per aumentare la biodisponibilità della piperina è quella focalizzata sull'utilizzo delle dispersioni solide.

Questa tecnica formulativa viene utilizzata per migliorare la biodisponibilità e la distribuzione dei farmaci scarsamente solubili in acqua disperdendoli in un vettore idrofilo (Lee et al., 2018).

In generale i sistemi di somministrazione di farmaci autoemulsionati (SEEDs) sono miscele isotropiche di oli naturali o artificiali e tensioattivi solidi o liquidi, eventualmente accompagnati da co-solventi per incrementare la solubilità di farmaci e veicoli ed evitarne la ricristallizzazione (Gorgani et al., 2017).

Questo tipo di formulazioni è caratterizzato da una serie di aspetti positivi in quanto si può assistere ad una dimensione ridotta delle particelle, ad un aumento della bagnabilità del farmaco e della porosità delle particelle e alla presenza di farmaci allo stato amorfo, ciò porta ad una maggiore dissoluzione dei farmaci scarsamente solubili (Lee et al., 2018).

Zulal e Lakshmi presentano in uno studio l'efficacia di una dispersione solida della miscela piperina-Candesartan cilexetil (CDS), un farmaco il cui efflusso è mediato dalla glicoproteina-P e, avendo una bassa solubilità in acqua, è poco biodisponibile. La piperina è stata incorporata come inibitore della glicoproteina-P e queste dispersioni solide hanno migliorato la dissoluzione del farmaco in acqua da 2 a 4 volte, a seconda del rapporto farmaco/vettore, inoltre

la biodisponibilità di CDS è stata incrementata del 68% rispetto alla dispersione solida senza piperina (Zulal & Lakshmi, 2015).

Altra interessante tecnica formulativa è quella che prevede l'utilizzo di fitosomi. I fitosomi sono delle strutture sferiche chiuse, con dimensioni variabili intorno ai 20 nm fino a diversi micrometri, possono essere fabbricati a partire dal colesterolo o da doppi strati fosfolipidici naturali. Hanno la caratteristica di essere biodegradabili, biocompatibili e atossici con la capacità di veicolare farmaci idrofobici, idrofilici e anfifilici, questo è possibile in quanto farmaci idrosolubili saranno circondati dal liposoma, mentre quelli liposolubili saranno inseriti nel doppio strato fosfolipidico del liposoma (Gorgani et al., 2017).

Somministrazioni fitosomiali di farmaci co-somministrati a piperina oltre a promuovere la biodisponibilità, possono veicolare il farmaco in maniera più rapida e specifica (Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, 2016).

Infine innumerevoli studi dimostrano l'efficacia della piperina utilizzata come Bioenhancer per incrementare l'effetto di farmaci e fitoterapici.

Uno studio condotto da Sethiya et al. prende in considerazione un fitoterapico a base di fillantina, una lignina epatoprotettrice, poco solubile in acqua e conseguentemente poco biodisponibile. La fillantina insieme alla piperina è stata formulata come formulazione lipidica micellare mista (MMLF), sistemi di somministrazione di farmaci a base di fosfolipidi formati dall'incorporazione di farmaci target in una frazione bioenhancer per migliorare la scarsa solubilità e assorbimento acquoso, per risolvere la bassa biodisponibilità e migliorare gli effetti epatoprotettivi sulla somministrazione orale (Sethiya et al., 2015). Il complesso MMLF ha normalizzato le condizioni avverse dei fegati di ratto in modo più efficiente rispetto alla fillantina non formulata (Figura 5), quindi i risultati attuali indicano che, considerando una serie di parametri, l'MMLF è utile per risolvere il problema della bassa biodisponibilità della fillantina (Sethiya et al., 2015).

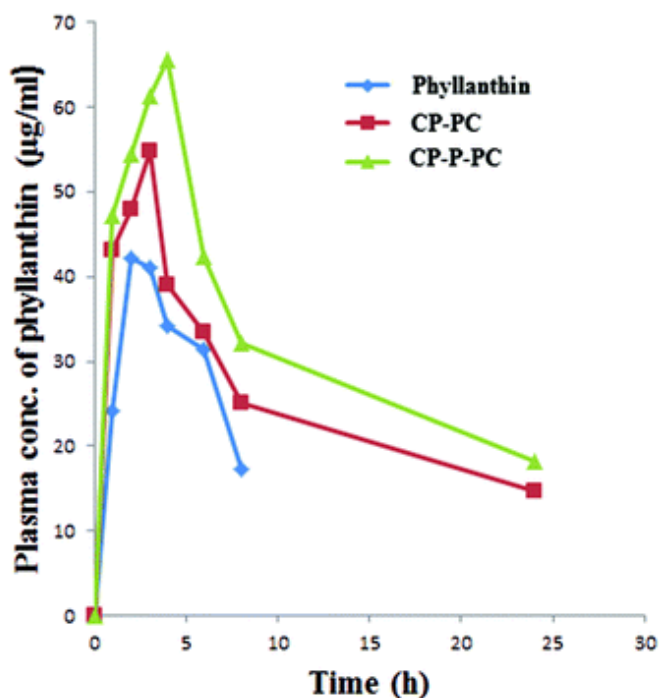


Figura 5. Rappresentazione della concentrazione plasmatica di fillantina raggiunto dopo il trattamento con fillantina isolata, CP-PC (fosfatidilcolina di fillantina) e CP-P-PC (fillantina + piperina). Il picco del complesso di CP-P-PC dimostra che la biodisponibilità è stata migliorata dopo somministrazione orale con un mantenimento della concentrazione nel tempo più duraturo (Sethiya et al., 2015).

Uno studio di JIN Zhao-Hui et al. dimostra come ginsenoside Rh2, stimolante del sistema immunitario con attività antitumorale, è uno dei principali ginsenosidi bioattivi del *Panax ginseng* ed è caratterizzato da una bassa biodisponibilità a causa delle sue interazioni con la glicoproteina-P e il CYP3A4. L'obiettivo dello studio è quello di determinare l'effetto inibitorio della piperina nei confronti di queste due proteine per potenziare la bioattività di Rh2 (JIN et al., 2018).

I risultati hanno indicato che la piperina ha aumentato significativamente la permeabilità di Rh2 inibendone il metabolismo. I risultati dello studio di farmacocinetica hanno mostrato che l'AUC di Rh2 era significativamente aumentata in combinazione con piperina ad alte dosi rispetto al gruppo di controllo, con una biodisponibilità relativa del 196,8% (Figura 6) (JIN et al., 2018).

In conclusione, la piperina può essere utilizzata come biopotenziatore per migliorare l'effetto farmacologico di Rh2 quando somministrato per via orale (JIN et al., 2018).

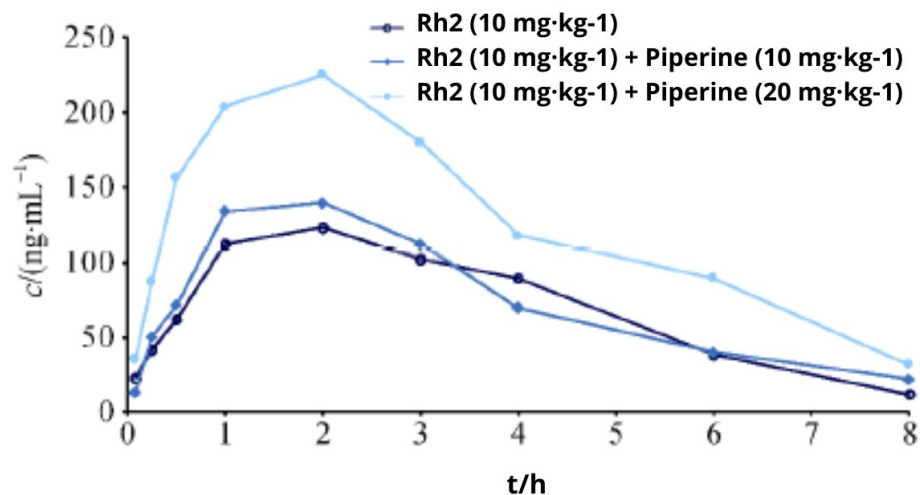


Figura 6. Concentrazione plasmatica di Rh2 nel tempo dopo somministrazione orale da solo o in combinazione con dosi crescenti di piperina. Si noti come il picco della formulazione contenente Bioenhancer subisca un incremento distinguibile (JIN et al., 2018).

Oltre a svolgere il ruolo di biopotenziatore erbale come dimostrato, la piperina può svolgere un' importante attività antinfiammatoria, antiossidante, antidiabetica, anticancerogena e metabolica, ciò la rende un' interessante molecola con risvolti terapeutici e farmacologici considerevoli (Gorgani et al., 2017).

4.2 Curcumina

La curcumina è un polifenolo idrofobico ed è uno dei principali curcuminoidi ottenuto dalla *Curcuma longa* L., viene utilizzata molto in India sia in ambito culinario, in quanto è largamente impiegata come spezia o condimento, sia in ambito tradizionale, sfruttando il suo potere colorante per unguenti e creme (Ajazuddin et al., 2014).

Oltre agli usi comuni, la curcumina si è rivelata un ottimo antinfiammatorio ed è stata usata come Bioenhancer per agenti antimicrobici e farmaci antitumorali, esibisce inoltre attività antivirali, antibatteriche, antimicotiche, e antiamiloidi; pertanto la curcumina ha raggiunto il potenziale interesse terapeutico per il trattamento delle malattie immunitarie e infiammatorie, metaboliche, neoplastiche, cardiovascolari e neurodegenerative, nonché del cancro, del diabete, della fibrosi cistica e di altri disturbi (Ajazuddin et al.,

2014). Il meccanismo attraverso il quale questa molecola esplica la sua azione è: sopprimendo gli enzimi, come il CYP3A4, che sono responsabili del metabolismo di molti farmaci a livello del fegato e inducendo dei cambiamenti conformazionali a livello della glicoproteina-P, responsabile dell'efflusso di xenobiotici (Ajazuddin et al., 2014). La curcumina non attenua la funzione della glicoproteina-P e del CYP3A4 in vivo, ma influenza la farmacocinetica di una serie di farmaci come antitumorali, antivirali e antiaggreganti attraverso una bassa regolazione dell'espressione di queste due proteine nell'intestino tenue (Zhang & Lim, 2008).

Due studi hanno esaminato l'effetto della curcumina sull'esposizione sistemica al talinololo (farmaco beta-bloccante), la presenza della curcumina è stata associata a un minor tasso di assorbimento del farmaco. In vitro, questa molecola ha indotto una sovraregolazione concentrazione-dipendente dell' mRNA del gene codificante la glicoproteina-P e la C_{max} e l' AUC del talinololo sono aumentate rispettivamente del 20% e dell' 80% (Elmeliegy et al., 2020). In vitro inoltre, è stato dimostrato che la curcumina a concentrazioni relativamente elevate di 30-60 μ M inibiscono il trasporto di digossina mediato da P-gp nelle cellule (Elmeliegy et al., 2020). Paradossalmente però, lo stesso studio sottolinea che l'effetto modulatorio della curcumina sui trasportatori (P-gp), anche a dosi elevate, sarà limitato solo all'intestino e non ci si aspetterebbe alcun effetto a livello renale o del fegato (Elmeliegy et al., 2020). Tuttavia, l'applicazione terapeutica di questa molecola è limitata a causa di una scarsa biodisponibilità sistemica dopo somministrazione orale, dell'insolubilità in acqua, del rapido metabolismo e della breve emivita della curcumina, infatti nonostante un apporto elevato di questa molecola, la curcumina subisce una rapida glucuronidazione che mantiene basse le concentrazioni plasmatiche (Ratanavaraporn & Kanokpanont, 2014). La curcumina addizionata a piperina, può dare dei risvolti interessanti, così come riportato da uno studio di Ratanavaraporn & Kanokpanont, i quali hanno allestito delle microsfele caricate con curcumina e piperina, utilizzando gelatina e fibroina di seta per il rilascio controllato delle due molecole. Nello specifico, le microsfele reticolate con glutaraldeide sono state preparate mediante la tecnica dell'emulsione A/O, e hanno mostrato un rilascio prolungato di curcumina e piperina nel tempo (Ratanavaraporn & Kanokpanont, 2014). Questi risultati indicano che il doppio rilascio controllato di farmaco dalle microsfele potrebbe prolungare l'emivita sia della curcumina che della piperina e potrebbe

raggiungere le concentrazioni ottimali necessarie per l'effetto terapeutico desiderato in un sito bersaglio (Ratanavaraporn & Kanokpanont, 2014).

In un altro studio di Hussaarts et al. è stata confrontata l'esposizione a tamoxifene (profarmaco), in pazienti con il cancro al seno, in presenza e assenza di cumarina e con l'aggiunta di piperina (Hussaarts et al., 2019). Il tamoxifene, farmaco antitumorale appartenente alla famiglia dei modulatori selettivi del recettore degli estrogeni (SERM), mostra un metabolismo complesso, che si verifica principalmente nel fegato. Esso infatti viene metabolizzato principalmente dagli enzimi del citocromo P450 (CYP2D6 e CYP3A4) (Hussaarts et al., 2019). Lo studio dimostra come la curcumina abbia un effetto inibitorio proprio su CYP3A4 e CYP2D6 e come agisca sul metabolismo di farmaci di fase II mediante l'inibizione dell'enzima UGT. Inoltre, la somministrazione concomitante con il biopotenziatore piperina può potenziare gli effetti sulla farmacocinetica plasmatica di tamoxifene (Hussaarts et al., 2019). Per favorire l'assorbimento della curcumina e la sua biodisponibilità, ancora troppo limitati per mostrare degli effetti benefici, è stata sviluppata una curcumina altamente assorbente dispersa in nanoparticelle colloidali chiamata THERACURMIN. L'efficacia di questo tipo di formulazione è stata confrontata con curcumina in polvere, l'AUC dopo la somministrazione orale di THERACURMIN è risultata essere 27 volte superiore rispetto a quella in polvere (Ujita et al., 2011). Questi risultati dimostrano che THERACURMIN può essere sfruttata per esercitare effetti benefici nell'uomo ad un dosaggio inferiore (Ujita et al., 2011).

Sono state sviluppate ulteriori formulazioni vantaggiose come nano/micro emulsioni, liposomi, idrogel, sistemi micellari per usufruire dei benefici terapeutici che la curcumina può offrire (Mande et al., 2016) (Ipar et al., 2019). Questi sistemi, come nel caso della piperina, conferiscono alla molecola, naturalmente insolubile in acqua e quindi lipofila, l'idrofilia tale da permettere di ottimizzare l'assorbimento di curcumina, affinché possa essere assorbita per svolgere il ruolo di Bioenhancers (Mande et al., 2016).

4.3 Allicina

Fin dai tempi antichi l'aglio (*Allium sativum* L.) è stato utilizzato in tutto il mondo non solo come alimento ma anche come medicinale grazie ai suoi effetti benefici sul sistema immunitario (Taylor, 2007). L'aglio, per reazione enzimatica, produce allicina,

una sostanza usata come meccanismo di difesa, infatti sembra essere un ottimo insetticida (Taylor, 2007). L'allicina è un composto contenente zolfo e presenta attività antiplastrinica, attività antiossidante, attività antibatterica, attività antitumorale, effetto immunomodulante, attività antidiabetica, attività antiparassitaria, attività antimicotica, attività antiossidante e antinfiammatoria, e infine attività antivirale (Dudhatra et al., 2012b). Più precisamente assistiamo a una riduzione dei fattori di rischio per le malattie cardiovascolari e il cancro, a una stimolazione della funzione immunitaria, al potenziamento della disintossicazione da composti estranei, alla radioprotezione, al ripristino della forza fisica, all'abbassamento del colesterolo, alla resistenza a vari stress e potenziali effetti anti-invecchiamento (Taylor, 2007). Molti composti organosulfurici, che sono i principali principi attivi dell'aglio, hanno inibito la proliferazione delle cellule tumorali e alcuni di essi hanno indotto l'apoptosi in cellule tumorali di diversa origine tissutale (Taylor, 2007). Parlando dell'attività antimicotica, il Cu^{2+} ha mostrato un'attività fungicida dose-dipendente contro le cellule di *Saccharomyces cerevisiae*, ebbene questo effetto è stato potenziato in presenza di allicina. Le cellule trattate con allicina hanno mostrato una maggiore sensibilità al successivo trattamento con Cu^{2+} , dimostrando che questa molecola influenza la modalità di localizzazione di localizzazione cellulare contro la perossidazione fosfolipidica mediante l'azione esterna di Cu^{2+} (Dudhatra et al., 2012b). È stato poi dimostrato in uno studio di Ogita et al. la capacità dell'allicina di potenziare l'attività fungicida dell'amfotericina B (antibiotico per il controllo delle infezioni fungine) contro il lievito *Saccharomyces cerevisiae*, favorendo un cambiamento della permeabilità della membrana plasmatica e alla membrana del vacuolo. Questo composto ha aumentato il danno strutturale indotto da amfotericina B a una dose non letale (Akira Ogita, Ken-ichi Fujita, 2009). Oltre a questo l'allicina potrebbe anche potenziare l'attività antimicotica di amfotericina B contro il fungo *C. albicans* e contro *Aspergillus fumigatus* questo perché l'allicina inibendo il traffico dell'ergosterolo dalla membrana plasmatica alla membrana del vacuolo induce un potenziato danno strutturale (Akira Ogita, Ken-ichi Fujita, 2009).

4.4 Naringina

La Naringina è il principale glicoside flavonoide presente nel pompelmo, nelle mele, nelle cipolle e nel tè. Sull'organismo esplica notevoli effetti farmacologici infatti si attribuiscono attività antiossidante, attività antiulcera, attività antiallergica e attività

antitumorale e ipolipemizzante nel sangue (Dudhatra et al., 2012b). Questa molecola è in grado di agire sulla P-gp e sul CYP3A4 inibendole, diminuendo così il metabolismo di molti farmaci come: diltiazem, verapamil, paclitaxel; causando conseguentemente un aumento della concentrazione plasmatica e una riduzione della dose (Dudhatra et al., 2012b).

In uno studio di Choi et al. è stato valutato l'effetto terapeutico indotto dalla somministrazione di paclitaxel da solo e insieme a naringina. I risultati hanno mostrato un aumento dell'AUC con un incremento della biodisponibilità assoluta e relativa di paclitaxel somministrato insieme a naringina rispetto al gruppo di controllo (Dudhatra et al., 2012b).

Il meccanismo d'azione che sta dietro all'aumentata biodisponibilità del farmaco è correlata a una soppressione della glicoproteina-P e del CYP3A4 a livello della mucosa gastrointestinale. (Dudhatra et al., 2012b). Infine la naringina, essendo un bioflavonoide, possiede un effetto antiproliferativo sulle cellule tumorali e, oltre a questo, è capace di inibire l'efflusso di P-gp e CYP3A4 che sono responsabili del metabolismo di molti farmaci. Concludendo, queste caratteristiche rendono possibile l'uso di naringina in combinazione con farmaci antitumorali per il trattamento di vari tipi di cancro con diversi tipi di farmaci (Dudhatra et al., 2012b). Queste terapie combinate con naringina permettono di abbassare la dose dei farmaci con cui viene combinata, diminuendone la tossicità e gli effetti collaterali, grazie alla sua interazione con CYP3A4 e glicoproteina-P che permette un potenziamento della biodisponibilità e un'ottimizzazione della farmacocinetica dei farmaci utilizzati (Dudhatra et al., 2012b). Anche la naringina è una molecola caratterizzata da una natura idrofoba a cui consegue una bassa solubilità e scarsa biodisponibilità, per questo, anche in questo caso sono state sviluppate delle forme farmaceutiche per fronteggiare questo aspetto negativo (Bhia et al., 2021). In generale i nanomateriali sono stati ampiamente utilizzati poiché ne migliorano la solubilità, la biocompatibilità, la biodisponibilità e l'efficienza terapeutica (*ibidem*, 2021). Tra questi i nanocarrier polimerici (naturali o sintetici) più utilizzati sono: nanocarrier a base lipidica, nanoparticelle polimeriche, idrogel, micelle, nanoparticelle a base proteica, nanocarrier a base di carbonio, liposomi, nanoemulsioni e nanosospensioni (*ibidem*, 2021). Queste strutture incapsulano la naringina rilasciandola in modo controllato a livello tissutale (Bhia et al., 2021).

4.5 *Zinger officinalis* R.

Lo zenzero (*Zinger officinalis* R.) è un rizoma dal caratteristico odore fresco e pungente che viene attribuito ai costituenti volatili dell'olio; contiene svariati principi attivi noti appartenenti alla famiglia dei gingeroli, il principale è il [6]-gingerolo (Dudhatra et al., 2012a). Grazie ai suoi attivi, esplica molteplici attività come: attività antiulcera, antitrombotica, antimicrobica, antimicotica, antinfiammatoria e antitumorale (Dudhatra et al., 2012a). Tra tutte spicca la capacità dello zenzero di fungere da Bioenhancer favorendo la l'assorbimento di un determinato farmaco attraverso una regolazione della funzione intestinale; proprio per questo è uno dei componenti del Trikatu, molto utilizzato nella medicina tradizionale Ayurvedica (R.K. Johri and U. Zutshi, 1992). Lo zenzero può andare a potenziare la bioefficacia di una serie di farmaci, prodotti naturali e nutraceutici, dove una dose efficace di estratto o di frazioni bioattive viene combinata con uno o più additivi selezionati tra nutrienti, antiossidanti, farmaci, prodotti erboristici e facoltativamente una quantità definita di piperina (Dudhatra et al., 2012a).

Gli estratti o frazioni bioattive di *Z. officinalis* mantengono però la loro attività di biopotenziamento sia in presenza che in assenza di piperina (Qazi et al., 2003). È stato riscontrato che lo zenzero aumenti la biodisponibilità del farmaci antitumorali metotrexato e 5-fluorouracile, rispettivamente dell'87% e del 110%, e che migliori la biodisponibilità di aciclovir dell'82% (*ibidem*, 2003). La frazione bioattiva è comunque in grado di potenziare la biodisponibilità di preparati erboristici e nutraceutici, per esempio la vitamina A se co-somministrata con gli attivi dello zenzero può incrementare la biodisponibilità fino al 30% (Dudhatra et al., 2012a). Seguendo lo studio di Qazi et al. le forme di realizzazione migliori per favorire il biopotenziamento di farmaci e fitoterapici sono le preparazioni di un estratto acquoso, uno alcolico acquoso, uno chetonico e alogenato della frazione attiva di *Zingiber oggicinalis* R., che vengono poi valutati terapeuticamente con categorie terapeutiche di farmaci e nutrienti (e in combinazione con piperina) (Qazi et al., 2003).

È stata riscontrata un'inibizione parziale degli specifici enzimi metabolizzanti i farmaci, responsabili della biotrasformazione selettiva delle molecole, prolungandone così il tempo di eliminazione o l'emivita biologica degli xenobiotici (Qazi et al., 2003). Ciò si ritiene possa essere causato da una maggiore penetrazione dei farmaci nei loro

bersagli cellulari o molecolari, grazie anche a una maggiore interazione con i legami proteici/tissutali, che possono aumentare l'effetto biopotenziante (*ibidem*, 2003).

Ancora una volta si può confermare come intervengano le frazioni attive di zenzero, cioè, inibendo la riduzione del tasso di biotrasformazione dei farmaci nel fegato o nell'intestino, modificando il sistema immunitario in modo tale da ridurre il fabbisogno complessivo del farmaco, aumentando la penetrazione di attivo nei patogeni anche quando sviluppano resistenza all'interno dei macrofagi e migliorando il legame del farmaco con i siti bersaglio (recettori, proteine, etc) (Qazi et al., 2003).

4.6 Glicirrizina

La glicirrizina è un glicoside saponinico ottenuto da radici e stoloni di *Glycyrrhiza glabra* L. Ne sono attribuite molteplici attività tra cui quella espettorante, motivo per il quale viene utilizzata in molti preparati per la tosse, quella immunostimolante, quella diuretica, quella lassativa; stimola inoltre la ghiandola surrenale e migliora l'attività di vari agenti antimicrobici contro i ceppi Gram-positivi (Ajazuddin et al., 2014).

Anche la glicirrizina agisce andando a inibire il trasportatore di efflusso P-gp che è presente nell'intestino, mentre l'attività biopotenziante dipende dalla sua conversione da parte dell'enzima batterico intestinale β -glucuronidasi ad acido glicirretico (Ajazuddin et al., 2014). Uno studio di Chen et al. prende in considerazione gli effetti del diammonio glicirrinato sulla farmacocinetica dell'aconitina, un potente pseudoalcaloide diterpenoidico che si trova in alcune specie della famiglia Ranunculaceae ad oggi utilizzato nella medicina omeopatica (Chen et al., 2009). La teoria che vuole essere dimostrata è che la glicirrizina, un acido organico debole, riduce la tossicità dell'aconitina, che è una base organica debole, attraverso una reazione che produce un complesso che altera la biodisponibilità orale dell'aconitina. Lo studio afferma che dopo co-somministrazione con glicirrizina, l'AUC, la C_{max} e la biodisponibilità assoluta di aconitina sono aumentate rispettivamente di 1,64; 1,63 e 1,85 volte (Chen et al., 2009).

Dai risultati ottenuti, però, la glicirrizina non influisce sulla farmacocinetica e sull'eliminazione dell'aconitina, ma ne aumenta solo l'assorbimento, alzandone i livelli di concentrazione plasmatica e biodisponibilità orale (Chen et al., 2009). Infine, Yang et al. (2001) hanno riportato che la glicirrizina è un potenziale inibitore di CYP3A, CYP1A e CYP2E1 nei microsomi epatici di ratto, ragion per cui la biodisponibilità di

aconitina, il cui metabolismo è mediato da CYP3A, è stata incrementata (Chen et al., 2009).

4.7 *Carum carvi* L.

Dai semi essiccati e schiacciati di *Carum carvi* L., si ottiene l'olio di cumino, che ha come principali componenti attivi il limonene e il carvone. I semi sono ampiamente utilizzati come spezia per insaporire diversi tipi di cibi, ma è una specie vegetale molto conosciuta per la sua attività antiulcera, per l'effetto ipoglicemizzante, per l'attività antimicrobica, diuretica, antiossidante, antiaflatossigena e antimicotica (Ajazuddin et al., 2014). Pare che l'effetto di biopotenziamento del *Carum carvi* L. possa essere dovuto al miglioramento della permeazione a livello della mucosa, o al suo effetto sul trasportatore P-gp (Ajazuddin et al., 2014).

In uno studio di Qazi et al. è stato studiato l'effetto dell'estratto di *Carum carvi* L. sia singolarmente che in associazione a piperina e zenzero per migliorare la biodisponibilità e il profilo farmacocinetico di diversi farmaci, nutraceutici (come carotenoidi, amminoacidi e vitamine) e preparazioni erboristiche (come estratti vegetali, pomate, tinture e oleoliti) e, soprattutto, per potenziare la bioattività di antibiotici, farmaci antimicotici, antivirali e antitumorali (Qazi et al., 2003).

Lo studio riporta anche che in combinazione con zenzero e piperina il *C. carvi* L. manifesta un effetto sinergico che vada a potenziare gli effetti di molti farmaci come antibiotici, antimicotici, antivirali, antitumorali, cardiovascolari, , antistaminico, corticosteroidi, immunosoppressori, antiulcera. (Ajazuddin et al., 2014).

4.8 Capsaicina

La capsaicina è il componente attivo del peperoncino, risulta irritante per i mammiferi e produce una sensazione di bruciore quando viene a contatto con i tessuti, ed è uno dei principali capsaicinoidi presenti nei frutti delle piante del genere *Capsicum* (Dudhatra et al., 2012a). Queste piante sono note per il loro valore medicinale, il cui utilizzo è comune nei disturbi respiratori e gastrointestinali, nel sollievo dal mal di orecchi e nel trattamento delle ferite (Gerber et al., 2019). Ad oggi è noto come la capsaicina funga da inibitore della proliferazione del melanoma, induca l'apoptosi nelle ghiandole mammarie umane e sia capace di inibire i trasportatori di efflusso di P-gp

(Gerber et al., 2019). Nello studio di Cruz et al. si è dimostrata la capacità della capsaicina di ridurre la biodisponibilità di aspirina e dell'acido salicilico nei ratti (Cruz et al., 1999). Infatti la somministrazione cronica una volta al giorno per quattro settimane di estratto di capsaicina ha determinato livelli ematici di aspirina non rilevabili, mentre la biodisponibilità dell'acido salicilico è stata ridotta rispettivamente del 76% , con valori di C_{max} e AUC inferiori rispetto ai modelli di controllo (Cruz et al., 1999). Questo avviene a causa degli effetti che la capsaicina può provocare a livello intestinale, dimostrando che la biodisponibilità orale del farmaco si è abbassata (Cruz et al., 1999). In un altro studio di Bouraoui et al. si prende in considerazione la farmacocinetica e il metabolismo della teofillina nei conigli dopo somministrazione di capsaicina (Bouraoui et al., 1995). Si è notato che l'emivita di distribuzione e di eliminazione della teofillina plasmatica, le aree sotto le curve plasmatiche, la clearance e il volume di distribuzione non hanno mostrato differenze significative (Bouraoui et al., 1995). Al contrario, la costante di velocità di eliminazione è significativamente diversa dopo una singola dose di capsaicina (*ibidem*, 1995). Ciò conferma che a causa di questa molecola la biodisponibilità della teofillina da una capsula di gelatina a rilascio prolungato è migliorata (Bouraoui et al., 1995). Un altro studio di Gerber et al. dimostra come la co-somministrazione di piperina e capsaicina possa migliorare l'assorbimento e la modulazione di diversi tipi di farmaci a livello dell'epitelio nasale (Gerber et al., 2019). Dai risultati è chiaro come la capsaicina, inibisca l'efflusso di glicoproteina-P in misura maggiore rispetto alle somministrazioni che ne erano prive. Inoltre questa molecola non presenta particolare citotossicità fino a una concentrazione di 200 μ M, anche se le analisi istologiche dell'epitelio nasale hanno indicato la presenza di danni tissutali anche dopo il trattamento con 200 μ M di capsaicina (Gerber et al., 2019).

Infine si è visto che, in presenza di capsaicina e piperina, l'assorbimento dei substrati di glicoproteina-P può essere migliorato mediante questo tipo di co-somministrazione, dimostrando come le capacità inibitorie della capsaicina verso il metabolismo del CYP3A4 siano pari a quelle della piperina. Sarebbe interessante capire in studi futuri se gli effetti di inibizione del metabolismo contribuiscano al miglioramento dell'assorbimento dei farmaci (Gerber et al., 2019).

5. Conclusioni

Negli ultimi anni la ricerca scientifica e gli studi disponibili sugli Herbal Bioenhancers hanno dimostrato che essi possono potenziare la biodisponibilità di farmaci e fitoterapici (Dudhatra et al., 2012a). Gli studi citati in questo lavoro di tesi dimostrano l'esistenza di una grande varietà di molecole o principi attivi di origine vegetale capaci di svolgere il ruolo di biopotenziatori, con evidenti e comprovati effetti positivi sull'organismo (Ajazuddin et al., 2014). Questi composti, in modo più o meno determinante, riescono a ridurre le dosi del farmaco utilizzato, abbreviandone il trattamento terapeutico e conseguentemente riducendone i problemi di resistenza, tossicità e reazioni avverse ai farmaci, che sono particolarmente presenti in questo periodo storico (Dudhatra et al., 2012a).

L'utilizzo di biopotenziatori di origine vegetale, risulta un concetto innovativo poiché riduce le dosi di un farmaco e ne abbatta i costi del trattamento, rendendolo accessibile a una fetta più ampia di popolazione (Ajazuddin et al., 2014).

La piperina, fino ad oggi, è l'unico Bioenhancer ampiamente esplorato, studiato e utilizzato in un buon numero di prodotti farmaceutici come antimicrobici, analgesici, antiepilettici, anti-iperglicemici, antitumorali, anti-HIV e immunosoppressori (Mhaske DB, 2018).

Ci sono però molti altri Bioenhancers che non sono stati sufficientemente studiati in determinati settori e compartimenti dell'organismo. Per esempio la naringina, glicoside ottenuto dal succo di pompelmo, è stata segnalata come un Bioenhancers efficace nelle terapie accompagnate da farmaci antitumorali e steroidei, ma non è stata ancora esplorata in ambiti che ricorrono a farmaci antivirali, antinfiammatori e del SNC (Alexander et al., 2014).

Un altro limite degli studi effettuati fino ad oggi, è rappresentato dal fatto che la maggior parte delle ricerche recenti si è concentrata sulla somministrazione per via orale per dimostrare gli effetti farmacologici, tralasciando altre possibili vie (Ajazuddin et al., 2014).

Andrebbero quindi, messi a punto ulteriori studi volti a sfruttare le capacità di questi composti attraverso altre vie di somministrazione, concentrandosi, per esempio, su quei farmaci che possono agire sul sistema nervoso centrale per fronteggiare malattie come Alzheimer o il morbo di Parkinson (Ajazuddin et al., 2014).

Anche i profili di tossicità di questi Bioenhancers hanno dei risvolti notevoli che non dovrebbero essere ignorati, vedasi la co-somministrazione di farmaci e biopotenzianti, che può creare delle combinazioni farmaceutiche da non sottovalutare, soprattutto in ambito oncologico, limitando problemi di sovradosaggio, riducendo la durata del trattamento e la resistenza ai farmaci.

Infine, questi composti possono essere definiti sicuri, facilmente reperibili, green, privi di effetti collaterali (o avversi) e senza rischio di dipendenza. Pertanto, il loro utilizzo dovrebbe essere valorizzato per favorire nuovi progressi terapeutici e farmacologici (Ajazuddin et al., 2014).

6. Bibliografia

- Ajazuddin, Alexander, A., Qureshi, A., Kumari, L., Vaishnav, P., Sharma, M., Saraf, S., & Saraf, S. (2014). Role of herbal bioactives as a potential bioavailability enhancer for Active Pharmaceutical Ingredients. *Fitoterapia*, 97, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.05.005>
- Akira Ogita, Ken-ichi Fujita, T. T. (2009). *Enhancement of the Fungicidal Activity of Amphotericin B by Allicin : Effects on Intracellular Ergosterol Trafficking*. 222–226. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088376>
- Alexander, A., Qureshi, A., Kumari, L., Vaishnav, P., Sharma, M., Saraf, S., & Saraf, S. (2014). *Fitoterapia Role of herbal bioactives as a potential bioavailability enhancer for Active Pharmaceutical Ingredients*. *Fitoterapia*, 97, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.05.005>
- Bhardwaj, R. K., Glaeser, H., Becquemont, L., Klotz, U., Gupta, S. K., & Fromm, M. F. (2002). Piperine, a major constituent of black pepper, inhibits human P-glycoprotein and CYP3A4. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302(2), 645–650. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.034728>
- Bhia, M., Motallebi, M., Abadi, B., Zarepour, A., Pereira-Silva, M., Saremnejad, F., Santos, A. C., Zarrabi, A., Melero, A., Jafari, S. M., & Shakibaei, M. (2021). Naringenin nano-delivery systems and their therapeutic applications. *Pharmaceutics*, 13(2), 1–29. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020291>
- Bouraoui, A. I., Brazier, J. L., Zouaghi, H., & Rousseau, M. (1995). *Theophylline pharmacokinetics and metabolism in rabbits following single and repeated administration of Capsicum fruit*. 20(3), 173–178.
- Chen, L., Yang, J., & Davey, A. K. (2009). *Effects of diammonium glycyrrhizinate on the pharmacokinetics of aconitine in rats and the potential mechanism*. 39(August), 955–963. <https://doi.org/10.3109/00498250903271997>
- Cruz, L., Castañeda-hernández, G., & Navarrete, A. (1999). *Ingestion of chilli pepper (Capsicum annum) reduces salicylate bioavailability after oral aspirin administration in the rat*. 446, 441–446.
- Dudhatra, G. B., Mody, S. K., Awale, M. M., Patel, H. B., Modi, C. M., Kumar, A., Kamani, D. R., & Chauhan, B. N. (2012a). A comprehensive review on pharmacotherapeutics of herbal bioenhancers. *The Scientific World Journal*, 2012. <https://doi.org/10.1100/2012/637953>

- Dudhatra, G. B., Mody, S. K., Awale, M. M., Patel, H. B., Modi, C. M., Kumar, A., Kamani, D. R., & Chauhan, B. N. (2012b). *The scientific WorldJOURNAL Review Article A Comprehensive Review on Pharmacotherapeutics of Herbal Bioenhancers. 2012.* <https://doi.org/10.1100/2012/637953>
- El, S. S., & Naggar, V. F. (2015). *Bioavailability : A Pharmaceutical Review Bioavailability : A Pharmaceutical Review. February.*
- Elmeliegy, M., Vourvahis, M., Guo, C., & Wang, D. D. (2020). Effect of P - glycoprotein (P - gp) Inducers on Exposure of P - gp Substrates : Review of Clinical Drug – Drug Interaction Studies. *Clinical Pharmacokinetics, 0123456789.* <https://doi.org/10.1007/s40262-020-00867-1>
- Francesco di Pierro. (2017). *BIODISPONIBILITÀ E FORME FARMACEUTICHE Oral bioavailability and dosage forms. 7.*
- Gerber, W., Steyn, D., Svitina, H., Hamman, J., Africa, S., Africa, S., Africa, S., & America, S. (2019). *Capsaicin and Piperine as Functional Excipients for Improved Drug Delivery across Nasal Epithelial Models. 1114–1123.*
- Gorgani, L., Mohammadi, M., Najafpour, G. D., & Nikzad, M. (2017). Piperine—The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16(1), 124–140.* <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12246>
- Hussaarts, K. G. A. M., Hurkmans, D. P., Hoop, E. O., Harten, L. J. Van, Berghuis, S., Alphen, R. J. Van, & Spierings, L. E. A. (2019). *Impact of Curcumin (with or without Piperine) on the Pharmacokinetics of Tamoxifen. 1–12.* <https://doi.org/10.3390/cancers11030403>
- Ipar, V. S., Dsouza, A., & Devarajan, P. V. (2019). Enhancing Curcumin Oral Bioavailability Through Nanoformulations. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 0123456789.* <https://doi.org/10.1007/s13318-019-00545-z>
- J Singh, R. D. e C. A. (1986). *Pi perine-Med iated Inhi bition of Glucuronidation Activity in Isolated Epithelial Cells of the Guinea-Pig Small Intestine : Evidence that Piperine Lowers the Endogeneous UDP- Glucuronic Acid Content. 488–493.*
- JIN, Z. H., QIU, W., LIU, H., JIANG, X. H., & WANG, L. (2018). Enhancement of oral bioavailability and immune response of Ginsenoside Rh2 by co-administration with piperine. *Chinese Journal of Natural Medicines, 16(2), 143–149.* [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(18\)30041-4](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(18)30041-4)
- Khajuria, A., Thusu, N., & Zutshi, U. (2002). Piperine modulates permeability characteristics of intestine by inducing alterations in membrane dynamics: Influence on brush border

- membrane fluidity, ultrastructure and enzyme kinetics. *Phytomedicine*, 9(3), 224–231. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00114>
- Khatri, S., & Awasthi, R. (2016). Piperine containing floating microspheres: an approach for drug targeting to the upper gastrointestinal tract. *Drug Delivery and Translational Research*, 6(3), 299–307. <https://doi.org/10.1007/s13346-016-0285-z>
- Laurence L. Brunton e Randa Hilal-Dandan. (2015). *Goodman & Gilman. Le basi farmacologiche della terapia Il manuale* (Zanichelli (ed.); 2nd ed.).
- Lee, S. H., Kim, H. Y., Back, S. Y., & Han, H. K. (2018). Piperine-mediated drug interactions and formulation strategy for piperine: recent advances and future perspectives. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 14(1), 43–57. <https://doi.org/10.1080/17425255.2018.1418854>
- Leila Gorgani, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, M. N. (2016). *Piperine—The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations*. <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12246>
- Mande, P. P., Bachhav, S. S., & Devarajan, P. V. (2016). Solid Dispersion of Curcumin as Polymeric Films for Bioenhancement and Improved Therapy of Rheumatoid Arthritis. *Pharmaceutical Research*. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-1934-0>
- Mhaske DB, S. S. and M. K. (2018). Role of Piperine as an Effective Bioenhancer in Drug Absorption. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 09(07). <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000591>
- Pachauri, M., Gupta, E. D., & Ghosh, P. C. (2015). Piperine loaded PEG-PLGA nanoparticles: Preparation, characterization and targeted delivery for adjuvant breast cancer chemotherapy. In *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (Vol. 29). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2015.08.009>
- Palatini, P. (2017). *Principi generali di farmacologia e farmacoterapia* (CLEUP (ed.); 2nd ed.).
- Qazi, G. N., Bedi, K. L., Johri, K., Tikoo, K., Tikoo, K., Sharma, C., Abdullah, T., Suri, P., Gupta, D., Suri, A., Satti, K., Kant, R., Singh, S., Khajuria, A., & Kapahi, B. K. (2003). (12) *Patent Application Publication (10) Pub. No.: US 2003/0170326A1*. 1(19).
- R.K. Johri and U. Zutshi. (1992). *An Ayurvedic formulation ' Trikatu ' and its constituents*. 37, 85–91.
- Ratanavaraporn, J., & Kanokpanont, S. (2014). *The development of injectable gelatin / silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine*. 401–410. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-5082-3>
- Reen, R. K., Roesch, S. F., Kiefer, F., Wiebel, F. J., & Singh, J. (1996). *Piperine Impairs*

- Cytochrome P4501A1 Activity by Direct Interaction with the Enzyme and Not by Down Regulation of CYP1A1 Gene Expression in the Rat Hepatoma 5L Cell Line.* 569(0100), 562–569.
- Sethiya, N. K., Shah, P., Rajpara, A., Nagar, P. A., & Mishra, S. H. (2015). Antioxidant and hepatoprotective effects of mixed micellar lipid formulation of phyllanthin and piperine in carbon tetrachloride-induced liver injury in rodents. *Food and Function*, 6(11), 3593–3603. <https://doi.org/10.1039/c5fo00947b>
- Tatiraju, D. V, Bagade, V. B., Karambelkar, P. J., Jadhav, V. M., & Kadam, V. (2013). Natural Bioenhancers: An overview. ~ 55 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(3), 55–60.
- Taylor, P. (2007). *International Journal of Food Properties Allicin and Other Functional Active Components in Garlic: Health Benefits and Bioavailability ALLICIN AND OTHER FUNCTIONAL ACTIVE.* June 2013, 37–41. <https://doi.org/10.1080/10942910601113327>
- Ujita, M. F., Asegawa, K. H., & Orimoto, T. M. (2011). *Innovative Preparation of Curcumin for Improved Oral Bioavailability.* 34(5), 660–665.
- Veerareddy, P. R., & Vobalaboina, V. (2008). *Pharmacokinetics and tissue distribution of piperine lipid nanospheres.* 63, 3–6. <https://doi.org/10.1691/ph.2008.7362>
- Yusuf, M., Khan, M., Khan, R. A., & Ahmed, B. (2013). Preparation, characterization, in vivo and biochemical evaluation of brain targeted Piperine solid lipid nanoparticles in an experimentally induced Alzheimer's disease model. *Journal of Drug Targeting*, 21(3), 300–311. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2012.747529>
- Zanger, U. M., & Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology and Therapeutics*, 138(1), 103–141. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.007>
- Zhang, W., & Lim, L. (2008). *Effects of Spice Constituents on P-Glycoprotein-Mediated Transport and CYP3A4-Mediated Metabolism in Vitro ABSTRACT:* 36(7), 1283–1290. <https://doi.org/10.1124/dmd.107.019737.medicines>
- Zulal, N. A., & Lakshmi, P. K. (2015). Enhancement of solubility and bioavailability of candesartan cilexetil using natural P-Glycoprotein inhibitors. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(1), 21–26. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v14i1.4>