

Pharmanutrition and Functional Foods

TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO

ORGANO UFFICIALE

SINut
Società Italiana di Nutraceutica

Serenoa Repens e Urtica: caratterizzazione fito-chimica, metodi di estrazione e requisiti formulativi

Andrea Fratter

Pharm. D, Perfezionato in Farmacologia clinica
Esperto di tecnologie formulative in Nutraceutica, Presidente SIFNut

Pharmanutrition and Functional Foods

Anno IV, Estratto 1 del N. 4 - 2019
TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO
Registrazione presso Tribunale di Milano N. 93 del 23/03/2016

EDITORE

SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche
Via Morimondo, 26 - 20143 Milano
Tel. 02 58118054 - Fax 02 8322004
redazione@edizionisinergie.com - www.edizionisinergie.com

DIRETTORE RESPONSABILE

Mauro Rissa (Milano)

DIRETTORE SCIENTIFICO

Arrigo F.G. Cicero (Bologna)

BOARD SCIENTIFICO

Giovanni B. Agus (Milano)	Federica Fogacci (Bologna)	Massimiliano Ruscica (Milano)
Fabrizio Angelini (Empoli)	Andrea Fratter (Treviso)	Gianni Sagratini (Camerino)
Michela Barichella (Milano)	Luigi Eugenio Iorio (Salerno)	Giovanni Spera (Roma)
Marco Biagi (Siena)	Carlo Maggio (Torino)	Samir Sukkar (Genova)
Claudio Borghi (Bologna)	Alberto Mazza (Rovigo)	Giuliano Tocci (Roma)
Rosa Maria Bruno (Pisa)	Fabrizio Muratori (Como)	Berardino Vaira (Bologna)
Alessandro Colletti (Nizza Monferrato, AT)	Pasquale Perrone Filardi (Napoli)	Gianfranco Vettorello (Udine)
Agostino Consoli (Chieti)	Matteo Pirro (Perugia)	Paolo Vintani (Barlassina, MB)
Sergio Davinelli (Campobasso)	Andrea Poli (Milano)	Roberto Volpe (Roma)
Giovambattista Desideri (L'Aquila)	Manfredi Rizzo (Palermo)	Giovanni Zuliani (Ferrara)

Maciej Banach (Lodz, Polonia)
Amirhossein Sahebkar (Mashhad, Iran)

Laura García-Molina (Granada, ES)

Marco Manca (Maastricht, Paesi Bassi)

SEGRETERIA DI REDAZIONE

SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche

IMPAGINAZIONE

SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche

STAMPA

Galli Thierry Stampa S.r.l. Via Caviglia, 3 - 20139 Milano

TIRATURA

3.000 copie

Serenoa Repens e Urtica: caratterizzazione fito-chimica, metodi di estrazione e requisiti formulativi

Andrea Fratter

Pharm. D, Perfezionato in Farmacologia clinica

Esperto di tecnologie formulative in Nutraceutica, Presidente SIFNut.

La *Serenoa repens* (SR) è una palma con fusto appartenente alla famiglia delle *Aricaceae* che cresce endemica nel Sud-Est degli Stati Uniti, soprattutto in Florida e Arkansas. Le denominazioni comuni sono "*Palma Seghettata*" in Italia e "*Saw Palmetto*" negli Stati Uniti.

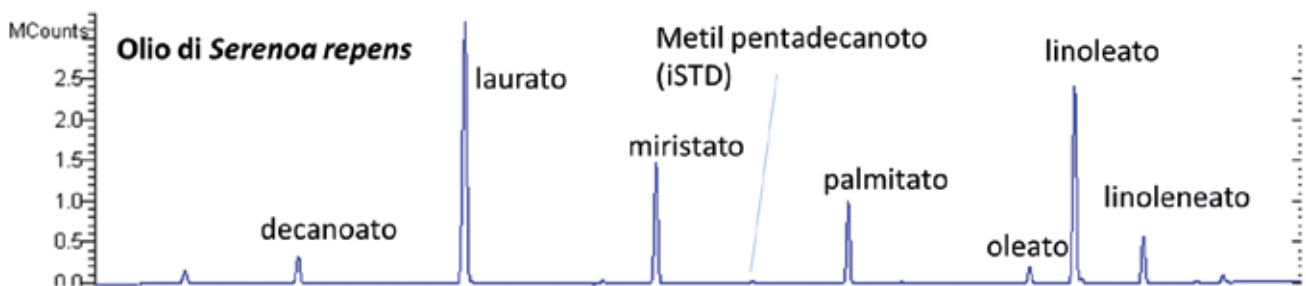
I principi attivi, per i quali la SR è conosciuta e impiegata in pratica clinica, sono riconducibili alle classi degli acidi grassi e dei fitosteroli. Il fitocomplesso, estratto dalle bacche della pianta, viene impiegato sotto forma di olio con un titolo in acidi grassi variabile tra l'80 e il 95% in peso e in fitosteroli da un minimo dello 0,2 a un massimo dello 0,8%. Tra i costituenti attivi principali del fitocomplesso sono di particolare rilevanza gli acidi grassi caprico, caprilico, laurico, oleico, miristolico, palmitico che si possono rilevare con analisi in Gas Cromatografia-Spettrometria di

Massa (GC-MS) (Fig. 1) e fitosteroli quali β -sitosterolo, β -sitosterolo-3-O-glucoside, campestrolo, stigmasterolo oltre a una frazione minoritaria composta di alcoli poliprenolici e flavonodi.

L'azione farmacologica della SR, mediata dal fitocomplesso sopra descritto, si estrinseca principalmente grazie ad un meccanismo di inibizione dell'enzima 5- α -riduttasi tipo I e II ubicato sui recettori degli androgeni espressi prevalentemente nel tessuto gonado-prostatico, ghiandole sebacee, follicolo pilifero [1,2].

In ragione di tale meccanismo d'azione la SR trova impiego principalmente in ambito urologico nel trattamento sintomatico della iperplasia prostatica benigna (IPB) androgeno-dipendente [3], sotto forma di integratori e farmaci, nella calvizie androgenetica [4] e nel trattamento dell'i-

Gas Cromatografia-Spettrometria di Massa



Tracciato gas-cromatografico (spettrometria di massa) di estratto oleoso di *Serenoa Repens* che mette in evidenza i principali acidi grassi che lo compongono.

Fig. 1

modificato da 24

per-seborrea sotto forma di lozioni idro-alcoliche e forme topiche emulsionate.

L'*Urtica dioica* e l'*Urtica Urens* sono piante erbacee, rispettivamente perenne e annuale, appartenenti alla famiglia delle *Urticaceae* che crescono in [Europa](#), [Asia](#), [Nord Africa](#) e [Nord America](#), alte tra i 30 e 200 cm comunemente note come ortica. Vengono impiegate in fitoterapia per il trattamento di disturbi minori dell'apparato urinario e le parti contenenti il fitocomplesso, costituito da flavonoidi, acido silicico, sali minerali (in particolare sali di calcio e potassio), Oli essenziali, oligoelementi, vitamine, carotenoidi sono le foglie e per quanto riguarda fitosteroli (beta-sitosterolo), lecitine, polisaccaridi, lignani, Idrossicumarine e ceramidi, la radice.

Gli estratti secchi di ortica sia *dioica* che *urens*, generalmente ottenuti per estrazione idroalcolica della radice, trovano principalmente impiego per la riduzione dei sintomi dell'IPB attraverso un meccanismo di riduzione della proliferazione cellulare [5] e per migliorare la sintomatologia e l'efficacia della terapia antibiotica in corso di prostatite batterica [6,7]. Il dosaggio consigliato va dai 50 ai 200 mg per unità di somministrazione e le associazioni con *Serenoa Repens* risultano particolarmente efficaci nel trattamento di IPB e sintomi delle basse vie urinarie (BVU) con un titolo in fitosteroli espresso come b-sitosterolo dello 0,4% in peso.

Metodi di estrazione della *Serenoa Repens*

Il principale e più efficace metodo di estrazione del fitocomplesso attivo della SR utilizzato nell'industria farmaceutica e nutraceutica è l'estrazione supercritica in corrente di gas, una tecnica di estrazione molto diffusa ed efficiente che consente l'estrazione di determinate classi di principi attivi trattando la droga di partenza ad alta pressione in corrente di un gas, principalmente la CO₂. Il termine supercritica si riferisce ad una caratteristica fisica di alcuni gas che, in opportune condizioni di temperatura e pressione (temperatura e pressione superiori a quelle critiche del cambio di stato), cambiano il proprio stato di aggregazione, passando da gas a un fluido che riproduce tutte le caratteristiche di un liquido di estrazione, con la densità di un liquido e un valore pressoché nullo di tensione superficiale. Per queste caratteristiche i fluidi supercritici, di cui la CO₂ rappresenta il principale esponente per le applicazioni industriali, sono eccellenti solventi in grado di estrarre le frazioni apolari del fitocomplesso di droghe botaniche o marine (acidi grassi della serie ω3, ω6, vitamine liposolubili, cannabinoidi, flavonoidi, steroli, tocoferoli) [8,9,10]. Oltre all'elevatissima

resa di estrazione che rende tale metodica estremamente efficace per i processi industriali di estrazione nell'industria alimentare, nutraceutica, cosmetica e farmaceutica, tale metodica consente altresì un'elevata purezza dell'estratto, dal momento che il fluido supercritico non è in grado di estrarre componenti polari e la totale assenza di solventi residui, a differenza delle comuni estrazioni con solventi organici (etanolo, isopropanolo, toluene e altri).

La CO₂ assume i connotati chimico-fisici di solvente quando passa dallo stato gassoso a bassa densità ad uno stato chiamato appunto 'supercritico' con densità più elevata: tale stato viene raggiunto quando la CO₂ viene portata simultaneamente alla temperatura di 32°C e alla pressione di 72 atm.

L'estrazione con fluidi supercritici è da considerarsi a tutti gli effetti un processo di *Green Technology* che garantisce sostenibilità ambientale e un alto grado di qualità e purezza del prodotto estratto. Un altro processo che si sta diffondendo nell'industria green dell'estrazione presuppone l'impiego di liquidi e solventi eutettici, NADES e IL, acronimi rispettivamente di *Natural Deep Eutectic Solvents* e *Ionic Liquids* [11,12]. Tali solventi sono ottenuti dalla condensazione di particolari aminoacidi e sostanze azotate come la Glicina, la Prolina, la Carnitina con zuccheri come il Glucosio, Fruttosio e Sorbitolo e acidi organici come l'Acido Citrico, Malico e Maleico in presenza di un contenuto di acqua ridotto (<30%) e opportune condizioni di riscaldamento.

La SR è una pianta che si presta particolarmente all'estrazione con CO₂ supercritica dal momento che i componenti attivi del suo fitocomplesso, più sopra descritti, possiedono le caratteristiche peculiari di apolarità e natura oleosa tali da poter essere selettivamente estratti dalla corrente del gas supercritico fluidificato. Con questo processo, ormai considerato *gold standard* per gli estratti di SR, si può ottenere un elevato titolo in acidi grassi che può raggiungere, quando non superare, il 90% in peso dell'olio finale.

Biodisponibilità della SR e tecnologie a supporto

Il costante aumento negli ultimi anni dell'impiego e prescrizione dei nutraceutici a fini salutistici, quando non a supporto alle terapie mediche, ha portato allo sviluppo di nuove tecnologie formulative per aumentare la bioaccessibilità enterica e, in ultima analisi, la biodisponibilità di sostanze di natura vegetale, dotate di scarsa idrosolubilità nei liquidi enterici. Tali strategie prevedono l'incapsulazione dei principi attivi all'interno di micelle idrofile, di nano-emulsioni O/A, di sistemi auto-emulsionanti (SEDDS) o di

micronizzati e ultra-micronizzati (PEA, flavonoidi) [13-17]. Nello specifico riferimento alla SR, la frazione lipido-sterolica che caratterizza il fitocomplesso attivo nel trattamento dell'IPB e che può raggiungere oltre il 90% in peso dell'estratto di SR, ha caratteristiche di estrema lipofilia e idrofobicità oltre a presentarsi sotto forma di olio. Tali caratteristiche rendono l'olio di SR molto poco dispersibile nei liquidi enterici che sono principalmente costituiti di acqua, sali, enzimi e, solo nella prima parte dell'intestino tenue (digiuno-ileo), arricchiti di sali biliari con azione emulsionante. Per queste ragioni la corretta strategia di formulazione dell'estratto di SR rappresenta un momento fondamentale di differenziazione dei diversi prodotti sul mercato [18].

In questo contesto appare particolarmente importante richiamare alcuni semplici concetti della fisiologia gastroenterica, al fine di comprendere la migliore strategia tecnologico-formulativa per migliorare la bioaccessibilità della SR. I grassi alimentari sono parzialmente idrolizzati ad opera

degli enzimi lipasici, espressi già nel cavo orale (saliva) [19] dove inizia il processo di *cleaving* dei trigliceridi in essi contenuti che prevede il distacco un acido grasso creando di fatto un diacilglicerolo.

Un simile meccanismo si mette in atto nello stomaco ove la lipasi gastrica idrolizza fino al 30% dei trigliceridi alimentari [20] (Fig. 2). Il processo continua nell'intestino tenue ove la lipasi pancreatica e la colipasi enterica attivata dai sali biliari completano il processo di idrolisi dando vita a monogliceridi degli acidi grassi e acidi grassi liberi che coadiuvano l'azione emulsionante e disperdente dei sali biliari che, nel range di pH tra 6,8-7,2, danno vita alle così dette micelle miste capaci di aumentare la superficie di contatto delle sostanze lipofile come acidi grassi, vitamine liposolubili, terpeni e fitosteroli con gli enterociti [21]. Tale meccanismo consente a molte sostanze di impiego nutraceutico quali la SR, il CoQ10, il Resveratrolo, la Curcumina, la Vitamina D3, la Quercetina e molte altre di essere meglio assimilate dall'intestino in presenza di cibo e, in partico-

Rappresentazione dell'idrolisi di un trigliceride da parte della lipasi

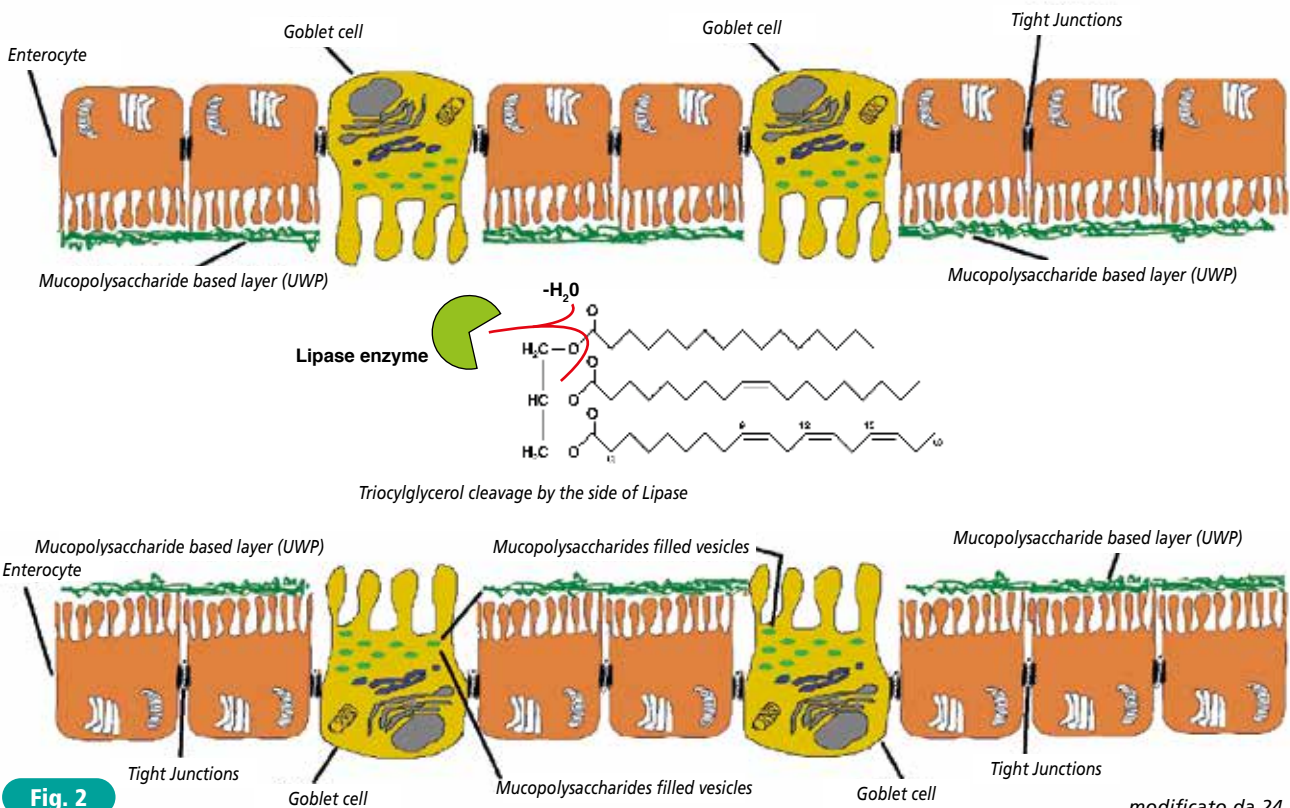


Fig. 2

modificato da 24

lare, di modiche quantità di grassi alimentari [22,23] o di tecnologie in grado di mimarne il meccanismo d'azione [24] (Fig. 3). In ragione delle sopra menzionate argomentazioni, da un punto di vista tecnologico, l'introduzione di modiche quantità di mono e digliceridi degli acidi grassi (E471), sostanze di comune impiego nell'industria alimentare e di emulsionanti naturali quali la Lecitina da girasole (E322), può contribuire in maniera sostanziale al miglioramento della bioaccessibilità enterica della SR e per conseguenza della sua biodisponibilità in seguito ad assunzione orale (Fig. 4). La forma farmaceutica prevalente, per non dire obbligata, vista la natura oleosa dell'estratto di SR è rappresentata dalla capsula soft gel contenente l'olio. La presenza degli eccipienti sopra ricordati, anche in modiche quantità (alcuni milligrammi), perfettamente compatibili con la natura oleosa dell'estratto, devono essere considerati un importante requisito tecnologico per il miglior assorbimento enterico della SR.

Per riassumere, i connotati di una buona formulazione di SR dovrebbero essere:

Forma farmaceutica: capsula di gelatina molle "softgel"

Dosaggio per capsula: 320 mg di estratto oleoso

Titolo dell'estratto: >85% in acidi grassi totali

Solvente di estrazione: CO₂ supercritica

Comparazione del comportamento di dispersione in SIF tra SR olio non formulato e SR veicolato con tecnologia LibADS



Comparazione tra un estratto oleoso di SR tit. 90% in acidi grassi (320 mg) disperso in un liquido enterico simulato (FaSSIF V2) tal quale (sx) e il medesimo estratto (320 mg) veicolato in presenza di mono e digliceridi degli acidi grassi e lecitina da girasole (dx). Appare evidente la migliore dispersione dell'olio di SR in presenza degli agenti emulsionanti, espressione di una migliore bioaccessibilità enterica

Fig. 4

modificato da 24

Eccipienti: mono e digliceridi degli acidi grassi (E471), Lecitina da girasole (E322)

Rappresentazione della formazione di micelle idrodispersibili di fitosteroli e acidi grassi liberi (Serenoa Repens) con mono e digliceridi e lecitina in presenza dei sali biliari

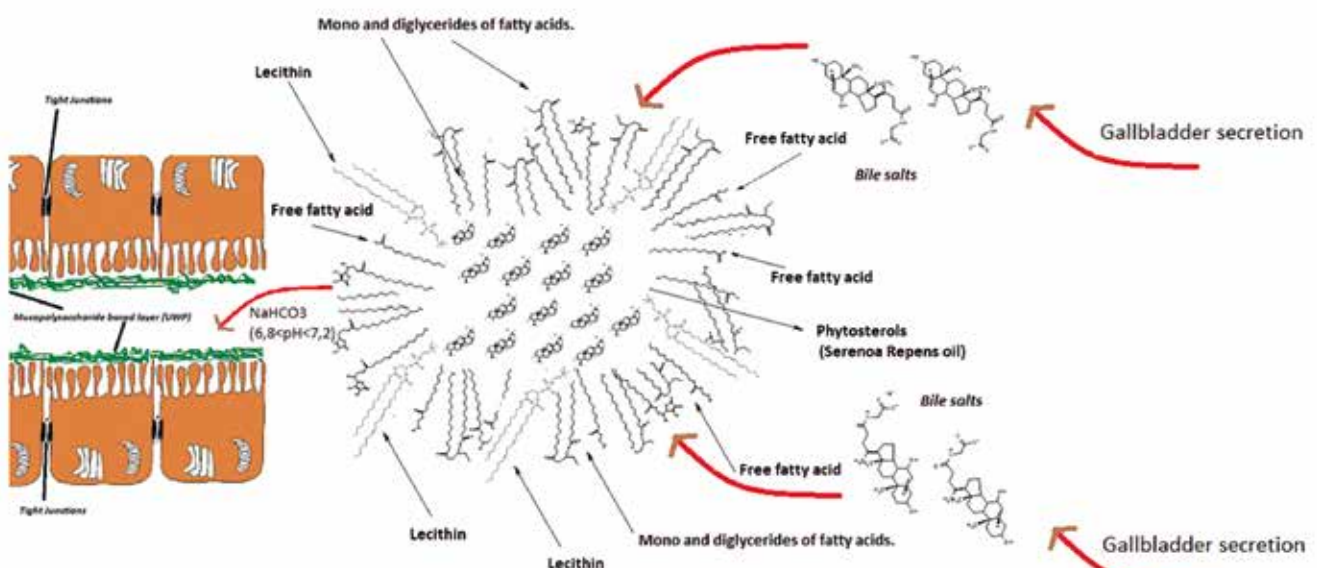


Fig. 3

modificato da 24

BIBLIOGRAFIA

- Buonocore D et al. Serenoa repens extracts: In vitro study of the 5 α -reductase activity in a co-culture model for Benign Prostatic Hyperplasia. *Arch Ital Urol Androl*. 2018 Sep 30;90(3):199-202.
- Bartsch G et al. Dihydrotestosterone and the concept of 5 α -reductase inhibition in human benign prostatic hyperplasia. *World J Urol*. 2002 Apr;19(6):413-25.
- Cicero AFG et al. Nutraceutical treatment and prevention of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Arch Ital Urol Androl*. 2019 Oct 2;91(3).
- Wessagowit V et al. Treatment of male androgenetic alopecia with topical products containing Serenoa repens extract. *Australas J Dermatol*. 2016 Aug;57(3):e76-82.
- Dhouibi R et al. Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Prog Biophys Mol Biol*. 2019 Jun 1. pii: S0079-6107(19)30098-7
- Cai T et al. Serenoa repens associated with *Urtica dioica* (ProstaMEV) and curcumin and quercetin (FlogMEV) extracts are able to improve the efficacy of prulifloxacin in bacterial prostatitis patients: results from a prospective randomised study. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 Jun;33(6):549-53.
- Pigat N et al. Combined Sabal and *Urtica* Extracts (WS® 1541) Exert Anti-proliferative and Anti-inflammatory Effects in a Mouse Model of Benign Prostate Hyperplasia. *Front Pharmacol*. 2019 Mar 29;10:311.
- Longo C, Leo L, Leone A. Carotenoids, fatty acid composition and heat stability of supercritical carbon dioxide-extracted oleoresins. *Int J Mol Sci*. 2012;13(4):4233-54.
- Leone A et al. Supercritical CO₂-extracted tomato Oleoresins enhance gap junction intercellular communications and recover from mercury chloride inhibition in keratinocytes. *J Agric Food Chem*. 2010 Apr 28;58(8):4769-78.
- Molino A et al. Eicosapentaenoic Acid Extraction from *Nannochloropsis gaditana* using Carbon Dioxide at Supercritical Conditions. *Mar Drugs*. 2019 Feb 22;17(2).
- Mišan A et al. The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019 Aug 13:1-29.
- Liu Y et al. Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives. *J Nat Prod*. 2018 Mar 23;81(3):679-690.
- Leonard TW, Lynch J, McKenna MJ, Brayden DJ. Promoting absorption of drugs in humans using medium-chain fatty acid-based solid dosage forms: GIPET. *Expert Opin Drug Deliv*. 2006 Sep;3(5):685-92.
- MC Satia et al. A randomized two-way cross over study for comparison of absorption of vitamin D₃ buccal spray and soft gelatin capsule formulation in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption. *Nutr J*. 2015; 14: 114;
- Fratte A et al. Sublingual Delivery of Astaxanthin through a Novel Ascorbyl Palmitate-Based Nanoemulsion: Preliminary Data. *Mar Drugs*. 2019 Aug 29;17(9).
- Köhler A et al. Bioavailability of fatty acids from krill oil, krill meal and fish oil in healthy subjects--a randomized, single-dose, cross-over trial. *Lipids Health Dis*. 2015 Mar 15;14:19.
- Petosino S et al. Oral Ultramicroemulsified Palmitoylethanolamide: Plasma and Tissue Levels and Spinal Anti-hyperalgesic Effect. *Front Pharmacol*. 2018 Mar 20;9:249.
- Habib FK, Wyllie MG. Not all brands are created equal: a comparison of selected components of different brands of Serenoa repens extract. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2004;7(3):195-200.
- Patton JS et al. Hydrolysis of triacylglycerol emulsions by lingual lipase. A microscopic study. *Biochim Biophys Acta*. 1982 Aug 18; 712(2):400-7.
- Rogalska E et al. Stereoselectivity of lipases. II. Stereoselective hydrolysis of triglycerides by gastric and pancreatic lipases. *J Biol Chem*. 1990 Nov 25; 265(33):20271-6.
- Sams L et al. Relevant pH and lipase for in vitro models of gastric digestion. *Food Funct*. 2016 Jan; 7(1):30-45.
- López-Lluch G et al. Bioavailability of coenzyme Q10 supplements depends on carrier lipids and solubilization. *Nutrition*. 2019 Jan;57:133-140.
- Rich GT et al. Towards an Understanding of the Low Bioavailability of Quercetin: A Study of Its Interaction with Intestinal Lipids. *Nutrients*. 2017 Feb 5;9(2).
- Fratte A et al. Lipomatrix: A Novel Ascorbyl Palmitate-Based Lipid Matrix to Enhancing Enteric Absorption of Serenoa Repens Oil. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 4;20(3)

