

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE  
ORIENTALE  
“AMEDEO AVOGADRO”  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO**

**Corso di Laurea Magistrale in Farmacia**

**L'Antica Saggezza delle Piante: Fitoterapia per  
Ansia e Depressione**

Relatore

Prof. Alberto Minassi

Candidato

Paola Ceglia

**Sessione Estiva A.A 2023/2024**

Con infinita gratitudine, desidero dedicare queste righe a mia sorella, la mia fonte inesauribile di sostegno. Senza il suo costante appoggio e la sua incrollabile fiducia in me, il mio percorso di studi non sarebbe stato possibile.

Mi ha permesso di studiare, creando per me le condizioni ideali e supportandomi in ogni momento di difficoltà. La sua presenza discreta ma sempre presente mi ha dato la forza di superare gli ostacoli e di affrontare con coraggio le sfide accademiche.

È stata la mia più fervente difensora, pronta a prendere le mie parti e a proteggermi da ogni avversità. Mi ha coccolata e fatta sentire amata incondizionatamente, riempiendo ogni giorno di calore e affetto.

Grazie per aver creduto in me anche quando io stessa dubitavo.

*A me stessa,*

*per la forza silenziosa che mi ha guidata con pazienza e determinazione, e per la  
perseveranza che mi ha sostenuto anche nei momenti più difficili.*

*"Ama il tuo sogno se pur ti tormenta." - Gabriele D'Annunzio*

## ABBREVIAZIONI

ACTH	Adrenocorticotropic Hormone
BAP	$\beta$ -Amyloid Protein
CRF	Corticotropin-Releasing Factor
DASS	Depression Anxiety Stress Scale
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
FST	Forced Swimming Test
GABA	Gamma-Aminobutyric Acid
GACP	Good Agricultural and Collection Practices
GHQ	General Health Questionnaire
KO	Knockout
LDB	Light/Dark Box
NK	Natural Killer Cells
NLR	Nod-Like Receptors
NMDA	N-Methyl-D-Aspartate
POMC	Proopiomelanocortin
PSS	Perceived Stress Scale
ROS	Reactive Oxygen Species
SERT	Serotonin Transporter
SUL	Sulpiride
TST	Tail Suspension Test
VLPO	Ventrolateral Preoptic Nucleus

## SOMMARIO

1. Introduzione.....	7
2. Fitoterapia.....	8
2.1 Legislazione .....	9
2.2 Trattamento con piante medicinali .....	10
2.3 La fitoterapia nel trattamento dell'ansia e della depressione .....	10
3. Disturbo d'ansia.....	10
3.1 Biochimica del disturbo d'ansia .....	11
3.1.1 Acido $\gamma$ -amino butirrico .....	12
3.1.2 Acido glutammico .....	12
3.1.3 Acetilcolina.....	13
3.1.4 Monoammine .....	13
3.1.5 L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene .....	14
4. Depressione .....	14
4.1 Biochimica della depressione .....	14
4.1.1 L'ipotesi monoamminergica .....	14
4.1.2 Il ruolo della noradrenalina.....	15
4.1.3 Il ruolo della serotonina .....	15
4.1.4 Il ruolo della dopamina.....	15
4.1.5 Alterazioni neuroendocrine e ruolo dei neuropeptidi.....	15
5. Fitoterapici utilizzati nel trattamento del disturbo d'ansia e della depressione .....	16
5.1 <i>Humulus lupulus</i> .....	16
5.1.1 Risultati dello studio clinico di Schiller <i>et al.</i> .....	18
5.2 Lavandula L.....	20
5.2.1 Composizione chimica .....	20
5.2.2 Aromaterapia .....	21
5.2.3 Meccanismo d'azione della lavanda sul sistema nervoso .....	27
5.2.4 Silexan®, un nuovo principio attivo brevettato .....	28
5.3 <i>Withania somnifera</i> L. ....	32
5.3.1 Profilo fitochimico .....	33
5.3.2 Attività biologica.....	36
5.4 <i>Passiflora incarnata</i> L. ....	42

5.4.1	Costituenti chimici della <i>Passiflora incarnata</i> .....	42
5.4.2	Studi clinici sulla <i>Passiflora incarnata</i> .....	44
5.4.3	Meccanismo d'azione della <i>Passiflora incarnata</i> .....	49
5.5	<i>Hypericum perforatum</i> .....	52
5.5.1	Composti chimici .....	53
5.5.2	<i>Hypericum triquetrifolium</i> Turra e stress psicosociale cronico .....	59
5.5.3	Co-somministrazione di iperico e altri farmaci .....	64
5.6	Zafferano .....	65
5.6.1	Biosintesi dei principali composti attivi .....	66
5.6.2	Proprietà delle crocine .....	69
5.6.3	Proprietà della picrocrocina e del safranale .....	69
5.6.4	Attività dello zafferano sui disturbi neuropsichiatrici .....	70
5.6.5	Poteniale utilizzo dello zafferano nel trattamento della fibromialgia .....	71
5.6.6	Effetto dello zafferano sui livelli di omocisteina .....	72
5.7	<i>Rhodiola rosea</i> .....	73
5.7.1	Composti bioattivi della <i>Rhodiola rosea</i> .....	74
5.7.2	Proprietà della <i>Rhodiola rosea</i> .....	76
5.7.3	Effetto antiossidante e neuroprotettivo della <i>Rhodiola rosea</i> .....	78
5.7.4	Meccanismo d'azione del salidroside .....	79
5.7.5	Combinazione di <i>Rhodiola rosea</i> e zafferano nel trattamento della depressione maggiore.....	80
6.	Conclusioni.....	81

## 1. Introduzione

L'applicazione del metodo scientifico alla medicina tradizionale ha permesso di confermare le attività biologiche di molte piante attraverso l'isolamento dei singoli principi attivi che in alcuni casi si sono trasformati in farmaci di prima scelta per il trattamento di importanti patologie. A tutt'oggi, circa il 40% dei farmaci moderni deriva direttamente o indirettamente ancora da piante <sup>1</sup>.

Il consumo delle piante medicinali nel mondo, sia nei Paesi industrializzati che nei Paesi in via di sviluppo, è in continuo aumento, come dimostrano le statistiche pubblicate dall'Organizzazione di Cooperazione e Sviluppo delle Nazioni Unite (OCDE), con un aumento annuo che supera il 7,5% <sup>2</sup>. In molti Paesi, tra cui l'Italia, sono stati istituiti campi sperimentali e produttivi per la coltivazione di numerose specie medicinali per selezionare varietà maggiormente ricche in principi attivi <sup>3</sup>.

Questo studio si propone di analizzare le applicazioni contemporanee della fitoterapia, con un focus particolare sul suo utilizzo nel trattamento dei disturbi d'ansia e della depressione. Questi disturbi, infatti, rappresentano una delle sfide più significative per la salute mentale nel mondo moderno, e la ricerca di alternative naturali ai trattamenti farmacologici convenzionali è diventata un campo di indagine molto rilevante.

Il percorso logico della tesi si articola in diverse fasi. Inizieremo con un'introduzione generale sull'importanza e l'uso delle piante medicinali, evidenziando come l'applicazione del metodo scientifico abbia confermato molte delle loro attività biologiche. Successivamente, esamineremo il quadro normativo europeo e italiano che regola la produzione e la distribuzione dei fitoterapici, con particolare riferimento agli standard di qualità come le Good Agricultural and Collection Practices (GACP) e le Good Manufacturing Practices (GMP).

La parte centrale della tesi sarà dedicata all'analisi delle applicazioni terapeutiche della fitoterapia nel trattamento dei disturbi d'ansia e della depressione. Verranno esaminati i meccanismi d'azione e i benefici clinici di alcuni fitoterapici specifici, tra cui *Humulus lupulus*, *Lavandula L.*, *Withania somnifera L.*, e *Passiflora incarnata L.* Ogni pianta sarà discussa in dettaglio, valutandone l'efficacia e la sicurezza basata su studi clinici e preclinici.

Concluderemo con una sintesi dei risultati ottenuti, discutendo le implicazioni cliniche e le possibili direzioni future per la ricerca in questo campo. La metodologia impiegata in questo studio comprende una revisione sistematica della letteratura, un'analisi comparativa dei dati disponibili e una valutazione critica delle evidenze raccolte. Le fonti di dati includono articoli scientifici, studi clinici, documenti normativi e statistiche pubblicate da enti internazionali come l'Organizzazione di Cooperazione e Sviluppo delle Nazioni Unite (OCDE).

## **2. Fitoterapia**

La fitoterapia è una disciplina, introdotta dal medico francese Henri Leclerc (1870-1955), che utilizza piante e derivati per la prevenzione e il trattamento delle patologie. Le piante producono metaboliti secondari necessari alla propria sopravvivenza che possono essere utilizzati dall'uomo a scopo curativo. La presenza di un insieme di composti bioattivi, definito "fitocomplesso", consente un'ampia modulazione dei processi biologici. Il fitocomplesso, è costituito da sostanze farmacologicamente attive e sostanze apparentemente inerti che collaborano tra loro per potenziare l'effetto principale oppure per ottenere effetti diversi ma complementari. È possibile quindi utilizzarlo nel trattamento di patologie complesse, ovvero provocate dalla combinazione di diversi fattori.



## 2.1 Legislazione

Prima degli anni '90, il termine "fitoterapico" indicava un farmaco derivato dall'estrazione o da altri procedimenti chimico-fisici applicati a piante medicinali <sup>1</sup>. Come tale, il fitoterapico era quindi ufficialmente riportato nelle diverse Farmacopee mondiali o in testi di riferimento, come quelli dell'OMS. Pertanto, erano chiari i controlli e i requisiti di qualità che i prodotti dovevano rispettare. Dalla fine degli anni '90, molti prodotti vegetali, definiti in ambito europeo "*botanicals*", hanno iniziato a inserirsi nel mondo dell'integrazione alimentare rendendo difficoltoso tracciare una linea di demarcazione netta tra fitoterapia e integrazione salutistica e tra medicinale e non medicinale. Il Ministero della Salute, nella sezione dedicata, classifica ancora il fitoterapico come farmaco, distinguendolo dal non-farmaco, definito, invece, "prodotto erboristico".

In base alla finalità d'uso, di registrazione e d'immissione in commercio, i fitoterapici possono seguire la normativa del farmaco (2001/83/CE) o dell'integratore alimentare (2002/46/CE).

I fitoterapici che in Italia hanno lo *status* di farmaco sono classificati in specialità medicinali registrate con AIC, prodotti presenti in una o più farmacopee dell'UE, farmaci vegetali tradizionali e prodotti vegetali dispensati dietro prescrizione medica. I fitoterapici a uso ben consolidato (*well-established use*) presentano un'efficacia dimostrata, poiché riferita a un medicinale già autorizzato, e devono essere conformi alla *Good Agricultural and Collection Practices* (GACP) e alle *Good Manufacturing Practices* (GMP). Questi fitoterapici sono immessi in commercio seguendo lo stesso iter di farmaci complessi e monomolecolari e sono regolamentati dalla normativa 2001/83/CE, che impone tutta la procedura di test clinici e tossicologici, al fine di garantire efficacia e sicurezza. I farmaci vegetali tradizionali, invece, sono caratterizzati da un livello di efficacia non provato dalla letteratura scientifica, qualità dimostrata e sicurezza garantita. Possono essere registrati seguendo una normativa semplificata (2004/24/CE), senza eseguire trial clinici e tossicologici di grande portata. In Italia, sono presenti, ad oggi, solo due farmaci tradizionali, uno contenente *Pelargonium sidoides*, utilizzato nel trattamento delle malattie da raffreddamento, e uno contenente *Rhodiola rosea*, indicato per il sollievo di sintomi associati a stress <sup>4</sup>.

## **2.2 Trattamento con piante medicinali**

I fitoterapici stimolano i meccanismi omeostatici dell'organismo, perciò richiedono tempi più lunghi per esercitare il proprio effetto. Nei trattamenti a lungo termine, le piante medicinali mostrano tollerabilità, effetto tonico e modulatore su tutto l'organismo. Nelle patologie acute o in caso di sovvertimento delle strutture organiche, la fitoterapia non rappresenta la tecnica di prima scelta. In caso di emergenza, il paziente è trattato con interventi rapidi, energici e spesso invasivi, durante i quali la fitoterapia può costituire un valido supporto, soprattutto nei periodi di recupero successivi all'episodio acuto <sup>5</sup>.

## **2.3 La fitoterapia nel trattamento dell'ansia e della depressione**

Lo stile di vita moderno induce sempre più ansia, angoscia e depressione, tanto che gli psicofarmaci hanno il primato di vendita in farmacia. Alcune piante sono efficaci nel ridurre lo stato di tensione continua che accompagna una condizione di stress, dunque, la fitoterapia può essere un valido rimedio o supporto, quando si tratta di una condizione di lieve entità.

## **3. Disturbo d'ansia**

Il termine “ansia” deriva dal latino *anxus* e significa “stretto”: l'ansia è una condizione psicofisica caratterizzata da sensazioni di costrizione e angoscia che provoca tensione, irrequietezza e apprensione. Queste sensazioni sono spesso accompagnate da sintomi fisici, come sudorazione e tachicardia. A differenza della paura, l'ansia non è collegata a un evento percepito come pericolo immediato, ma emerge dall'anticipazione di eventi futuri. I disturbi d'ansia perdurano nel tempo e possono influenzare profondamente la vita di chi ne soffre, ostacolandone la carriera e le relazioni sociali <sup>6</sup>. Il disturbo d'ansia è caratterizzato da sintomi cognitivi, come senso di vuoto mentale, sensazione crescente di allarme, insorgenza di pensieri negativi, sensazione di essere al centro dell'attenzione altrui, e da sintomi fisici. I sintomi fisici possono essere suddivisi in cardiorespiratori (tachicardia, oppressione al petto, dispnea), sintomi gastrointestinali (nausea, dolori addominali, diarrea), sintomi vestibolari (vertigini, sensazione di svenimento) e sintomi psicosensoriali (disorientamento, derealizzazione, depersonalizzazione).

Secondo il DSM-5, il disturbo d'ansia è associato anche a insonnia, caratterizzata da insoddisfazione riguardo la quantità e la qualità del sonno, associata a difficoltà nell'addormentamento, risvegli frequenti e sonno non ristoratore.

Secondo la teoria cognitiva dei disturbi emozionali di Beck, l'ansia è accompagnata da un flusso di pensieri automatici negativi che corrispondono a una preoccupazione relativa al concetto di pericolo e a una sottovalutazione delle capacità individuali di farvi fronte <sup>7</sup>. Una volta attivata la valutazione di pericolo, si crea un circolo vizioso che rinforza gli attacchi d'ansia. I sintomi dell'ansia possono a loro volta essere interpretati come segnali dell'effettiva esistenza di un pericolo e possono condizionare il comportamento dell'individuo, accrescendo il senso di vulnerabilità <sup>8</sup>. Una delle principali componenti dell'ansia è il rimuginio, una forma di pensiero ripetitivo che dà l'illusione di prevenire e controllare la situazione. Questi pensieri, però, allo stesso tempo, sono vissuti come incontrollabili e intrusivi <sup>9</sup>.

Secondo le indicazioni del Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (DSM-5; *American Psychiatric Association*, 2013), l'ansia diventa clinicamente rilevante quando risulta eccessiva o persistente.

### 3.1 Biochimica del disturbo d'ansia

L'ansia rappresenta una situazione psicofisica che comporta manifestazioni della sfera psichica e somatica, coinvolgendo complessi meccanismi e diversi circuiti neuronali.

Le informazioni relative agli stimoli che inducono ansia e paura sono dapprima elaborate nella corteccia sensoriale e nelle aree associative, per poi essere trasferite alle strutture sottocorticali, come l'amigdala, coinvolte nelle risposte affettive, comportamentali e somatiche. L'attivazione simpatica, mediata dalla stimolazione dell'ipotalamo da parte dell'amigdala e del *locus coeruleus*, determina aumento della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca, sudorazione, piloerezione e dilatazione pupillare. L'attivazione parasimpatica, invece, le cui principali proiezioni sono rappresentate dai nervi vago e splancnico, è collegata a sintomi viscerali, come i disturbi gastrointestinali e genito-urinari. Lo stress intenso e protratto può determinare una meiorpragia d'organo o di sistema, fino alla comparsa di una malattia organica <sup>10</sup>.

L'evoluzione delle tecniche di biologia molecolare ha consentito di evidenziare modificazioni nell'espressione dei fattori di crescita neuronali, in particolare del *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), in corso di disturbi dell'umore e d'ansia <sup>11</sup>.

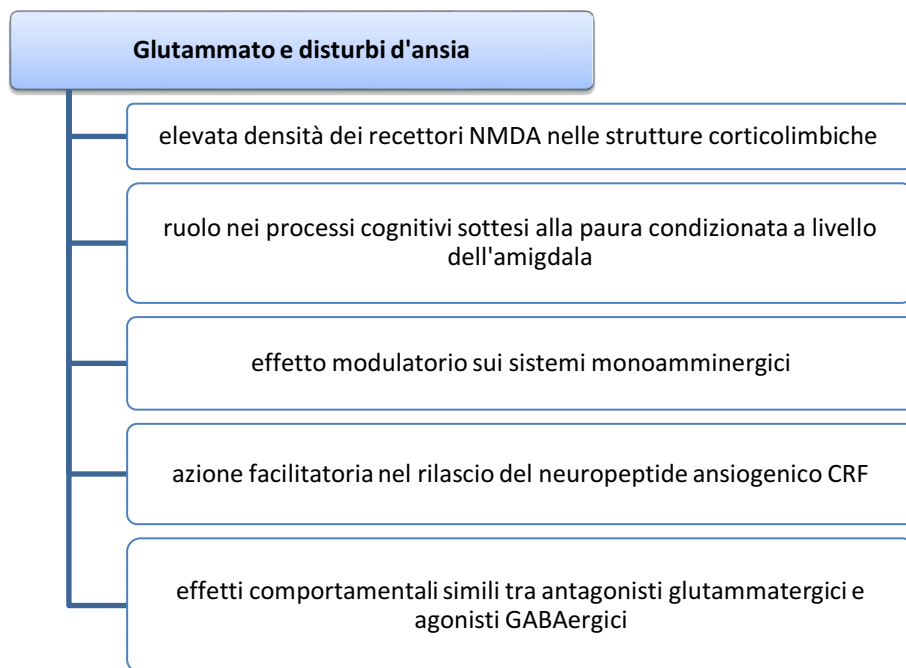
La modulazione dell'ansia è associata a diversi neurotrasmettitori, come il GABA, l'acido glutammico, l'acetilcolina e le monoammine, e ormoni, come il cortisolo.

### 3.1.1 Acido $\gamma$ -amino butirrico

Il sistema GABAergico gioca un ruolo fondamentale nella regolazione dell'eccitabilità neuronale e modula il rilascio di diversi mediatori ansiogenici, come glutammato, noradrenalina e dopamina <sup>12</sup>. Le ben note proprietà ansiolitiche delle benzodiazepine sottolineano l'importanza di tale neurotrasmettitore nella fisiopatologia dei disturbi d'ansia. L'incremento della funzione GABAergica induce l'inibizione dello stimolo nervoso e la sedazione. Il GABA esercita un effetto inibitorio sulle proiezioni corticolimbiche noradrenergiche e serotoninergiche, la cui iperattivazione è implicata nell'induzione degli stati d'ansia. L'azione ansiolitica del GABA si esplica, inoltre, attraverso l'inibizione post-sinaptica delle vie noradrenergiche e serotoninergiche, a livello dell'ippocampo <sup>13</sup>.

### 3.1.2 Acido glutammico

Il glutammato, principale neurotrasmettitore eccitatorio, svolge un ruolo prioritario nella risposta cognitiva ed emozionale agli stimoli ansiogeni, interagendo con i sistemi GABAergico e monoaminergico. La rete glutammatergica, ampiamente diffusa nelle regioni corticolimbiche, sostiene le funzioni associative della corteccia e dell'ippocampo, le funzioni di analisi del pericolo dell'amigdala e i sistemi motivazionali del proencefalo basale <sup>14</sup>. Inoltre, la neurotrasmissione glutammatergica esplica un'importante funzione nei meccanismi di plasticità centrale <sup>15</sup>. L'esposizione a stress psicosociali e stimoli avversi si associa a un incremento delle concentrazioni extracellulari di glutammato <sup>16</sup>. Un'alterazione della trasmissione glutammatergica sembra implicata anche nella manifestazione di sintomi emozionali e mnesici, in diverse patologie neurologiche o psichiatriche, come i disturbi d'ansia <sup>17</sup>.



### Coinvolgimento del glutammato nel controllo dell'ansia <sup>18</sup>

#### 3.1.3 Acetilcolina

La trasmissione colinergica è implicata nell'apprendimento e nella memoria, ma anche nella regolazione dell'ansia <sup>19</sup>. Studi animali hanno, infatti, dimostrato come topi geneticamente privati della subunità  $\alpha 4$  del recettore nicotinico per l'acetilcolina presentino livelli di ansia e deficit mnesici superiori ai controlli <sup>20</sup>.

#### 3.1.4 Monoammine

L'associazione tra ansia e depressione ha indotto a utilizzare gli antidepressivi nei disturbi d'ansia, in particolare le molecole ad azione serotoninergica e serotoninergica/noradrenergica. Alla base delle manifestazioni ansiose, infatti, è presente anche una disregolazione di serotonina e noradrenalina <sup>21</sup>. In condizioni di stress acuto aumenta il rilascio di questi neurotrasmettitori come risposta adattativa. Un'esposizione cronica a fattori stressogeni determina una deplezione neurotrasmettitoriale, con conseguente *up-regulation* dei recettori post-sinaptici. In tale condizione di sensibilizzazione post-sinaptica, quando giunge uno stimolo stressogeno, si determina un'amplificazione dello stimolo stesso che si tramuta in un'amplificazione emozionale e somatica <sup>19</sup>.

### 3.1.5 L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene

Gli stimoli stressogeni sono in grado di evocare, attraverso la produzione ipotalamica di fattori di rilascio, un aumento della produzione e della liberazione ipofisaria di diverse tropine, tra cui il *Corticotropin-Releasing Hormon* (CRH), che stimola la produzione di peptidi derivati da POMC, come enkefaline, endorfine e ACTH. L'ACTH stimola, a livello della corticale del surrene, la produzione di glucocorticoidi, definiti "ormoni dello stress". In risposta a uno stimolo stressogeno, i glucocorticoidi esercitano risposte metaboliche, che comportano la mobilitazione delle risorse energetiche mirate all'adattamento alle situazioni di stress. In condizioni di stress cronico, l'ipercortisolismo risultante comporta una desensibilizzazione dei recettori che si traduce, a sua volta, in un malfunzionamento dell'intero asse ipotalamo-ipofisi-surrene <sup>18</sup>. L'ipercortisolismo determina, inoltre, un'alterazione della risposta immunitaria, con riduzione del numero assoluto di cellule NK, alterazione del rapporto CD4/CD8, maggiori concentrazioni di neutrofilo circolanti, ridotta proliferazione dei linfociti e fagocitosi dei neutrofilo <sup>18</sup>.

## 4. Depressione

La depressione è un disturbo del tono dell'umore caratterizzato da profonda tristezza, senso d'inutilità, labilità emotiva, perdita dello slancio vitale e incapacità di provare gioia e piacere. I pazienti avvertono un senso di noia continuo, non riescono a provare interesse per le normali attività, provano sentimenti di distacco e inadeguatezza nello svolgimento del lavoro abituale. La depressione è caratterizzata da disturbi del sonno, disturbi alimentari e rallentamento psicomotorio. I pazienti provano un profondo senso di spossatezza non motivato <sup>22</sup>.

### 4.1 Biochimica della depressione

#### 4.1.1 L'ipotesi monoamminergica

Secondo l'ipotesi monoamminergica, proposta da Schildkraut nel 1965, la depressione è determinata da un deficit funzionale dei trasmettitori monoamminergici in alcune aree cerebrali. In particolare, l'esposizione a esperienze negative, fattori farmacologici e patologie del sistema nervoso possono ridurre le normali quantità e funzionalità delle monoammine cerebrali <sup>23</sup>.

#### 4.1.2 Il ruolo della noradrenalina

Il deficit noradrenergico contribuisce alla perdita dell'attenzione e dell'interesse, riscontrata nel paziente depresso. Dal *locus coeruleus* dipartono numerose fibre noradrenergiche che raggiungono diverse aree cerebrali, come l'ipotalamo, l'ippocampo e la corteccia cerebrale. In studi funzionali su primati, l'elettrostimolazione del *locus coeruleus* determina l'insorgenza di uno stato di ansia, ipervigilanza e inibizione dei comportamenti esplorativi. L'ipotesi noradrenergica è confermata da alcune sperimentazioni cliniche nel corso delle quali pazienti depressi in remissione sono stati trattati con AMPT, un inibitore della sintesi di noradrenalina, con conseguente ricaduta dei sintomi depressivi<sup>23</sup>.

#### 4.1.3 Il ruolo della serotonina

Secondo la visione corrente, una deficienza della trasmissione serotoninergica determinerebbe una maggiore vulnerabilità alla depressione. Questa contribuirebbe alla genesi di parte dei sintomi della depressione, tra cui l'alterazione del tono dell'umore, dell'appetito e del sonno e le alterazioni cognitive. Le modificazioni serotoninergiche comprendono variazioni della quantità di L-triptofano disponibile come precursore della sintesi di serotonina e alterazioni dei meccanismi di ricaptazione e dei recettori<sup>23</sup>.

#### 4.1.4 Il ruolo della dopamina

La dopamina è presente in aree che controllano l'emotività e nei circuiti cerebrali di ricompensa. Il ruolo della dopamina sembrerebbe legato ad alcuni sintomi, come diminuita motivazione ed iniziativa e rallentamento psicomotorio, sentimenti di colpa, di inutilità ed autodisistima<sup>23</sup>.

#### 4.1.5 Alterazioni neuroendocrine e ruolo dei neuropeptidi

Le concentrazioni plasmatiche di cortisolo, in risposta a un maggior rilascio di ormone adrenocorticotropo (ACTH), sono elevate nella depressione e risultano poi normalizzate dopo la remissione clinica dell'episodio depressivo<sup>23</sup>. Nei pazienti depressi, i livelli di cortisolo rimangono elevati durante il pomeriggio e la sera, mentre negli individui sani, i picchi delle concentrazioni plasmatiche sono raggiunti durante la mattina. Il rilascio di cortisolo dal surrene indotto da ACTH è regolato dalla secrezione a livello ipotalamico del fattore di rilascio della corticotropina (CRF).

È stato, infatti, dimostrato che i livelli abnormi di cortisolo sono dovuti a un difetto nella regolazione neurotrasmettitoriale della secrezione di CRF<sup>23</sup>.

## 5. Fitoterapici utilizzati nel trattamento del disturbo d'ansia e della depressione

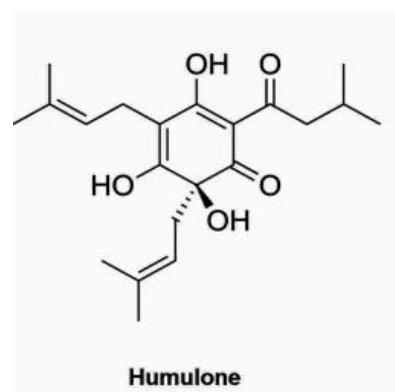
### 5.1 *Humulus lupulus*

Il luppolo (*Humulus lupulus L.*) è una pianta rampicante appartenente alla famiglia delle Cannabaceae. È una pianta dioica, la cui infiorescenza è definita strobilo e consiste di stipole e brattee disposte intorno a un asse centrale.



I composti più importanti degli strobili sono i principi amari, presenti sotto forma di resine. In base alla solubilità in etere di petrolio, è possibile distinguere la resina dura e la resina molle. La resina dura è insolubile in etere ed è costituita da  $\delta$ -resina e  $\gamma$ -resina, mentre la resina molle è lipofila ed è costituita da acidi amari derivati dal floroglucino prenilato.

Gli acidi amari possono essere classificati in  $\alpha$ -acidi e  $\beta$ -acidi: gli  $\alpha$ -acidi, o umuloni, precipitano come sale acetato, a differenza dei  $\beta$ -acidi, o lupuloni<sup>24</sup>. Gli acidi  $\alpha$  sono costituiti principalmente da umulone (35-70%), cohumulone (20-65%) e adumulone (10-15%)<sup>25, 26</sup>. Il potenziale terapeutico degli  $\alpha$ -acidi è stato studiato per la loro vasta gamma di bioattività contro batteri, osteoporosi, angiogenesi, infiammazione e cancro<sup>27, 28</sup>. Inoltre, gli  $\alpha$ -acidi mostrano proprietà sedative e ipnotiche<sup>29</sup>.



L'attività sedativa è quella con più radici storiche, infatti, si narra che i lavoratori delle vecchie fabbriche, trattando il luppolo, accusavano sonnolenza. Da qui era usanza raccogliere i coni del luppolo e disporli all'interno del cuscino, in modo da stabilire un contatto diretto, costante e continuativo nelle fasi del sonno grazie all'effetto soporifero e calmante che favorirebbe la naturale insorgenza del sonno. L'attività sedativa è attribuita alla modulazione positiva della funzione del recettore GABA<sub>A</sub>.



Schiller *et al.* (2006) <sup>30</sup> hanno condotto uno studio che ha permesso di confermare l'attività sedativa del luppolo. L'esperimento è stato eseguito su femmine di topi NMRI e sono state utilizzate differenti varietà di luppolo raccolte in annate diverse. Sono stati impiegati estratti con NATECO<sub>2</sub>, un metodo che prevede l'utilizzo di CO<sub>2</sub> supercritica, ed estratti etanoliche, di cui uno prodotto con etanolo 40% V/V e due con etanolo 90%. Dal prodotto con etanolo 90% sono state ottenute due fasi:

- una fase idrofila, contenente tannini, ma non umulone e lupulone;
- una fase lipofila, contenente i principi amari.

Extract-fraction	Humulone	Lupulone	Oil	Soft-resin
"Perle 99"	36	30.2	10	—
"Perle 99" oil-enriched	22.1	21.3	48	—
"Oil 2"	9	6.2	83	—
pure oil	0.1	0.6	99	—
$\alpha$ -bitter acids fraction	84	1.6	0.3	—
$\beta$ -bitter acids fraction	0.0	59.7	4.5	—
Combined extract (corr. to "Perle 99" oil-enriched)	22	21	48	—
Soft-resin-specific fraction	0.4	9.3	8.7	80

#### Contenuto percentuale dei principali costituenti nelle rispettive frazioni degli estratti

Agli estratti sono stati aggiunti 1000  $\mu$ l di olio di arachidi e 100  $\mu$ l di lecitina, miscelati per 15 secondi con un *ultraturrax*; sono stati poi incorporati consecutivamente 8,9 ml di acqua di rubinetto per ottenere una sospensione omogenea. I gruppi di controllo sono stati trattati con la miscela di solventi.

I preparati di prova sono stati somministrati tramite sonda gastrica in un volume di 10 ml/kg di peso corporeo. Gli studi sono stati eseguiti tra le ore 9 e le ore 13 per evitare variazioni circadiane pronunciate. Gli animali sono stati assegnati in modo casuale ai gruppi sperimentali.

Per indurre narcosi, sono stati somministrati per via endovenosa 150 mg/kg di ketamina oppure i topi sono stati immersi in un serbatoio di vetro contenente 3,5 ml di dietiletere.

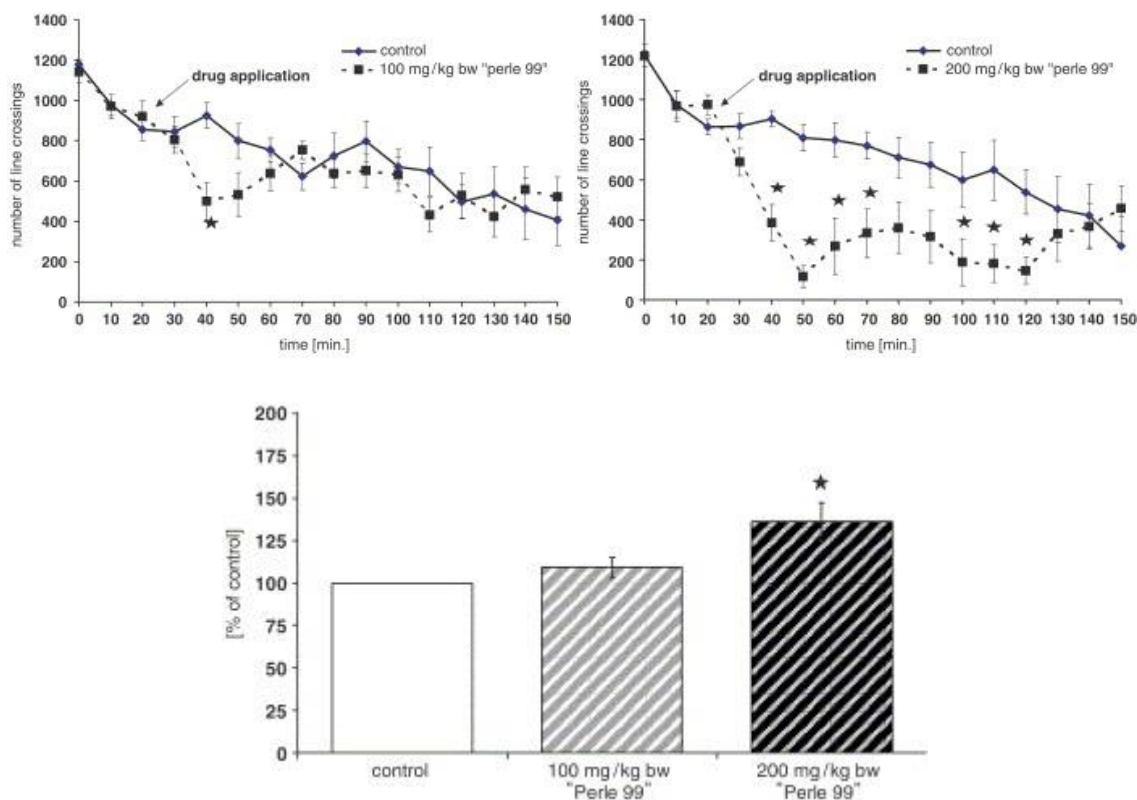
Per misurare l'ansia dei topi, è stato impiegato il labirinto sopraelevato secondo Lister (1987), costituito da quattro bracci, disposti a forma di croce: due sono chiusi e forniscono riparo e sensazione di protezione al topo, due sono aperti. I topi più ansiosi trascorreranno maggior tempo nei bracci chiusi.



Elevated plus maze

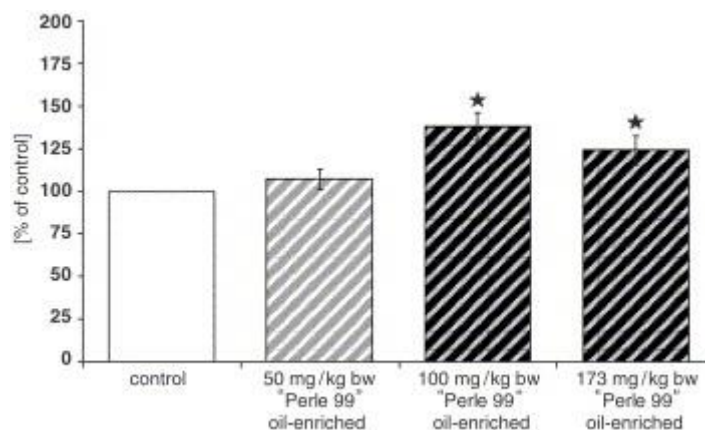
### 5.1.1 Risultati dello studio clinico di Schiller *et al.*

La somministrazione orale di un estratto Perle 99 in dosi di 100 e 200 mg/kg hanno prodotto un calo significativo dell'attività locomotoria. In particolare, se il dosaggio viene aumentato a 200 mg/kg di peso corporeo, l'effetto è più duraturo e più pronunciato mostrando una relazione tra dose ed effetto.

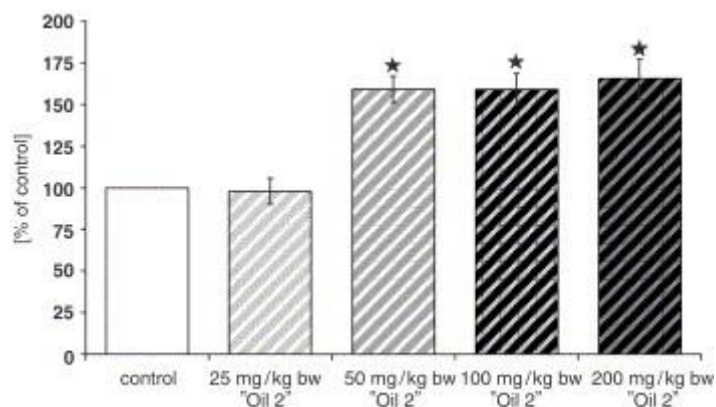


Le fasi I e II dell'estratto etanolico al 90% hanno dato risultati discriminanti: 200 mg della fase II contenente i costituenti dell'acido amaro hanno indotto sedazione, mentre la fase I contenente i tannini si è rivelata inattiva fino a un dosaggio di 250 mg/kg di peso corporeo.

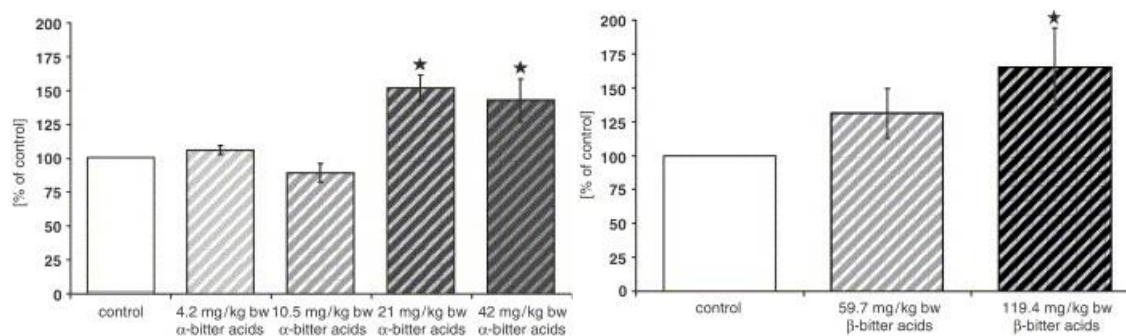
Il tempo di sonno risulta particolarmente prolungato con la somministrazione di Perle 99 ricco di olio: l'effetto massimo lo si ottiene con una somministrazione di 100 mg.



La frazione olio 2, contenente oltre all'olio, piccole quantità di acidi amari, si è dimostrata efficace in una dose di appena 50 mg/kg, di cui 42 mg di olio, 4,5 mg di umulone e 3,1 mg di lupulone; l'effetto non varia con l'aumentare della dose.



La frazione umulonica, contenente principalmente acidi  $\alpha$ -amari, si è dimostrata molto potente già a una dose di appena 25 mg/kg, corrispondente a 21 mg/kg di umulone; un aumento della dose non causa un ulteriore aumento dell'attività. La frazione di lupulone, invece, contenente acidi  $\beta$ -amari, è meno attiva e necessita di almeno 200 mg/kg, corrispondenti a 119 mg della sostanza pura.



L'aumento del tempo di sonno indotto dalla ketamina può essere conseguenza di un effetto sedativo centrale oppure di un'interferenza con il metabolismo del farmaco. Pertanto, è stato necessario un ulteriore esperimento utilizzando l'etere come narcotico, perché il suo effetto è indipendente dal metabolismo: ancora una volta, il luppolo e i suoi derivati hanno influenzato il tempo di sonno, dimostrando un effetto sedativo centrale.

## 5.2 Lavandula L.

Il genere *Lavandula* è originario delle regioni che si affacciano sul mar Mediterraneo, dall'Europa meridionale attraverso l'Africa settentrionale e orientale, il Medio Oriente, l'Asia sud-occidentale e l'India sud-orientale <sup>31</sup>.



La lavanda è una pianta sempreverde perenne. Ha foglie lineari o lanceolate con bordi ondulati e un apparato radicale fibroso molto ramificato. I fiori formano un anello sulla parte superiore dello stelo e sbocciano in spighe; sono caratterizzati da un colore viola pallido <sup>32</sup>.

La lavanda è stata impiegata in medicina per molto tempo: gli antichi Egizi la usavano come balsamo durante le fasi di mummificazione, mentre i Greci e i Romani la impiegavano come spezia per aromatizzare piatti, in prodotti di bellezza e come rimedio viste le sue proprietà calmanti, antisettiche e battericide; fu solo durante il Rinascimento che si cominciò a distillarne l'essenza. Da qui in poi, la lavanda entra definitivamente nel campo dei profumi e dei cosmetici. Ancora oggi riscuote grande successo, in particolare nell'aromaterapia è riconosciuto all'olio essenziale un effetto sedativo e calmante. Sono utilizzate le sommità fiorite, che devono essere raccolte prima della completa fioritura e poi essiccate.

### 5.2.1 Composizione chimica

I costituenti della droga sono suddivisi in componenti fissi e componenti volatili. I componenti fissi comprendono tannini, flavonoidi e derivati cumarinici. Questi metaboliti secondari sono presenti in forma glicosidica, legati cioè ad uno o più zuccheri. I tannini sono polifenoli ad alto peso molecolare capaci di formare legami sia con zuccheri sia con proteine. Possono essere idrolizzabili, se derivano dall'acido gallico, oppure condensati, se derivano dalla polimerizzazione di flavonoidi di tipo catechinico.

Nella pianta, i tannini hanno un ruolo protettivo e isolante. I flavonoidi sono costituiti da due anelli aromatici uniti da tre atomi di carbonio. La loro classificazione è basata sul diverso grado di ossidazione dell'anello piranico centrale che a volte si trova anche allo stato aperto. Sono particolarmente concentrati in fiori, frutti e foglie, dove conferiscono la colorazione.

I derivati cumarinici comprendono le fitoalessine, che hanno un ruolo protettivo nella pianta, e le furanocumarine, che sono fotosensibilizzanti. I componenti volatili, invece, sono propri dell'olio essenziale.

### 5.2.2 Aromaterapia

Il composto principale della lavanda è l'olio essenziale, posto all'interno delle ghiandole sebacee sulla superficie del calice, estratto mediante distillazione in corrente di vapore o idrodistillazione<sup>33,34</sup>. I costituenti chimici più comuni degli oli essenziali sono il linalolo (dal 9,3% al 68,8%) e l'acetato di linalile (dall'1,2% al 59,4%). La quantità di linalolo e acetato di linalile e le loro proporzioni relative ne determinano la qualità.

Il borneolo, il terpineolo, il terpinene-4-olo e il lavandulo acetato, così come gli ossidi di cariofillene e linalolo, sono tra i costituenti più comuni. La maggior parte dei composti di questa classe sono monoterpeni ossigenati (73,8%), di cui il 36% sono alcoli monoterpenici <sup>35</sup>.

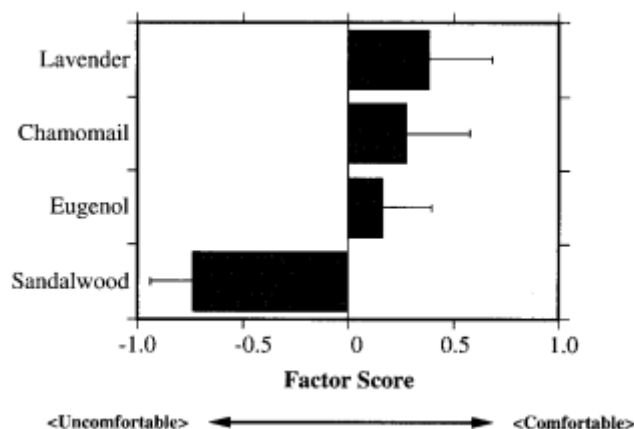
Masago *et al.* <sup>36</sup> (2000) hanno condotto uno studio che ha permesso di indagare i cambiamenti dell'elettroencefalogramma dopo l'inalazione di oli essenziali. I soggetti erano 13 studentesse, di età compresa tra i 19 e i 23 anni. Nell'esperimento sono stati applicati quattro odori: lavanda (*Lavander angustifolia*), sandalo (*Sanralum alubum*), camomilla (*Chamaemelum nobile*) ed eugenolo, un disinfettante. Dopo l'inalazione di ogni odore, ai soggetti è stato chiesto di segnare la scala di intensità di quell'odore da 0 (livello insensibile) a 26 (livello insopportabile) punti. Gli odori sono stati presentati a ciascun soggetto per mezzo di un contenitore a forma di imbuto fissato sul torace, situato a circa 15 cm sotto il naso.

I soggetti sono stati istruiti a sedersi in silenzio, chiudere gli occhi e respirare normalmente; quindi, è stato apposto un elettrodo sulla testa. Per ogni condizione, l'elettroencefalogramma è stato registrato durante il riposo (30 secondi) e la somministrazione dell'odore (90 secondi). Dopo ogni condizione, ai soggetti è stato chiesto di compilare un questionario sulla valutazione sensoriale.

### 5.3.1.1 Risultati dello studio clinico di Masago *et al.*

Adjective pairs	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Interpretation
Stimulating - Unstimulating	- 0.888	0.240	- 0.069	- 0.085	
Pleasant - Unpleasant	0.827	0.218	0.130	0.280	
Restful - Impatient	0.823	- 0.005	0.093	0.328	
Personal - Commonplace	- 0.827	0.180	0.080	0.077	
Exciting - Unexciting	- 0.785	0.087	- 0.223	0.019	
Plain - Rich	0.758	0.142	- 0.067	0.102	Comfortable feeling
Agreeable - Disagreeable	0.750	0.347	0.230	0.199	
Active - Gentle	- 0.698	0.415	- 0.030	- 0.015	
Refined - Unrefined	0.670	0.099	- 0.075	0.455	
Refreshing - Non-refreshing	0.655	- 0.005	0.093	0.328	
Solid-Soft	- 0.623	0.069	0.077	- 0.456	
Cheerful - Gloomy	- 0.025	0.831	- 0.137	- 0.085	Cheerful feeling
Dark - Light	- 0.129	0.830	0.102	- 0.266	
Old-fashioned - New-fashioned	0.023	- 0.108	0.848	0.295	Natural feeling
Urban - Rural	- 0.201	0.150	- 0.778	0.196	
Natural - Artificial	0.221	0.225	0.704	0.175	
Romantic - Unromantic	0.141	0.366	0.132	0.681	Feminine feeling
Feminine - Manly	0.497	0.017	- 0.030	0.656	
Delicate - Rough	0.494	- 0.064	0.145	0.596	

Sono stati valutati quattro fattori: sensazione di benessere, sensazione di allegria, sensazione naturale e sensazione femminile.

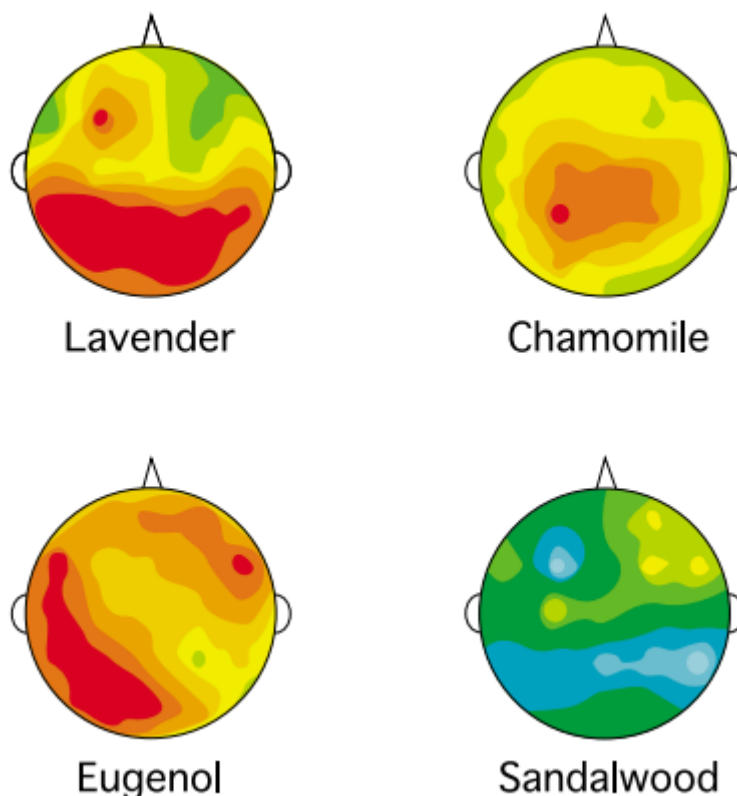


#### Punteggi medi del primo fattore (sensazione di comfort)

Vi sono stati notevoli cambiamenti a livello delle onde  $\alpha 1$  durante l'inalazione degli oli essenziali. Durante l'inalazione dell'olio essenziale di lavanda, la potenza  $\alpha 1$  diminuisce significativamente, tornando al livello di riposo dopo circa 30 secondi, per poi cambiare nuovamente dopo 30-40 secondi. Queste diminuzioni significative sono state osservate anche per l'eugenolo e per la camomilla durante i primi 10 secondi di inalazione, ma non sono state persistenti, a differenza della lavanda. Per la lavanda, la camomilla e l'eugenolo, i soggetti hanno stimato l'esposizione come confortevole, mentre il sandalo è stato stimato come scomodo. Perciò, gli odori che conferiscono una sensazione piacevole sono associati a una riduzione dell'attività  $\alpha 1$ . I dati ottenuti nel presente studio mettono in discussione l'interpretazione di una maggiore attività  $\alpha$  in risposta al rilassamento: probabilmente, le diminuzioni del ritmo  $\alpha$  durante l'inalazione riflettono l'attività correlata all'informazione olfattiva nel cervello.

I cambiamenti di  $\alpha 1$  sono stati osservati principalmente nelle regioni temporali parietali e posteriori. Queste regioni sono legate all'elaborazione integrativa delle informazioni sensoriali, compresa quella della sensazione olfattiva. Sulla base di questo risultato, si ritiene che in queste regioni si verifichino attività neuronali più complicate e integrative relative agli odori. Inoltre, si suppone che queste regioni abbiano una qualche relazione con le emozioni o l'esperienza e che queste informazioni emotive o sperimentali siano legate alla memoria.

Ehrlichman e Halpern (1988) hanno riportato che una percentuale maggiore di ricordi è stata classificata come felice dai soggetti in condizioni di odore gradevole rispetto ai ricordi classificati dai soggetti in condizione di odore sgradevole.



La t-map della distribuzione dell'attività  $\alpha 1$  per 10 secondi dopo la stimolazione olfattiva. L'area rossa indica una diminuzione dell'attività  $\alpha 1$  rispetto a una condizione di riposo.

#### 5.2.1.2 Impatto dell'aromaterapia sulla qualità del sonno

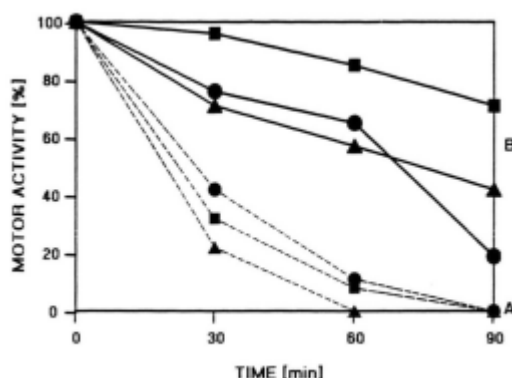
L'impatto dell'aromaterapia con olio essenziale di lavanda sulla qualità del sonno è stato esaminato in diverse ricerche. Un esempio è rappresentato dallo studio di Buchbauer *et al.*<sup>37</sup> (1991). Per lo studio, sono stati impiegati topi maschi e femmine di età compresa tra 6-8 settimane e 6 mesi. Sono stati alloggiati su una lettiera di trucioli di legno in gabbie di polycarbonato in condizioni convenzionali (temperatura ambiente  $22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ , umidità relativa  $60\% \pm 10\%$ , ritmo chiaro-scuro 12:12 h, ricambio d'aria 12-15 volte all'ora) e in presenza di acqua potabile. Durante l'esperimento, è stata assicurata una concentrazione costante di olio essenziale tramite tubi di vetro ed è stato garantito un flusso di aria fresca. Le procedure sperimentali sono state avviate a mezzogiorno, perché il periodo compreso tra le ore 10 e le ore 14 è risultato essere quello di più alta attività motoria dei topi.



Sono state utilizzate simultaneamente due gabbie sperimentali con 4 animali ciascuna: un gruppo ha inalato il fragrante indagato, il secondo gruppo non trattato è servito come controllo. L'attività di monitoraggio degli animali è stata misurata durante il tempo di adattamento di 60 minuti (senza trattamento) e 30, 60 e 90 minuti dopo il riempimento del tubo di vetro. In particolare, i campioni di sangue sono stati raccolti in provette di plastica contenenti eparina; il plasma è stato, quindi, separato mediante centrifugazione, congelato e conservato a -20 °C fino all'uso. Al siero è stato aggiunto benzilestere dell'acido tiglinico come standard interno in una concentrazione di 10 ng/ml.

#### 5.2.1.2.1 Risultati dello studio clinico di Buchbauer *et al.*

I topi non trattati mostrano un'elevata tendenza ad esplorare l'ambiente e a svolgere attività per motivi sociali e fisiologici (toelettatura, consumo di cibo e acqua, ecc.). In condizioni sperimentali, gli effetti sedativi dell'olio essenziale sono stati espressi dal caratteristico accovacciamento degli animali in un angolo della gabbia. Il comportamento inattivo e sonnolento degli animali trattati è stato espresso come una significativa diminuzione del numero di impulsi.

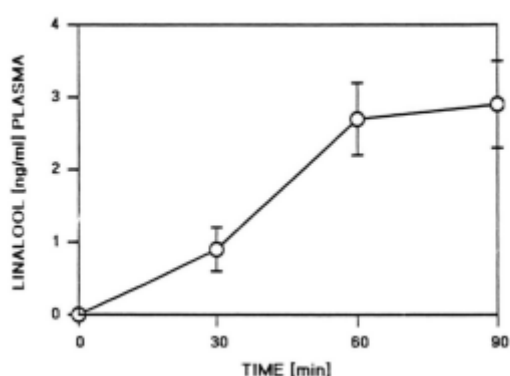


*Effetto soppressivo sull'attività motoria di topi di 6-8 settimane e 6 mesi di età; l'attività degli animali di controllo è stata fissata al 100%*

Dopo l'inalazione dell'olio essenziale, è stata riscontrata una chiara diminuzione della motilità dei topi giovani; a causa della risposta più debole nei topi di 6 mesi di età, è stata utilizzata una dose più elevata (3 ml). La ragione della più alta soglia di efficacia nei topi più anziani può essere spiegata dalla maggior quantità di tessuto adiposo in cui si accumulano i composti aromatici terpenoidi, molto lipofili, riducendo la concentrazione plasmatica effettiva.

In ulteriori esperimenti, ai topi è stata iniettata caffeina, con conseguente aumento del 160% dell'attività motoria rispetto al 100% del gruppo di controllo. Un significativo declino dell'attività è stato ottenuto per inalazione dell'olio essenziale subito dopo l'iniezione di caffeina e un'ora dopo.

I livelli plasmatici di linalolo sono stati ottenuti mediante misurazioni gascromatografiche, utilizzando l'estere benzilico dell'acido tiglico come standard interno. È stata trovata una correlazione diretta tra la concentrazione plasmatica di linalolo e il tempo di inalazione.



#### Livelli plasmatici di linalolo dopo inalazione dell'olio essenziale

Il linalolo, l'acetato di linalile e l'olio essenziale stesso provocano una diminuzione dell'attività diversa. Questo effetto può dipendere da un effetto sinergico di alcuni componenti dell'olio essenziale, che provoca una migliore efficacia, oppure dall'attività metabolica negli animali: l'acetato di linalile è rapidamente idrolizzato da un'esterasi, mentre il linalolo è metabolizzato come alcol primario in glucuronide solubile in acqua, che viene poi eliminato con l'urina; il linalolo, inoltre, non è in grado di superare la barriera emato-encefalica.

Nell'olio essenziale di *Lavandula dentata*, è presente l'etere biciclico 1,8-cineolo, responsabile di un effetto stimolante. Pertanto, gli oli di lavanda con un alto contenuto di questo composto possono provocare un effetto contrario.

L'azione sedativa dipende probabilmente da un eccellente assorbimento da parte della mucosa nasale, che porta a un contenuto sierico paragonabile a un'iniezione endovenosa. È provocata dall'azione a livello cerebrale e non da un'influenza riflessa causata da effetti aromatici confortevoli sul senso olfattivo: le sostanze lipofile come gli oli essenziali, infatti, interagiscono con i lipidi di membrana, provocando, così, per mezzo di una cascata di reazioni, effetti narcotici.

### 5.2.3 Meccanismo d'azione della lavanda sul sistema nervoso

Diverse ricerche sono state condotte per determinare il meccanismo d'azione della lavanda nei tessuti neurali. A livello della giunzione neuromuscolare, il linalolo riduce il rilascio di acetilcolina e altera l'attività dei canali ionici <sup>38</sup>. Questi dati suggeriscono che la lavanda abbia proprietà anticolinergiche, neuroprotettive e antiossidanti, utili nel trattamento del morbo di Alzheimer. È stato anche dimostrato che l'olio essenziale di lavanda aumenta il tono inibitorio del sistema nervoso e altera la neurotrasmissione GABAergica, in particolare a livello dei recettori GABA-A <sup>39,40</sup>.

L'azione ansiolitica della lavanda è associata, inoltre, alla presenza di composti polifenolici, sostanze fitochimiche note per le loro proprietà antiossidanti, neuroprotettive e cognitive, in grado di aumentare la plasticità sinaptica nel contesto della neurogenesi ippocampale adulta e promuoverne il potenziamento a lungo termine.

I polifenoli possono migliorare l'apprendimento e la memoria e ridurre il rischio di sviluppare malattie neurodegenerative legate all'età, probabilmente attraverso una diminuzione della produzione di specie reattive dell'ossigeno e dell'infiammazione. Tuttavia, i meccanismi alla base di questi effetti sono ancora poco chiari. Si suppone che i polifenoli esercitino effetti positivi su ansia e depressione attraverso la regolazione della neurogenesi ippocampale adulta. Tra i composti fenolici, l'acido rosmarinico e l'acido caffeico, presenti nell'estratto di lavanda, si ipotizza abbiano gli effetti maggiori <sup>41</sup>.

#### 5.2.4 Silexan®, un nuovo principio attivo brevettato

Silexan® è un principio attivo speciale con un olio essenziale prodotto dai fiori di *Lavandula angustifolia* mediante distillazione in corrente di vapore. In Germania, il farmaco è registrato per il trattamento dell'irrequietezza che accompagna l'umore ansioso. Il prodotto è disponibile in capsule morbide a rilascio immediato contenenti 80 mg di olio di lavanda. L'autorizzazione all'immissione in commercio tedesca raccomanda una dose giornaliera di 80 mg di Silexan®<sup>42</sup>. I dati sperimentali indicano chiaramente potenti proprietà ansiolitiche di Silexan® in un'ampia gamma di contesti sperimentali tipicamente utilizzati per valutare l'efficacia delle benzodiazepine e di altri ansiolitici sedativi. Le proprietà ansiolitiche di Silexan® richiedono diversi giorni di trattamento. Da questo punto di vista, Silexan® assomiglia agli SSRI e ad altri farmaci antidepressivi<sup>43, 44</sup>.

Alcune proprietà di Silexan® sembrano essere simili al pregabalin, come l'attività ansiolitica a sviluppo piuttosto lento. Poiché il pregabalin riduce l'attività dei canali del calcio voltaggio-dipendenti<sup>45</sup>, sono stati studiati effetti comparabili di Silexan® utilizzando l'afflusso di calcio nei sinaptosomi cerebrali di topo indotto dalla depolarizzazione del potassio.

Mentre il pregabalin riduce l'afflusso di calcio di circa il 35%, Silexan® e il suo ingrediente principale, il linalolo, hanno mostrato un effetto simile ma più debole con effetti massimi di circa il 25% di inibizione<sup>46</sup>. Il pregabalin lega la subunità  $\alpha 2\delta$  del canale del calcio di tipo P/Q espressa principalmente nel sistema nervoso centrale<sup>47</sup>. Il legame del pregabalin alla subunità è stato confermato utilizzando 3H-gabapentina come radioligando. Silexan® non ha avuto alcun effetto sul legame specifico della 3H-gabapentina, indicando la mancanza di interazione con la subunità  $\alpha 2\delta$ <sup>46</sup>.

Al fine di chiarire l'effetto di Silexan®, Baldinger *et al.*<sup>48</sup>, hanno eseguito un esperimento su 25 soggetti sani, di età compresa tra 20 e 34 anni; a causa di problemi tecnici con lo scanner PET, 6 soggetti sani hanno abbandonato, mentre due sono stati esclusi dall'analisi dei dati PET a causa della bassa attività specifica di [carbonil-<sup>11</sup>C]WAY-100635. Lo studio è randomizzato ed è stato eseguito in doppio cieco, controllato con placebo.

Ai partecipanti sono state somministrate due capsule di farmaco contenente 80 mg di olio essenziale di lavanda o placebo al mattino, dopo colazione, per almeno 8 settimane intervallate da 14 giorni di wash-out. Ogni soggetto è stato sottoposto a due scansioni PET (tomografia a emissione di positroni) alla fine del rispettivo periodo di trattamento. Le misurazioni sono iniziate contemporaneamente con l'iniezione in bolo del radioligando [carbonil-<sup>11</sup>C]WAY-100635 diluito in soluzione salina tamponata con fosfato. Al termine di entrambi i periodi di trattamento, sono state acquisite scansioni di risonanza magnetica strutturale (MRI). Le immagini ottenute sono state segmentate in compartimenti di materia grigia, sostanza bianca e liquido cerebrospinale.

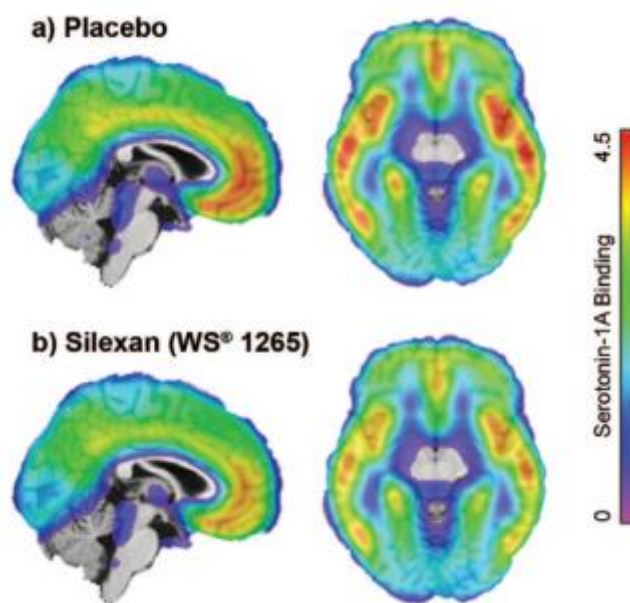
#### 5.2.4.1 Risultati dello studio clinico di Baldinger et al.

Evidenze provenienti da ricerche precliniche e cliniche dimostrano chiaramente un ruolo importante del sistema serotonergico, in particolare del recettore 5-HT<sub>1A</sub>, nella neurobiologia dell'ansia<sup>49</sup>. I topi knockout del recettore 5-HT<sub>1A</sub> risultano più paurosi in diversi test comportamentali rispetto ai topi wild-type<sup>50, 51</sup>. Gross *et al.*<sup>52</sup> (2002) hanno suggerito che il recettore postsinaptico 5-HT<sub>1A</sub>, situato sui neuroni GABAergici e glutammatergici nel prosencefalo, piuttosto che i recettori autoinibitori 5-HT<sub>1A</sub> presenti nei nuclei del rafe, sono in grado di ripristinare i normali livelli di ansia osservati nei topi wild-type.

Nello studio di Chioca *et al.*<sup>53</sup> (2013), l'effetto ansiolitico dell'olio essenziale di lavanda è stato messo in relazione con il recettore 5-HT<sub>1A</sub>, dimostrando che la somministrazione dell'olio essenziale per inalazione porta a una riduzione del comportamento ansioso. L'esperimento dimostra, inoltre, che l'olio di lavanda non altera il legame di [3H]flunitrazepam al sito delle benzodiazepine sul recettore GABA-A, perciò l'effetto ansiolitico è mediato dal sistema serotonergico, in particolare dal recettore 5-HT<sub>1A</sub>, e non da un meccanismo GABAergico.

Nell'esperimento di Tauscher *et al.*<sup>54</sup> (2001), in 19 soggetti sani, è stata riportata una relazione inversa tra il legame del recettore 5-HT<sub>1A</sub> e i tratti ansiosi in quattro aree cerebrali corticali, risultati in linea con lo studio di Baldinger *et al.*

In particolare, è stata riscontrata una diffusa riduzione del potenziale di legame del recettore 5-HT<sub>1A</sub> a seguito della somministrazione prolungata di Silexan® rispetto al placebo nell'ippocampo e nella corteccia cingolata anteriore, aree del sistema limbico coinvolte nella regolazione delle emozioni, con effetti simili all'escitalopram <sup>55</sup>. Per quanto riguarda gli SSRI, il blocco del trasportatore della serotonina nella regione del rafe provoca un aumento dei livelli extracellulari del neurotrasmettitore, con conseguente desensibilizzazione degli auto-recettori 5-HT<sub>1A</sub> <sup>56</sup>. Questo meccanismo d'azione non è tuttavia applicabile al Silexan®, poiché questa sostanza non ha rivelato alcuna affinità con il SERT <sup>57</sup>.



Potenziale medio di legame del recettore 5-HT<sub>1A</sub> dopo somministrazione cronica di placebo (a) e Silexan® (b).

In generale, gli oli essenziali sembrano non avere un bersaglio specifico, a causa del loro gran numero di costituenti. Essendo lipofili, penetrano nella parete cellulare e nella membrana citoplasmatica, interrompendo la struttura e influenzando l'attività dei canali ionici e dei recettori accoppiati a proteine <sup>58</sup>.

Riassumendo i risultati ottenuti dallo studio farmacologico umano di Baldinger et al., nonostante alcune somiglianze con l'azione ansiolitica delle benzodiazepine, degli SSRI o del pregabalin, Silexan® non interagisce con i bersagli tipici di questi farmaci standard, ma inibisce diversi tipi di canali del calcio voltaggio-dipendenti e modula i sistemi serotoninergici. Questi risultati sono probabilmente alla base dell'effetto non sedativo di Silexan®, che ha stabilito una differenza fondamentale rispetto agli ansiolitici di prima linea.

Infatti, Kumar <sup>59</sup> (2013) ha condotto un'ampia serie di test d'ansia e uno screening generale sulle proprietà neurofarmacologiche di Silexan® nei ratti e nei topi. Silexan® (3,10 e 30 mg/kg) è stato somministrato una volta al giorno per sette giorni consecutivi ed è stato confrontato con gli ansiolitici standard lorazepam (5 mg/kg) e diazepam (3 mg/kg). Tutte e tre le dosi di Silexan® hanno indotto effetti ansiolitici significativi e dose-dipendenti, paragonabili a quelli del lorazepam. Silexan® ha aumentato il tempo di sonno indotto dal pentobarbital, ma, a differenza del diazepam, è risultato privo di qualsiasi effetto sedativo intrinseco significativo. È stato ipotizzato che, in condizioni patologiche, come disturbi d'ansia o da stress, un aumento dell'afflusso di calcio attraverso i canali del calcio di tipo N e P/Q possa aumentare il rilascio di neurotrasmettitori come il glutammato e la noradrenalina, coinvolti nella patogenesi di queste malattie. Inibendo i canali del calcio voltaggio-dipendenti, Silexan® può avere un effetto normalizzante sulle cellule nervose iperattive e contrastare le espressioni sintomatiche, come pensieri vorticosi e stati d'animo ansiosi.

### 5.3 *Withania somnifera* L.

La *Withania somnifera* è comunemente utilizzata nell'Ayurveda e in altri sistemi di medicina tradizionale. Ha visto un aumento dell'uso in tutto il mondo grazie alla sua reputazione di adattogeno.



Il termine “adattogeno” risale al 1947 ed è stato attribuito allo scienziato russo Nikolai Lazarev, che lo definì come un agente che consente a un organismo di contrastare fattori di stress fisici, chimici o biologici avversi generando una resistenza aspecifica <sup>304</sup>.

Questa popolarità ha suscitato un aumento degli studi scientifici sui suoi effetti biologici, inclusa una potenziale applicazione per i disturbi neuropsichiatrici e neurodegenerativi.

La *Withania somnifera* appartiene alla famiglia delle Solanacee. È nota come "Ashwagandha", un nome sanscrito derivante dal suo uso nella medicina tradizionale in India. La *Withania somnifera* gode di una formidabile reputazione nella medicina ayurvedica come erba Rasayana, cioè in grado di ringiovanire il corpo e promuovere la salute di tutti i tessuti <sup>60</sup>. Le proprietà rinomate della *Withania somnifera* includono la capacità di migliorare la concentrazione, la memoria e l'umore, oltre a fornire resilienza contro agenti patogeni e malattie <sup>61</sup>.

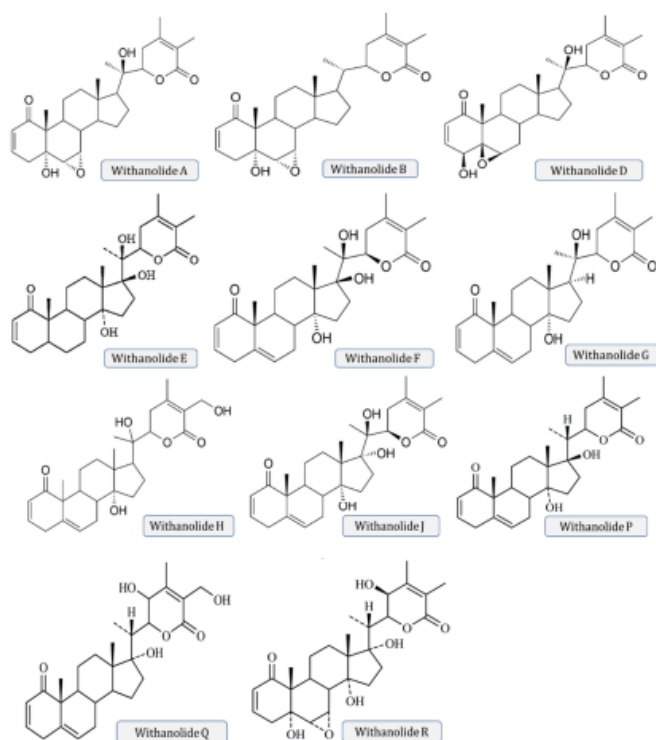
La pianta *Withania somnifera* è un arbusto legnoso alto 0,5-2 m che cresce nelle parti più aride delle zone tropicali e subtropicali, tra cui le Isole Canarie, il Mediterraneo, l'Africa, la Cina, i Paesi dell'Asia meridionale, come l'India e lo Sri Lanka, e il Medio Oriente <sup>62</sup>. Le radici appena essiccate rappresentano la componente medicinale predominante; tuttavia, sono impiegati per scopi terapeutici anche le foglie, i fiori, i semi e i frutti della pianta <sup>63</sup>.

I preparati di *Withania somnifera* sono utilizzati per condizioni come l'artrite, l'asma, il gozzo e le ulcere, nonché l'ansia, l'insonnia e i disturbi neurologici. Questi usi sono legati alle rinomate proprietà adattogene, antistress e antinfiammatorie della pianta <sup>64</sup>.

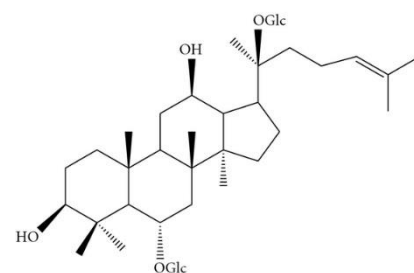


### 5.3.1 Profilo fitochimico

Una recente revisione di Tetali *et al.*<sup>65</sup> riassume circa 140 composti specializzati riportati nella *Withania somnifera*. Tra questi, i più noti, sono i withanolidi, che si presentano anche come glicosidi (withanosidi). Oltre 70 derivati withanolidi sono stati riscontrati nelle foglie e nelle radici<sup>66, 67, 68</sup>.

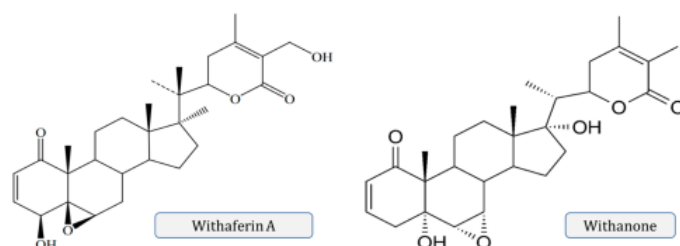


I withanolidi sono lattoni steroidi contenenti 28 atomi di carbonio caratterizzati da uno scheletro ergostano, in cui C-22 e C-26 sono ossidati per formare anelli lattonici a cinque o sei termini che possono essere fusi con la parte carbociclica della molecola tramite un legame C-C o attraverso un ponte O. La *Withania somnifera* è talvolta indicata come Ginseng indiano perché i withanolidi assomigliano strutturalmente ai ginsenosidi, i costituenti attivi del *Panax ginseng*.

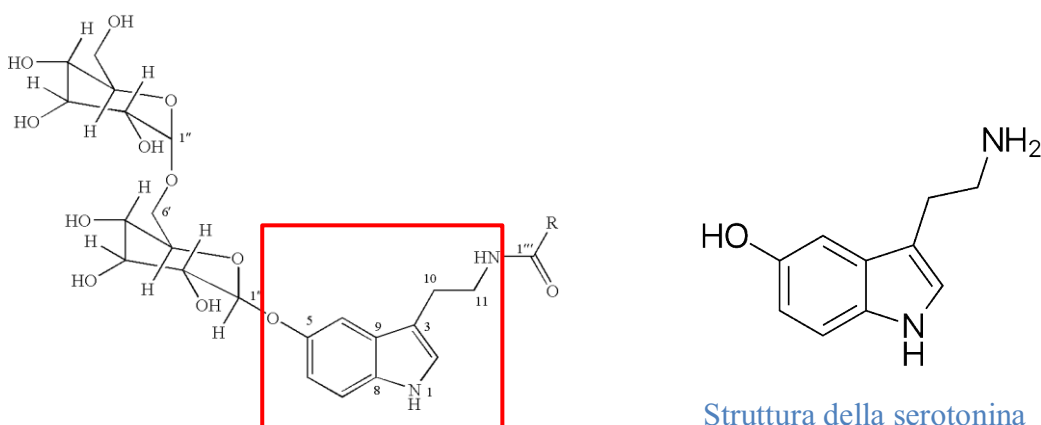


Ginsenoside

La *Withania somnifera* contiene inoltre withaferina A e withanone che agiscono come inibitori dell'angiogenesi e hanno proprietà antitumorali <sup>69, 70</sup>. La withaferina A mostra anche attività antibiotica grazie all'anello lattonico insaturo <sup>71</sup> ed è impiegata nel trattamento di ulcere e carbonchi cutanei.



Tra i metaboliti attivi della *Withania somnifera* vi sono inoltre i withanamidi, la cui struttura contiene una base di 5-idrossi triptamina (serotonina) con ammido idrossilica e parti diglicosidiche. I withanamidi A e C neutralizzano la tossicità della proteina  $\beta$ -amiloide (BAP) e proteggono le cellule dalla morte cellulare. In particolare, il withanamide A esercita anche proprietà antiossidanti, perché inibisce la perossidazione lipidica <sup>72, 73</sup>.



Struttura dei withanamidi

Struttura della serotonina

La *Withania somnifera* contiene anche quattro sitoindosidi, di cui i sitoindosidi IX e X sono derivati glicosilati della withaferina A <sup>74</sup>, mentre i sitoindosidi VII e VIII sono glucosidi acilsterilici a catena lunga <sup>75</sup>. I sitoindosidi hanno proprietà antistress e mantengono la memoria.

La *Withania somnifera* contiene molteplici alcaloidi, come la withasomnina <sup>76</sup>, composti fenolici, zuccheri riducenti, amminoacidi, come acido aspartico, prolina, tirosina, alanina, glicina, acido glutammico, cisteina e triptofano, ma anche ferro, tropina, colina e pseudotropina <sup>77</sup>. Gli estratti oleosi ottenuti dalle bacche della pianta contengono numerosi acidi grassi saturi e insaturi, come acido oleico, acido linoleico e acido palmitico. I derivati del withanolide sono il gruppo più comune ad essere stato esaminato individualmente per le attività biologiche: alcuni withanolidi contengono siti elettrofili che conferiscono sensibilità alla presenza di tioli e svolgono un ruolo importante nel mediare l'attività biologica associata all'attività antiossidante e nell'agire su altri sensori elettrofili che modulano le risposte trascrizionali o post-trascrizionali <sup>78</sup>. Tramite studi spettrali, è stata, inoltre, scoperta la presenza di un withanolide clorurato che, insieme alla withaferina A, è caratterizzato da un potenziale antitumorale utile contro il carcinoma polmonare <sup>79</sup>.

### 5.3.2 Attività biologica

La *Withania somnifera* è comunemente impiegata per alleviare lo stress. È ormai ben noto che lo stress può causare cambiamenti funzionali e strutturali all'interno del cervello ed è implicato nello sviluppo della maggior parte dei disturbi neuropsichiatrici, tra cui ansia, depressione e insonnia<sup>80, 81, 82</sup>. I meccanismi attraverso i quali lo stress contribuisce a questi disturbi includono l'iperattività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e la disregolazione del sistema immunitario<sup>83, 84</sup>. Il cortisolo e il corticosterone sono elevati durante i periodi di stress e svolgono un ruolo centrale nella disfunzione dell'asse HPA.

#### 5.3.2.1 Effetto anti-stress e ansiolitico

Diversi studi hanno valutato l'attività antistress della *Withania somnifera* in adulti di età compresa tra 18 e 75 anni. Le popolazioni dello studio includevano partecipanti sani, stressati, in sovrappeso o obesi, con stress lavorativo cronico, con diagnosi di ansia e con diagnosi di schizofrenia o disturbo schizoaffettivo.

Lo studio di Chandrasekhar *et al.*<sup>85</sup> (2012) è uno studio monocentrico, prospettico, in doppio cieco, randomizzato e controllato con placebo, eseguito per 60 giorni su 64 soggetti che lamentavano stress mentale. I partecipanti avevano un'età compresa tra 18 e 54 anni ed erano privi di condizioni psichiatriche diverse dallo stress e di altre patologie. Tre soggetti non erano conformi al protocollo di studio, perciò l'analisi di efficacia è stata eseguita solo su 61 soggetti, mentre l'analisi della sicurezza è stata eseguita su tutti i soggetti della popolazione *intent-to-treat*, ovvero tutti i partecipanti che avevano assunto almeno una dose del farmaco o del placebo.

Nel giorno 0, sono stati misurati i livelli sierici di cortisolo al mattino e sono stati distribuiti tre questionari: il questionario PSS (*Perceived Stress Scale*), il questionario DASS (*Depression Anxiety Stress Scale*) e la versione a 28 item del *General Health Questionnaire* (GHQ-28).

I partecipanti sono stati istruiti a consumare una capsula due volte al giorno dopo il pasto con un bicchiere di acqua naturale, per 60 giorni. Al gruppo di trattamento farmacologico sono state somministrate capsule ciascuna contenente 300 mg di estratto di radice di *Ashwagandha*.

### 5.3.2.1.1 Risultati dello studio di Chandrasekhar *et al.*

La PSS è utilizzata per valutare la percezione dell'individuo riguardo a particolari situazioni di vita quotidiana e la conseguente reazione ad avvenimenti percepiti come destabilizzanti e rischiosi.

Al termine dei 60 giorni di trattamento, è stata riscontrata solo una riduzione del 5,5% dei punteggi PSS nel gruppo placebo, rispetto al 44,0% nel gruppo *Ashwagandha*.

	<i>Ashwagandha</i> (n=30)		Placebo (n=31)		<i>P</i>
	Mean	SD	Mean	SD	
Baseline	20.6	4.8	24.6	6.7	0.0094
Day 60	11.5	6.2	23.3	7.2	<0.0001
Change from baseline	-9.1	8.6	-1.4	5.3	<0.0001
% change from baseline	-44.0	-	-5.5	-	-

Il questionario DASS, ideato a Peter e Sydney Lovibond nel 1995, è stato sviluppato per valutare il livello di ansia, stress e depressione nei pazienti che hanno vissuto o vivono situazioni particolari di:

- forte stress in ambito familiare o lavorativo;
- stati ansiosi che perdurano;
- disturbo post-traumatico da stress;
- depressione legata a malattie severe;
- stati depressivi.

Le 21 domande del questionario comprendono una serie di tre scale di autovalutazione progettate per misurare gli stati emotivi. Ciascuna delle tre scale contiene sette domande. La scala della depressione valuta la disforia, la mancanza di speranza, la svalutazione della vita, la mancanza di interesse/coinvolgimento in tutte le attività quotidiane, l'anedonia e l'incapacità di reagire anche alle situazioni più semplici. La scala dell'ansia valuta, invece, l'arousal (ovvero l'attivazione e la reazione del sistema nervoso), gli effetti dell'ansia sulla muscolatura scheletrica a livello di contrazioni, tensioni muscolari e rigidità, l'ansia situazionale, l'esperienza soggettiva (che impatto ha l'ansia sulla propria vita) e come si manifesta.

Infine, la scala dello stress valuta i livelli di eccitazione cronica non dipendenti da una causa specifica e, quindi, la difficoltà a rilassarsi e la facilità a essere turbati, agitati, irritabili, iperattivi e impazienti.

Al giorno 60, i punteggi nei due gruppi differivano sostanzialmente e i punteggi medi erano significativamente diversi. Inoltre, rispetto al gruppo placebo, sono state osservate maggiori riduzioni nei punteggi per tutti e tre i sottogruppi nel gruppo *Ashwagandha*. Nel gruppo *Ashwagandha*, è stata rilevata una significativa riduzione dei punteggi corrispondenti a tutti i sottoinsiemi di item (depressione, ansia, stress).

	<i>Ashwagandha</i> (n=30)		Placebo (n=31)		<i>P</i>
	Mean	SD	Mean	SD	
<b>DASS depression</b>					
Baseline	17.5	9.3	18.6	11.5	0.697
Day 60	4.0	6.6	17.6	13.8	<0.0001
Change from baseline	-13.5	11.4	-1.0	9.0	<0.0001
% change from baseline	-77.0	-	-5.2	-	-
<b>DASS anxiety</b>					
Baseline	15.9	7.6	13.4	7.8	0.213
Day 60	3.9	5.4	14.0	11.5	<0.0001
Change from baseline	-12.0	8.6	0.6	7.9	<0.0001
% change from baseline	-75.6	-	4.3	-	-
<b>DASS stress</b>					
Baseline	21.4	8.5	22.9	10.7	0.556
Day 60	7.7	7.2	20.5	13.0	<0.0001
Change from baseline	-13.8	12.2	-2.4	10.5	<0.0001
% change from baseline	-64.2	-	10.4	-	-
<b>DASS total</b>					
Baseline	54.8	22.8	54.9	28.2	0.9954
Day 60	15.6	18.0	52.1	37.0	<0.0001
Change from baseline	-39.3	29.9	-2.8	25.4	<0.0001
% change from baseline	-71.6	-	-5.0	-	-

Il questionario GHQ, ideato da Goldberg nel 1979, consente di indagare la presenza di quattro elementi di distress: depressione, ansia, deterioramento sociale e ipocondria. Un individuo che incorre in uno di questi stati potrebbe essere disturbato, emotivamente agitato e alterato rispetto al suo normale stato. La scala indaga quindi la presenza di disturbi psichiatrici di tipo non psicotico. Valuta la presenza e la frequenza di una serie di sintomi non cronici di cui il soggetto ha sofferto nelle ultime settimane.

Il questionario comprende item costituiti da affermazioni positive e che quindi descrivono stati psicologici connotati positivamente o attività quotidiane (ad esempio “capacità a concentrarsi” o “sentirsi utili”), e da affermazioni negative che descrivono sintomi di disagio psicologico (ad esempio “perdita del sonno” o “incapacità a superare le difficoltà”). Al soggetto è richiesto di confrontare la propria situazione attuale rispetto al suo stato psicologico abituale.

Dopo 60 giorni di esperimento, i punteggi nei due gruppi divergevano notevolmente e i punteggi medi erano significativamente diversi e la diminuzione della misura dello stress durante il periodo di studio di 60 giorni è stata considerevolmente più alta nel gruppo *Ashwagandha* rispetto al gruppo placebo.

	<i>Ashwagandha</i> (n=30)		Placebo (n=31)		<i>P</i>
	Mean	SD	Mean	SD	
<b>GHQ-28 somatic</b>					
Baseline	8.5	4.3	7.9	4.1	0.5825
Day 60	2.0	2.4	7.5	5.2	<0.0001
Change from baseline	-6.5	4.3	-0.4	4.3	<0.0001
% change from baseline	-76.1	-	-4.9	-	-
<b>GHQ-28 anxiety and insomnia</b>					
Baseline	9.7	4.6	10.0	5.4	0.7772
Day 60	2.9	3.2	8.9	6.3	<0.0001
Change from baseline	-6.7	4.9	-1.2	5.1	<0.0001
% change from baseline	-69.7	-	-11.6	-	-
<b>GHQ-28 social dysfunction</b>					
Baseline	10.6	3.8	8.7	3.9	0.0611
Day 60	3.4	3.7	9.0	5.2	<0.0001
Change from baseline	-7.2	5.1	0.3	3.9	<0.0001
% change from baseline	-68.1	-	3.7	-	-
<b>GHQ-28 severe depression</b>					
Baseline	5.3	4.4	4.9	4.7	0.7147
Day 60	1.1	1.9	5.4	5.9	0.0002
Change from baseline	4.2	4.0	0.5	4.8	<0.0001
% change from baseline	-79.3	-	10.6	-	-
<b>GHQ-28 total</b>					
Day 0	34.0	14.1	31.5	15.0	0.4977
Day 60	9.4	9.5	30.8	20.5	<0.0001
Change from baseline	-24.6	14.8	-0.7	14.9	<0.0001
% change from baseline	-72.3	-	-2.3	-	-

L'attività antistress della *Withania somnifera* è comunemente attribuita ai suoi effetti sui glucocorticoidi cortisolo e corticosterone <sup>86</sup>. Lo stress acuto aumenta la frequenza cardiaca e la pressione arteriosa, stimola la gluconeogenesi, la glicogenolisi, la lipolisi e la secrezione epatica di glucosio. Questi a loro volta aumentano i livelli di catecolamine e cortisolo.

Lo stress porta a un aumento della secrezione di ACTH, che, a sua volta, aumenta i livelli di cortisolo. Alla fine del periodo di studio, i livelli medi di cortisolo sierico dei due gruppi erano notevolmente diversi.

Dopo 60 giorni di trattamento, è stata osservata una riduzione del 27,9% rispetto al basale nel gruppo *Ashwagandha*. Al contrario, è stata osservata una riduzione del 7,9% nel gruppo di controllo placebo.

	<i>Ashwagandha</i> (n=30)		Placebo (n=31)		<i>P</i>
	Mean	SD	Mean	SD	
Baseline	15.7	3.2	15.6	3.3	0.9011
Day 60	11.3	3.7	14.4	3.2	0.0006
Change from baseline	-4.4	4.3	-1.2	3.9	0.002
% change from baseline	-27.9	-	-7.9	-	-

\* Serum cortisol levels are measured in  $\mu\text{g/dL}$

#### 5.3.2.2. Attività sul sistema GABAergico

Vi sono prove precliniche sostanziali che suggeriscono che i composti presenti nella *Withania somnifera* interagiscono e modulano i recettori GABA-A. L'evidenza dell'attività diretta GABA-mimetica della *Withania somnifera* è stata dimostrata per la prima volta da Mehta *et al.*, che ha scoperto che un estratto di radice metanolica della pianta aumenta l'afflusso di ioni cloruro nei neuroni del midollo spinale dei mammiferi in assenza di GABA e inibisce il legame del neurotrasmettitore in modo simile agli agonisti del recettore GABA-A<sup>87</sup>. L'attività sul recettore GABA-A è supportata da diversi studi sugli animali. Le azioni stimolatorie della morfina e dell'etanolo sui neuroni dopaminergici dell'area tegmentale ventrale nei ratti sono state soppresse da un estratto di radice metanolica di *Withania somnifera* tramite un meccanismo mediato da GABA-A, ma non da GABA-B<sup>88</sup>.

I tentativi di identificare quali composti presenti nella *Withania somnifera* siano responsabili dell'attività sul recettore GABA-A sono stati difficili. Candelario *et al.* hanno scoperto che né la withaferina A né il withanolide A hanno avuto alcun effetto diretto sui recettori GABA-A<sup>89</sup>. Allo stesso modo, Schliebs *et al.* hanno scoperto che l'iniezione intraperitoneale di una miscela equimolare di withaferina A e sitoindosidi VII-X non ha avuto alcun effetto sui recettori GABA-A in un modello di ratto<sup>90</sup>.



Sonar *et al.* hanno isolato nove composti da un estratto metanolico di *Withania somnifera*, tra cui withanolidi ed esteri dell'acido ferulico. Non hanno trovato alcuna attività GABA-mimetica diretta per nessuno di questi composti. Tuttavia, due composti, il withanolide B e il docosanilferulato, modulano la funzione del recettore GABA-A, potenziando le correnti postsinaptiche inibitorie, con un profilo farmacologico simile ad altri modulatori allosterici GABA-A noti <sup>91</sup>. Candelario *et al.* <sup>89</sup> hanno scoperto che la *Withania somnifera* è anche un forte agonista del recettore GABA<sub>A</sub>1. Questi recettori sono una sottoclasse di recettori GABA-A con proprietà farmacologiche uniche, tra cui una maggiore sensibilità al GABA e un tasso inferiore di desensibilizzazione.

### 5.3.2.3 Attività antiossidante e antiinfiammatoria

Il cervello è particolarmente suscettibile allo stress ossidativo <sup>92</sup> e la ricerca suggerisce che i disturbi d'ansia siano caratterizzati da una diminuzione delle difese antiossidanti combinata con un aumento del danno ossidativo <sup>93</sup>. Diversi studi sugli animali sugli effetti ansiolitici della *Withania somnifera* hanno dimostrato un'associazione tra il comportamento ansioso e la disregolazione dello stress ossidativo e dei marcatori infiammatori. Un estratto di radice indefinito <sup>94, 95</sup> e un estratto acquoso di foglie di *Withania somnifera* hanno mostrato la capacità di aumentare l'attività della catalasi e i livelli di glutatione ridotto nel cervello, riducendo la perossidazione lipidica in un modello murino di privazione acuta del sonno <sup>96</sup>.

In un modello di ratto di ictus ischemico, un estratto di radice idroalcolica standardizzato di *Withania somnifera* ha anche ridotto la perossidazione lipidica e aumentato l'attività antiossidante nel cervello <sup>97</sup>. Nei modelli animali di neuroinfiammazione e privazione del sonno, un estratto acquoso di foglie di *Withania somnifera* ha ridotto le citochine pro-infiammatorie, tra cui TNF $\alpha$  e IL-6 <sup>98, 99</sup>.

#### 5.3.2.4 Effetto ipnotico

Un possibile meccanismo attraverso il quale la *Withania somnifera* può esercitare i suoi effetti positivi sul sonno è l'attivazione della neurotrasmissione GABAergica. Kumar e Kalonia (2008) hanno scoperto che l'attività di promozione del sonno della pianta nei ratti è stata significativamente invertita dalla picrotossina (un antagonista del GABA) e potenziata dal muscimolo (un agonista del GABA), supportando un ruolo meccanicistico per il GABA <sup>100</sup>.

È anche evidenziato che la *Withania somnifera* ha effetti cronomodulatori sul cervello. Jagota e Kowshik hanno dimostrato che un estratto idroalcolico di foglie di *Withania somnifera* ha ripristinato i cambiamenti indotti dall'età in diversi geni del ritmo circadiano nel nucleo soprachiasmatico dei ratti di mezza età e anziani <sup>101</sup>.

#### 5.4 *Passiflora incarnata* L.

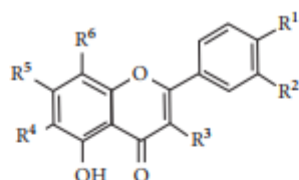
La passiflora è una pianta perenne dalle documentate proprietà terapeutiche, originaria del Sud America, dell'Australia e del Sud-Est asiatico. Può raggiungere i 10 m di altezza e presenta frutti commestibili a forma di uovo. Il frutto è una ricca fonte di vitamine A, C, B1 e B2, oltre a calcio, fosforo e ferro <sup>102</sup>.



I dati della letteratura suggeriscono che la passiflora aiuta a ridurre lo stress e può quindi essere utile nel trattamento dell'insonnia, dell'ansia e della depressione. È utilizzata, inoltre, per trattare la dipendenza da morfina e può essere utile in caso di convulsioni e nevralgie <sup>102</sup>.

##### 5.4.1 Costituenti chimici della *Passiflora incarnata*

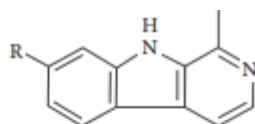
La *Passiflora incarnata* è una fonte di alcaloidi, composti fenolici, flavonoidi e glicosidi cianogenici. Le principali sostanze fitochimiche presenti nella passiflora sono i flavonoidi liberi (apigenina, luteolina, quercetina e kaempferolo) e i glicosidi flavonoidi (vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina) <sup>103, 104</sup>. I flavonoidi C-glicosilati sono costituiti principalmente da un residuo di glucosio direttamente collegato al nucleo aromatico nelle posizioni 6 e 8 <sup>105</sup>.



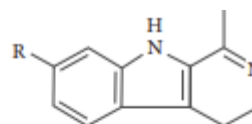
Flavonoids	R1	R2	R3	R4	R5	R6
(1) Vitexin	OH	H	H	H	OH	Glucose
(2) Isovitexin	OH	H	H	Glucose	OH	H
(3) Schaftoside	OH	H	H	Glucose	OH	Arabinose
(4) Isoschaftoside	OH	H	H	Arabinose	OH	Glucose
(5) Orientin	OH	OH	H	H	OH	Glucose
(6) Isoorientin	OH	OH	H	Glucose	OH	H
(7) Swertisin	OH	H	H	Glucose	OCH <sub>3</sub>	H
(8) Apigenin	OH	H	H	H	OH	H
(9) Luteolin	OH	OH	H	H	OH	H
(10) Quercetin	OH	OH	OH	H	OH	H
(11) Kaempferol	H	OH	OH	H	OH	H
(12) Chrysin	H	H	H	H	OH	H

### Flavonoidi della *Passiflora incarnata*

Gli alcaloidi presenti nella *Passiflora incarnata* sono di tipo indolico ( $\beta$ -carboline) <sup>106</sup>. Alcuni di essi hanno valore in medicina come tranquillanti e per il trattamento dell'ipertensione <sup>107</sup>. Negli studi condotti negli anni '60, sono stati rilevati armina, armolo, armano, armalina, armalolo <sup>108</sup>.



(a)



(b)

Alkaloids			
A	R	B	R
(13) Harmine	OCH <sub>3</sub>	(16) Harmaline	OCH <sub>3</sub>
(14) Harmol	OH	(17) Harmalol	OH
(15) Harman	H		

### Alcaloidi della *Passiflora incarnata*

#### 5.4.2 Studi clinici sulla *Passiflora incarnata*

Le benzodiazepine sono indicate per il trattamento a breve termine della sintomatologia ansiosa e depressiva e dei disturbi del sonno. Tuttavia, le prescrizioni sono spesso prolungate anche dopo la remissione dell'ansia o dell'insonnia, a causa dello sviluppo di dipendenza fisica e psicologica <sup>109</sup>, i cui sintomi possono essere simili a quelli che hanno causato la prescrizione iniziale del farmaco, portando i pazienti a supporre erroneamente che l'assunzione prolungata sia necessaria per evitare ricadute o sintomi di rimbalzo <sup>110</sup>.

L'estratto secco di *Passiflora incarnata* è stato approvato dall'EMA <sup>111</sup> per il trattamento dei sintomi di ansia lieve. Gli studi sull'azione farmacologica di *Passiflora incarnata* indicano un possibile effetto sia sui sintomi dell'ansia che sul *craving*, suggerendo un possibile ruolo nella gestione dell'interruzione delle benzodiazepine <sup>112</sup>.

##### 5.4.2.1 Studio di Dantas *et al.*

Lo studio di Dantas *et al.* <sup>113</sup> (2017) confronta l'effetto della *Passiflora incarnata* con il midazolam nel controllo dell'ansia in pazienti sottoposti a estrazione bilaterale dei terzi molari mandibolari. Il midazolam, infatti, è ampiamente utilizzato per controllare l'ansia durante le procedure chirurgiche orali perché fornisce una profonda amnesia anterograda e una sedazione soddisfacente con cambiamenti minimi nei sistemi cardiovascolare e respiratorio, inoltre, la sua breve durata d'azione è coerente con la durata media di un intervento odontoiatrico.

Lo studio è stato concepito come uno studio clinico controllato, randomizzato e in doppio cieco. Sono stati selezionati 40 volontari di età superiore a 18 anni, che non avevano assunto farmaci antidolorifici o ansiolitici nei 15 giorni precedenti lo studio. Sono stati esclusi i pazienti soggetti a ipersensibilità a farmaci, sostanze o materiali utilizzati nell'esperimento, in gravidanza o allattamento e con storia di pericoronite.

I partecipanti hanno ricevuto una capsula contenente 15 mg di midazolam (Protocollo 1) o 260 mg di *Passiflora incarnata* (Protocollo 2) 30 minuti prima dell'inizio della procedura chirurgica. Il lato di estrazione e il protocollo sono stati assegnati in maniera casuale. Al fine di prevenire il dolore e l'edema post-chirurgico, è stata somministrata una singola dose di desametasone intramuscolare (8 mg) 30 minuti prima dell'intervento.

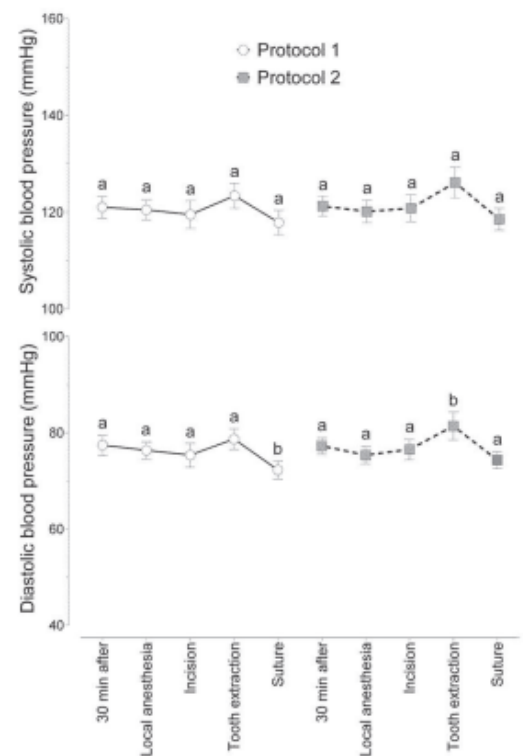
Le procedure chirurgiche sono state eseguite in due sessioni, una per ciascun lato della mandibola. Il lato da operare nella prima sessione è stato selezionato in modo casuale. L'intervallo minimo tra il primo e il secondo intervento chirurgico è stato di 15 giorni e l'intervallo massimo è stato di 30 giorni.

Il livello di ansia è stato stimato in tre fasi. La fase I si è verificata una settimana prima del primo intervento; il grado di ansia dei partecipanti è stato valutato attraverso la *Corah Dental Anxiety Scale* e tramite la misurazione della frequenza cardiaca e della saturazione dopo 5 minuti di riposo. Nella Fase II, lo sperimentatore e l'operatore responsabile dell'intervento hanno valutato il grado di ansia somministrando lo stesso questionario al termine dell'intervento chirurgico e misurando i parametri fisici 30 minuti dopo la somministrazione del farmaco, la somministrazione dell'anestesia locale, l'incisione, l'estrazione del dente e la sutura. Nella Fase III, i punti di sutura sono stati rimossi e i volontari sono tornati il giorno dopo l'intervento chirurgico per registrare un'autovalutazione sull'esperienza di trattamento, sull'insorgenza di amnesia anterograda e sugli effetti collaterali.

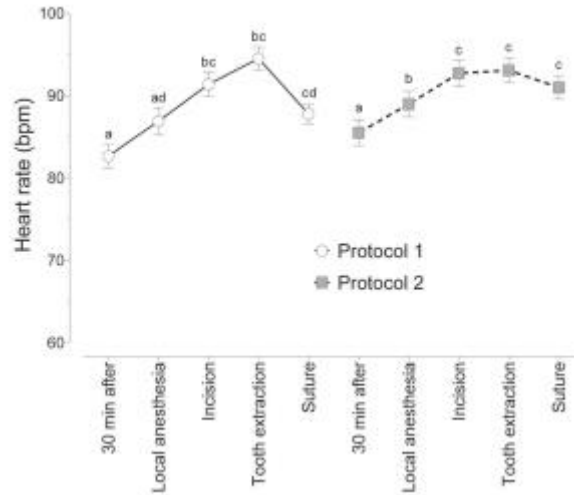
#### 5.4.2.1.1 Risultati dello studio di Dantas *et al.*

Non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra i protocolli per la pressione arteriosa. Nell'ambito del protocollo 2, i valori minimi di pressione arteriosa durante l'estrazione erano superiori a quelli osservati durante altri punti temporali (anestesia locale, incisione e sutura), ma non differivano significativamente dai valori basali. L'estrazione, infatti, è il momento più stressante durante la procedura chirurgica.

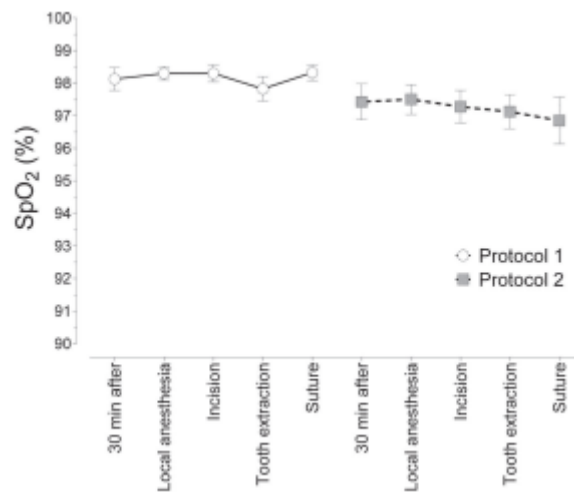
Nell'ambito del protocollo 1, sono stati osservati valori di pressione arteriosa più bassi durante la sutura rispetto al periodo iniziale e all'estrazione: i partecipanti potrebbero essersi sentiti sollevati quando la rimozione del dente è stata completata.



La frequenza cardiaca risulta aumentata durante l'estrazione ed è rimasta superiore ai livelli iniziali fino alla sutura per entrambi i protocolli; non vi sono state differenze significative tra i protocolli in nessuno dei periodi operatori.



La depressione respiratoria è un effetto collaterale comune delle benzodiazepine, ma il midazolam è accettato come agente sedativo sicuro con un'incidenza minima di effetti avversi. Considerando che il valore favorevole di SpO<sub>2</sub> per un individuo sano è compreso tra il 99% e il 95%, lo studi ha dimostrato che entrambi i protocolli non hanno modificato significativamente la saturazione alle dosi utilizzate.



Il protocollo 1 ha però aumentato la percentuale di partecipanti al secondo intervento chirurgico perché responsabile di amnesia anterograda; con il protocollo 2, i partecipanti avevano maggiori probabilità di ricordare l'intervento chirurgico.

What do you remember regarding surgery?	Protocol		Total
	1 (Midazolam)	2 ( <i>Passiflora</i> )	
Nothing	8 (20%)	0	8 (10%)
Nearly nothing	3 (7,5%)	0	3 (3,8%)
Some specific fact or event	3 (7,5%)	0	3 (3,8%)
The majority of events	10 (25%)	5 (12,5%)	15 (18,8%)
All	16 (40%)	35 (87,5%)	51 (63,8%)
Total	40 (100%)	40 (100%)	80 (100%)

#### 5.4.2.2 Studio di Azimaraghi *et al.*

Lo studio di Azimaraghi *et al.*<sup>114</sup> (2017) dimostra l'efficacia della *Passiflora incarnata* nel ridurre l'ansia preoperatoria, con un'azione ansiolitica simile all'oxazepam. L'ansia preoperatoria è associata a profili emodinamici anomali o a un'alterata farmacocinetica dei farmaci anestetici, che può aumentare il fabbisogno di anestesia intraoperatoria. Provoca l'attivazione neurale simpatica e porta a un aumento della frequenza cardiaca, della pressione sanguigna, dell'irritabilità cardiaca e dei livelli plasmatici di adrenalina e a un alterato equilibrio elettrolitico.

Sono stati arruolati 128 pazienti di età compresa tra 18 e 59 anni candidati per l'ernia inguinale ambulatoriale. Sono stati esclusi pazienti con una storia di disturbi d'ansia e consumo di sedativi, analgesici, antidepressivi o antiepilettici e pazienti che abbiano ricevuto altri farmaci. Lo studio è in doppio cieco e randomizzato.

Circa 2 ore prima dell'intervento, tutti i pazienti sono stati trasferiti in una stanza tranquilla isolata e sono stati suddivisi nel gruppo O, che ha ricevuto 10 mg di oxazepam, e nel gruppo P, che ha ricevuto 500 mg di *Passiflora incarnata*; i farmaci sono stati somministrati per via orale.

In sala operatoria, è stata somministrata un'infusione di soluzione fisiologica isotonica da 7 ml/kg/ora. L'anestesia è stata indotta con fentanil 2 µg/kg, propofol 2,5 mg/kg e l'intubazione tracheale è stata facilitata dalla somministrazione di cisatracurio 0,2 mg/kg. L'anestesia è stata mantenuta con propofol (100 µg/kg/minuti). Quando è stata avviata la sutura cutanea, l'infusione di farmaco anestetico è stata interrotta e il blocco neuromuscolare è stato antagonizzato mediante somministrazione endovenosa di 0,04 mg/kg di neostigmina e 0,02 mg/kg di atropina. Il dolore post-operatorio è stato trattato con 3 mg/kg di tramadolo per via endovenosa, mentre la nausea e il vomito sono stati trattati con 4 mg di ondansetron.

#### 5.4.2.2.1 Risultati dello studio di Azimaraghi *et al.*

I pazienti che hanno ricevuto le compresse di passiflora hanno sperimentato meno ansia preoperatoria rispetto a quelli che hanno ricevuto oxazepam, mentre l'effetto di entrambi i farmaci sulla funzione psicomotoria postoperatoria è stato il medesimo. Il tempo di recupero è stato simile in entrambi i gruppi.

Variables	Pre-operative baseline	90 minutes after extubation	p value
TDTmm			
Passiflora group	0.9±0.2	1.2±0.4	0.79
Oxazepam group	0.8±0.2	1.1±0.3	0.56
TDTnr			
Passiflora group	0.8±0.8	1.0±0.9	0.66
Oxazepam group	0.9±0.7	1.2±1.0	0.47
DSST			
Passiflora group	31.1±5.1	28.6±5.0	0.75
Oxazepam group	30.8±5.0	29.1±4.8	0.54

TDTmm: Trieger dot test millimeter missed, TDTnr: Trieger dot test number missed, DSST: Digital-symbol substitution test, PACU: Postanesthesia care unit

#### 5.4.2.3 Altri studi

Akhondzadeh *et al.*<sup>115</sup> (2001) hanno confrontato gli effetti dell'estratto di passiflora (45 gocce/die) con oxazepam per un periodo di 28 giorni in soggetti affetti da disturbo d'ansia generalizzato. I partecipanti sono stati valutati ogni giorno, prima, durante e dopo l'assunzione delle sostanze e non hanno sperimentato differenze significative tra l'assunzione di passiflora e oxazepam. La passiflora, però, non ha causato una compromissione delle prestazioni lavorative.



Aslanargun *et al.*<sup>116</sup> (2012) hanno studiato gli effetti della somministrazione di sciroppo di passiflora (700 mg/5 ml) su ansia, funzione psicomotoria, sedazione ed emodinamica nei pazienti prima dell'anestesia spinale. La *Passiflora incarnata* ha contribuito in modo significativo a ridurre l'ansia preoperatoria. Anche se è stato riportato che le funzioni psicomotorie erano compromesse 30 minuti dopo l'estubazione, i valori preoperatori sono stati ripristinati entro 90 minuti. I parametri emodinamici non sono cambiati rispetto al placebo e non sono state riportate sedazione intraoperatoria e depressione respiratoria.

#### 5.4.3 Meccanismo d'azione della *Passiflora incarnata*

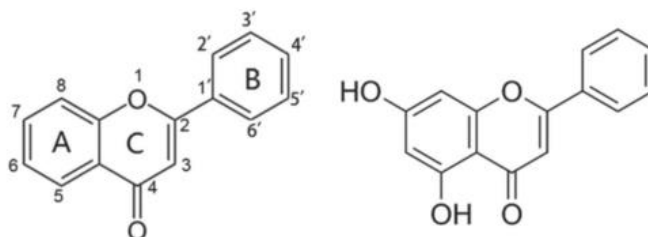
La possibilità di identificare nuovi farmaci con caratteristiche chimiche delle benzodiazepine per il trattamento dell'ansia ha portato alla formulazione di modelli farmacoforici. Secondo il modello farmacoforico progettato da Cook, il farmaco ideale deve avere una regione lipofila, due siti donatori di legami idrogeno (HB1 e HB2) e un sito accettore di legami idrogeno (A2)<sup>117, 118</sup>. Queste caratteristiche sono coerenti con la struttura chimica dei flavonoidi: gli anelli aromatici corrispondono alle regioni lipofile, mentre nei flavoni sono presenti due siti donatori di legami idrogeno legati all'ossigeno etere e a un gruppo carbonilico<sup>119</sup>. Al fine di chiarire alcune incongruenze relative ad azioni non previste da questo modello nello studio del 6-metil-3'-nitroflavone<sup>120</sup>, è stato progettato un nuovo modello farmacoforico. In questo nuovo modello, oltre alle regioni descritte dal modello di Cook, vi sono due siti classificati come S1 e S2 relativi all'interazione elettrostatica dei sostituenti in posizione 6 del flavone<sup>119</sup>.

I flavonoidi identificati in *Passiflora incarnata* agiscono probabilmente secondo i modelli farmacoforici descritti. Sono stati studiati gli effetti in vitro di un estratto secco di *Passiflora incarnata* sul sistema GABA: l'estratto inibisce l'assorbimento del GABA nei sinaptosomi corticali di ratto, ma non ha alcun effetto sul rilascio del neurotrasmettitore e sull'attività delle GABA-transaminasi<sup>121</sup>.

L'articolo di revisione scritto da Wasowski e Marder<sup>122</sup> descrive i flavonoidi come ligandi del recettore GABA-A; in particolare, l'apigenina e la crisina legano il sito di legame delle benzodiazepine del recettore GABA-A, esibendo attività ansiolitica, senza effetti sedativi e miorilassanti<sup>122 123</sup>.

### 5.4.3.1 Attività farmacologica della crisina

La crisina (5,7-diidrossiflavone) ha una struttura portante costituita dagli anelli A e C fusi e da un anello fenilico B attaccato alla seconda posizione dell'anello C. Condivide la struttura di base dei flavoni, con un gruppo ossidrilico aggiuntivo in quinta e settima posizione dell'anello A. I gruppi ossidrilici <sup>124, 125</sup> sono responsabili dell'attività farmacologica.



Struttura base dei flavoni con gli anelli A e C fusi e l'anello fenilico B (figura a sinistra). Struttura del flavonoide crisina 5,7-diidrossiflavone (figura a destra)

La crisina ha un impatto positivo su diversi sistemi neurotrasmettitoriali che partecipano all'eziologia dell'ansia e della depressione; tuttavia, è anche in grado di modificare diverse vie di segnalazione e attivare processi neurotrofici nel sistema nervoso centrale, che potrebbero essere correlati ai suoi effetti ansiolitici e antidepressivi.

I disturbi psichiatrici sono collegati ad alterazioni dell'attività degli enzimi antiossidanti nel sistema nervoso centrale <sup>126</sup>. Lo stress ossidativo può generare alterazioni a lungo termine, come il danno alle membrane neuronali con potenziale attivazione dei processi di apoptosi <sup>127</sup>. Queste alterazioni sono coinvolte nell'eziologia dei disturbi d'ansia e depressione <sup>128, 129</sup>. La crisina ha la capacità di modulare la via dell'ossido nitrico, che contribuisce alla produzione di ROS, sia in vivo che in vitro <sup>130, 131</sup>. È stato riportato in studi preclinici e clinici che la riduzione dello stress ossidativo a livello periferico è associata a una diminuzione dei sintomi di ansia e depressione <sup>132, 133, 134, 135</sup>. In questo modo, è possibile che gli effetti antiossidanti periferici e centrali della crisina possano contribuire ai suoi effetti ansiolitici e antidepressivi.

Secondo Wolfman *et al.*, una singola dose di crisina a 1 mg/kg provoca un tempo maggiore nel compartimento illuminato della scatola chiara/scura (LDB) <sup>136</sup>, con effetto simile al diazepam. La crisina, ma non il diazepam, è priva di effetti motori legati alla sedazione <sup>137</sup> e questo può rappresentare il vantaggio del flavonoide rispetto alle benzodiazepine <sup>138</sup>.

I sintomi dell'ansia nelle donne sono associati a una riduzione degli ormoni steroidei, come l'estradiolo e il progesterone, e al suo metabolita ridotto allopregnanolone a livello periferico e centrale, che può verificarsi prima delle mestruazioni, dopo il parto e durante la transizione alla fase della menopausa <sup>139,140</sup>. Questi ormoni steroidei possono modulare diversi sistemi di neurotrasmissione, come i sistemi serotonergico, noradrenergico, dopaminergico e GABAergico <sup>141</sup>; pertanto, alcuni di questi ormoni sono stati proposti come nuovi gruppi di farmaci ansiolitici per il trattamento di particolari disturbi d'ansia e depressione associati a concentrazioni ridotte di ormoni steroidei <sup>142</sup>. Il flavonoide crisina imita alcuni degli effetti farmacologici dei neurosteroidi nei ratti femmina <sup>143</sup>. I comportamenti ansiosi nelle femmine di ratto aumentano significativamente durante la fase metestrus-diestro del ciclo ovarico, che è associata a una bassa concentrazione di ormoni steroidei <sup>144</sup>; questa fase equivale al periodo premenstruale nelle donne <sup>145</sup>. La crisina a 2 mg/kg, simile al diazepam a 2 mg/kg, previene il comportamento ansioso che si verifica naturalmente durante la fase metestrus-diestros nei ratti femmina. A supporto, la microiniezione di crisina impedisce il comportamento ansioso che si verifica naturalmente durante il diestro, precedentemente bloccato da un'iniezione di picrotossina, bicucullina e flumazenil. Questo stesso effetto sul comportamento ansioso durante il diestro è stato impedito anche dalla microiniezione di allopregnanolone <sup>146</sup>. Il fatto che la picrotossina, la bicucullina e il flumazenil abbiano impedito l'effetto ansiolitico di diverse dosi di crisina supporta l'idea che i suoi effetti farmacologici siano stabiliti sul complesso del recettore GABA/benzodiazepina, come accade con i farmaci ansiolitici GABAergici clinicamente efficaci e diversi neurosteroidi, come l'allopregnanolone <sup>147</sup>.

#### 5.4.3.2 Attività farmacologica degli altri composti chimici

Gli alcaloidi armina, armolo e armano presenti in *Passiflora incarnata* appartengono alla classe delle  $\beta$ -carboline. Questa classe di alcaloidi ha attirato l'attenzione di Braestrup *et al.*<sup>148</sup> durante gli studi con ligandi endogeni per i recettori delle benzodiazepine dopo il rilevamento dell'estere etilico dell'acido  $\beta$ -carbolina-3-carbossilico nelle urine umane normali. Inoltre, la ricerca che coinvolge i composti  $\beta$ -carbolinici ha portato a considerazioni concettuali e sperimentali, coprendo il ruolo dei ligandi nel processo di modulazione del recettore GABA-A in uno spettro che va dagli agonisti completi agli agonisti inversi completi<sup>149</sup>. Gli alcaloidi  $\beta$ -carbolinici sono coerenti con il modello farmacoforico sviluppato da Cook, in quanto presentano un sito accettore di legami idrogeno nel gruppo NH, un sito donatore di legami idrogeno in N(2), oltre alle posizioni in C6 e C3 inquadrate nel dominio lipidico<sup>150</sup>.

#### 5.5 *Hypericum perforatum*

L'iperico è una pianta erbacea perenne originaria dell'Asia occidentale, dell'Europa e dell'Africa settentrionale<sup>151</sup>. È noto come erba di San Giovanni, perché fiorisce in piena estate, intorno al giorno di San Giovanni Battista a giugno. È stato impiegato da diversi sistemi di medicina tradizionale, come quella

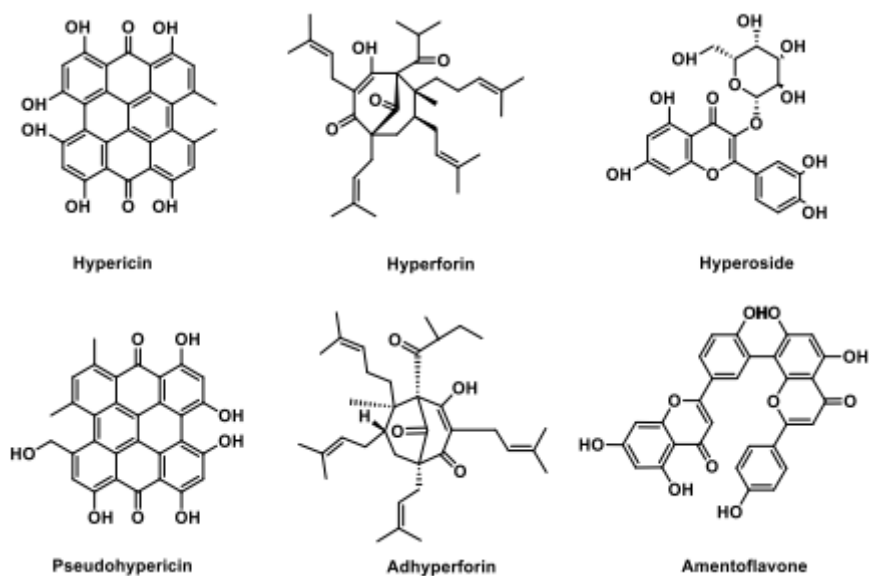


cinese, greca e islamica, grazie alla vasta gamma di applicazioni, tra cui il trattamento di problemi della pelle, come le ustioni, ulcere gastriche, disturbi biliari, infiammazioni dei bronchi e del sistema genito-urinario, raffreddori, emicranie, diabete mellito e obesità<sup>152</sup><sup>153</sup>. Tuttavia, il motivo della sua popolarità può essere attribuito all'efficacia nel trattamento della depressione da lieve a moderata<sup>154</sup>. Può essere impiegato nel trattamento dei sintomi precoci tipici della menopausa, come ansia, depressione, insonnia, vampate di calore e cambiamento del desiderio sessuale<sup>155, 156</sup>.

Il meccanismo d'azione dell'*Hypericum perforatum* è complesso e prevede l'interazione con diversi target molecolari: blocca in maniera non selettiva la ricaptazione di serotonina, noradrenalina e dopamina, aumenta la densità dei recettori serotoninergici e dopaminergici, con maggiore affinità per i recettori GABAergici, e inibisce l'attività dell'enzima monoaminoossidasi. Provoca, quindi, un aumento delle concentrazioni di monoamine nella fessura sinaptica <sup>157</sup>.

### 5.5.1 Composti chimici

L'iperico contiene diversi metaboliti secondari tra cui terpeni volatili, flavonoidi, derivati dell'antrachinone (come i naftodiani), floroglucinoli prenilati, tannini e xantoni. Tuttavia, i composti terapeutici più importanti includono l'iperforina, che rientra nella categoria dei floroglucinoli, i naftodiatroni tra cui l'ipericina e la pseudoipericina, e flavonoidi, come la quercetina, la quercitrina, la rutina e l'iperoside <sup>158</sup>.



#### 5.5.1.1 Attività farmacologica dell'iperoside

L'iperoside è un glicoside dotato di diverse attività farmacologiche, tra cui effetti antitumorali, antinfiammatori, antibatterici, antivirali, antidepressivi, protettivi dei vasi sanguigni e regolatori del sistema digestivo <sup>159, 160, 161</sup>. Migliora l'infiammazione indotta da LPS batterico, responsabile del rilascio di citochine infiammatorie, attraverso l'inibizione delle vie di segnalazione del recettore NOD-like 3 (NLRP3) e del recettore TOLL-like 4 (TLR4) <sup>162</sup>.

La famiglia dei recettori NLR, presenti nel sistema nervoso centrale, è costituita dall'inflammasoma NLRP3 e dall'inflammasoma NLRP1<sup>163</sup>. Gli studi hanno dimostrato che l'inflammasoma NLRP3 svolge un ruolo importante nell'insorgenza e nello sviluppo della depressione<sup>164</sup>, mentre l'inflammasoma NLRP1 svolge un ruolo importante nel danno neuronale, nel disturbo della coscienza<sup>165</sup> e nel deterioramento cognitivo, una caratteristica importante della depressione.

Ricerche precedenti hanno dimostrato che la risposta infiammatoria guidata dall'inflammasoma NLRP1 nell'ippocampo dei topi svolge un ruolo importante nei comportamenti depressivi indotti dallo stress cronico<sup>166, 167</sup>. L'iperoside è in grado di ridurre significativamente i livelli di citochine infiammatorie, come IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-18 e TNF- $\alpha$ , nell'ippocampo di topi sottoposti a stress cronico. L'iperoside può, quindi, ridurre efficacemente l'espressione dell'inflammasoma NLRP1 e la sua risposta infiammatoria mediata, migliorando così il comportamento depressivo nei topi<sup>168</sup>.

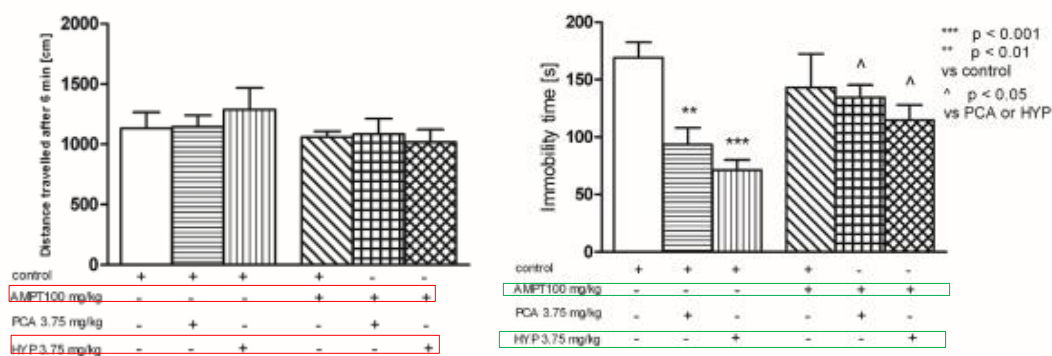
Nello studio di Orzelska-Górka *et al.*<sup>169</sup> (2019), è stato dimostrato l'effetto antidepressivo dell'iperoside ottenuto dalle parti aeree di *Impatiens glandulifera* che sono state essiccate all'aria, polverizzate ed estratte con etanolo al 50% e poi sonicate con una miscela di etanolo, acetone e acqua in rapporto 3:1:1 a temperatura controllata ( $40 \pm 2$  °C) per 30 minuti. L'esperimento è stato condotto su 8 topi albini maschi, a temperatura ambiente, con libero accesso a cibo e acqua; le manipolazioni sono state condotte in fase di luce, tra le ore 9:00 e le ore 17:00.

Per indagare il potenziale effetto antidepressivo dell'iperoside, sono stati impiegati il FST (*Forced Swimming Test*) e il TST (*Tail Suspension Test*), strumenti in grado di valutare i meccanismi neurobiologici coinvolti nella risposta antidepressiva. In questi test, i topi sono sottoposti a una situazione ineluttabile che provoca lo sviluppo di una postura immobile; le sostanze con azione antidepressiva promuovono l'insorgenza di comportamenti legati alla fuga, riducendo durata del tempo di immobilità. Nel FST, i topi sono posti individualmente per 6 minuti in un cilindro di vetro contenente 10 cm di acqua mantenuta a 23-25 °C: un topo è considerato immobile quando galleggia sull'acqua, facendo solo piccoli movimenti per tenere la testa sopra di sé. Nel TST, invece, i topi sono sospesi individualmente a 50 cm dal pavimento con nastro adesivo posto a circa 1 cm dalla punta della coda per 6 minuti: un topo è considerato immobile quando pende passivamente.

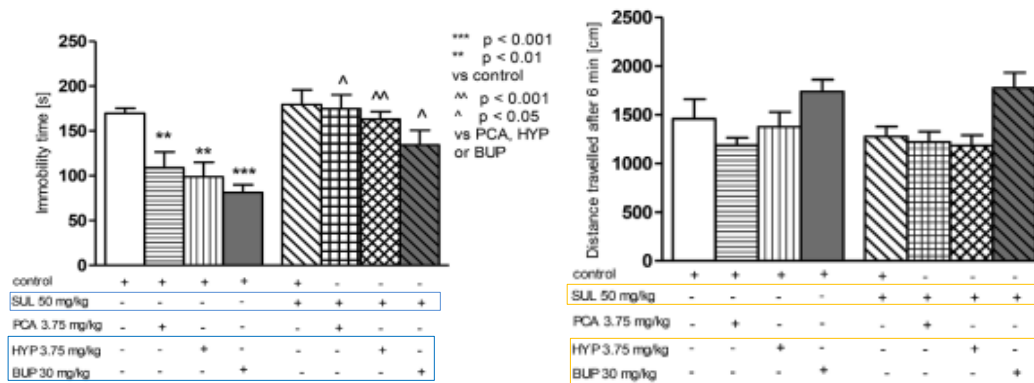
Per verificare il coinvolgimento del sistema serotoninergico nell'effetto antidepressivo dell'iperoside, gli animali sono stati pretrattati con 100 mg/kg di *p*-clorofenilalanina (PCPA), un inibitore della triptofano-idrossilasi, enzima coinvolto nella sintesi della serotonina, una volta al giorno, per quattro giorni consecutivi.

Dopo 24 ore dall'ultima iniezione di PCPA, sono stati trattati con 3,75 mg/kg di iperoside e 15 mg/kg di fluoxetina (come controllo positivo): il PCPA è stato in grado di abolire l'effetto antidepressivo dell'iperoside e della fluoxetina, suggerendo che l'azione anti-immobilità dipenda dalla biodisponibilità di 5-idrossitriptofano nella fessura sinaptica.

Gli antidepressivi che agiscono selettivamente su una sola monoammina alleviano i sintomi della depressione in una percentuale limitata di pazienti e sono scarsamente efficaci nel prevenire le recidive. Pertanto, nelle fasi successive della ricerca, è stato esplorato l'effetto dell' $\alpha$ -metil-*p*-tirosina (AMPT), un inibitore selettivo della tirosina idrossilasi, enzima critico per la sintesi di noradrenalina e adrenalina, sull'attività antidepressiva dell'iperoside. Il pretrattamento con AMPT ha causato una significativa inibizione dell'effetto antidepressivo quando co-somministrato con 3,75 mg/kg di iperoside.



Per determinare, invece, il coinvolgimento del sistema dopaminergico, gli animali sono stati trattati con sulpiride (SUL), un antagonista del recettore D2 della dopamina, 30 minuti prima della somministrazione di 3,75 mg/kg di iperoside e 30 mg/kg di bupropione (come controllo positivo); dopo 60 minuti, è stato effettuato il FST: il pretrattamento con sulpiride ha impedito significativamente le azioni anti-immobilità indotte dal bupropione e dall'iperoside.



La depressione può essere associata anche a una riduzione dei livelli di BDNF. Il BDNF è un fattore neurotrofico endogeno che modula la plasticità neuronale e inibisce le cascate di morte cellulare: l'infusione locale di BDNF nella corteccia cerebrale o nel mesencefalo eleva i livelli di 5-idrossitriptofano <sup>170</sup> e protegge i neuroni serotoninergici dai danni indotti dalle neurotossine <sup>171</sup>. Nello studio in esame, l'esposizione al TST provoca una riduzione dei livelli di BDNF, che, invece, aumentano con la somministrazione di iperoside (3,75 e 7,5 mg/kg).

#### 5.5.1.2 Attività farmacologica dell'iperforina

L'iperforina è un derivato biciclico poliprenilato dell'acilfloroglucinolo dotato di alcune somiglianze strutturali e funzionali con altri antidepressivi noti. Nei sistemi di espressione eterologa e nelle cellule non neuronali, è stato proposto che l'iperforina agisca come protonoforescente nelle membrane cellulari esterne e interne, impedendo, così, l'assorbimento e l'immagazzinamento vescicolare di vari neurotrasmettitori, comprese le monoamine <sup>172</sup>. È stato dimostrato che l'iperforina attiva il canale TRPC6 (*Transient Receptor Potential Channel*) <sup>173</sup>, appartenente alla superfamiglia TRP. È stato dimostrato che un deficit genetico di TRPC6 induce comportamenti depressivi e ansiosi, in quanto si traduce in una ridotta eccitabilità dell'ippocampo, una struttura chiave nella regolazione emotiva.

Nello studio di El Hamdaoui *et al.* (2022) <sup>174</sup>, è stato caratterizzato il ruolo del canale TRPC6 negli effetti antidepressivi dell'iperforina. Sono stati eseguiti test comportamentali su topi maschi TRPC6 KO e *wild-type* da sperimentatori ciechi all'ipotesi e al genotipo. Gli esperimenti sono stati effettuati tra le ore 9 e le ore 16 in condizioni standard di temperatura e umidità e l'assegnazione del trattamento è stata casuale.

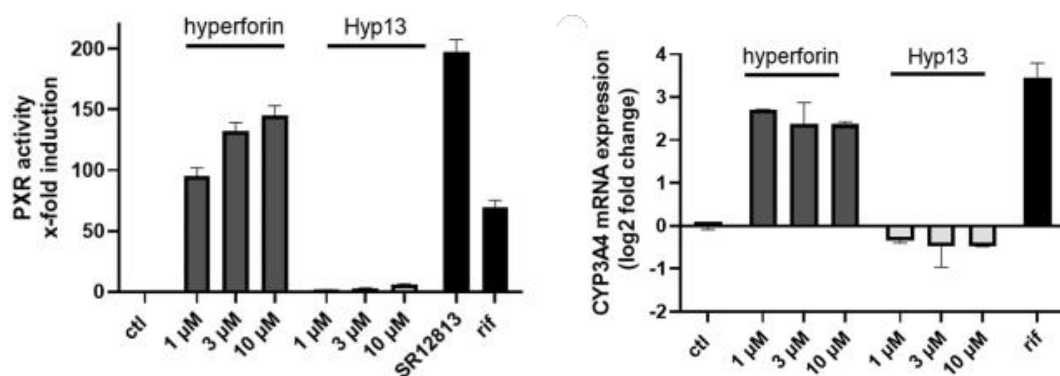


I test sono stati eseguiti in giorni separati intervallati da tre giorni di riposo. L'apparecchiatura è stata pulita con etanolo al 50% tra un soggetto e l'altro per evitare qualsiasi segnale olfattivo che influenzi i comportamenti.

I test comportamentali eseguiti comprendono:

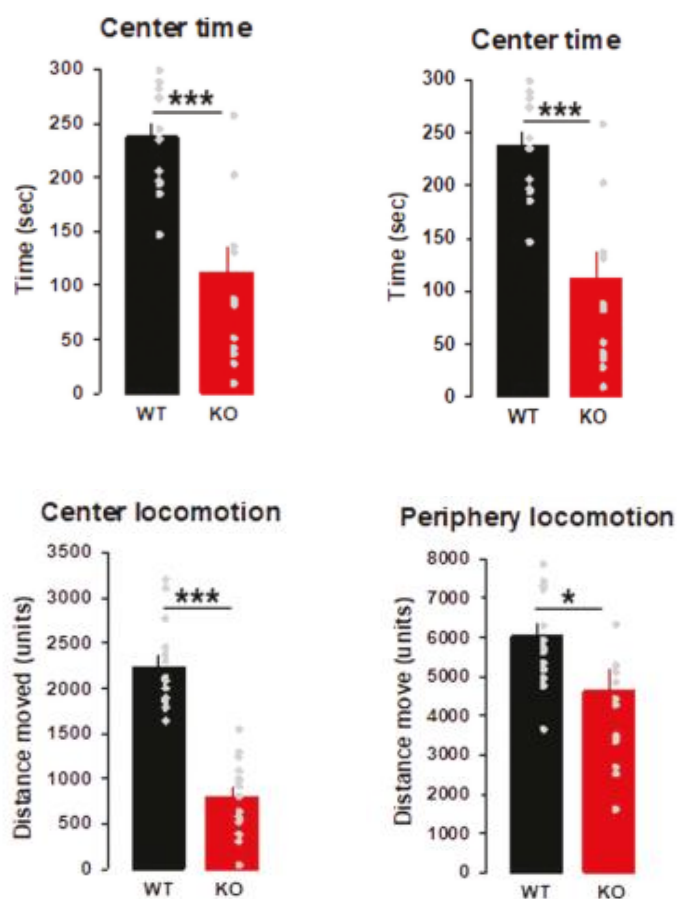
- campo aperto, in cui ogni topo è stato posizionato in un'arena quadrata, al cui interno è stato definito un quadrato virtuale; sono stati registrati la distanza percorsa nelle zone esterne e centrali, il numero di ingressi e il tempo trascorso nella zona centrale;
- labirinto sopraelevato;
- prova di nuoto forzato;
- test di preferenza per il saccarosio, in cui ogni topo ha avuto accesso a due bottiglie con acqua 7 giorni prima del test; durante l'ottavo giorno, l'acqua in una bottiglia è stata sostituita da una soluzione di saccarosio al 2% e la posizione delle bottiglie è stata cambiata ogni giorno durante i successivi 5 giorni.

L'iperforina non è stabile se esposta alla luce e all'ossigeno e induce interazioni farmaco-farmaco a causa della potente attivazione del recettore nucleare PXR, un regolatore trascrizionale chiave dei geni coinvolti nel metabolismo e nel trasporto dei farmaci <sup>175</sup>, generalmente attivato da PXR-agonisti come la rifampicina. Inoltre, analizzando l'espressione dell'mRNA di CYP3A4, è stata rivelata una forte attivazione dell'enzima da parte dell'iperforina, paragonabile alla rifampicina. Queste caratteristiche ne limitano l'applicazione clinica. È stato, quindi, sintetizzato un analogo dell'iperforina Hyp13, un floroglucinololo chimicamente semplificato, con effetti antidepressivi TRPC6-dipendenti: non è stata osservata quasi alcuna attivazione del recettore PXR e dell'enzima CYP3A4 dopo il trattamento con Hyp13 (Fig. 7A, Fig. 4 supplementare). Hyp13 è stato disciolto in una soluzione salina e iniettato per via endovenosa 20 minuti prima di ogni test comportamentale.

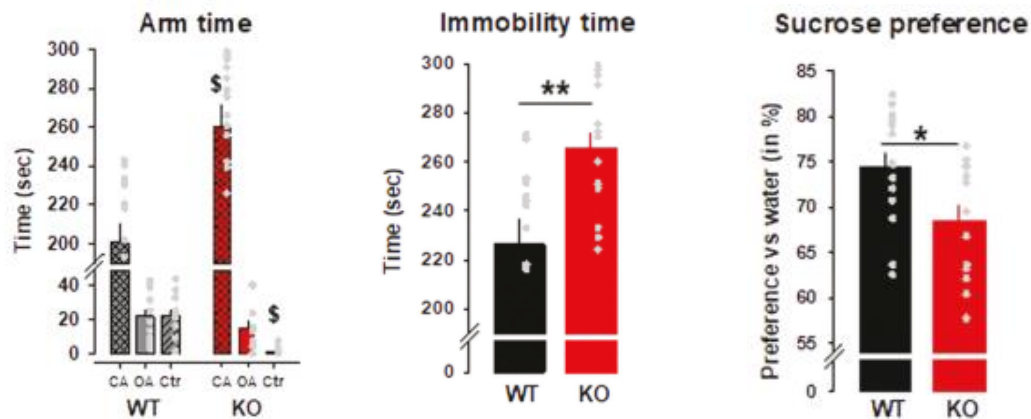


#### 5.5.1.2.1 Risultati dello studio di El Hamdaoui *et al.*

Nel test in campo aperto, i topi TRPC6 KO mostrano una significativa riduzione del tempo di centraggio (1), del numero di ingressi al centro (2), della locomozione centrale (3) e del tempo di locomozione periferica (4) rispetto ai topi *wild-type*.



Nel test del labirinto elevato, i topi TRPC6 KO trascorrono significativamente più tempo nel braccio chiuso rispetto ai topi *wild-type* (5). Nel test di nuoto forzato, i topi TRPC6 KO sono caratterizzati da un tempo di immobilità significativamente aumentato (6). Nel test di preferenza per il saccarosio, che riflette l'anedonia, i topi TRPC6 KO mostrano una ridotta preferenza per il saccarosio rispetto al tempo dei topi *wild-type* (7).



### 5.5.2 *Hypericum triquetrifolium* Turra e stress psicosociale cronico

Lo stress cronico influenza la funzione dell'ippocampo, condizionando, così, l'apprendimento spaziale e la memoria <sup>176</sup>. La struttura dell'ippocampo è particolarmente sensibile allo stress a causa della sua alta densità di recettori glucocorticoidi <sup>177</sup>. In situazioni di stress prolungato, l'ippocampo subisce un danno ossidativo che induce variazioni della neurogenesi <sup>178</sup> e atrofia neuronale <sup>179, 180</sup>, con conseguente riduzione del numero totale di neuroni e delle loro ramificazioni <sup>181, 182</sup>.

Lo stress ha anche un ruolo cruciale nell'eziologia dell'ansia e dei disturbi dell'umore, come la depressione <sup>183, 184</sup>. La depressione riduce il volume dell'ippocampo <sup>185</sup> e provoca deficit nella memoria dichiarativa <sup>186</sup>. A livello molecolare, la depressione e lo stress cronico sono associati a un declino dell'espressione del fattore BDNF <sup>187</sup>, coinvolto nella plasticità sinaptica e nella sopravvivenza neuronale <sup>188</sup> e, quindi, nella memoria.

La somministrazione a lungo termine di *Hypericum perforatum* provoca diversi effetti collaterali come ansia, irrequietezza, insonnia, disturbi gastrointestinali <sup>189, 190, 191</sup>, compromette la memoria a breve e lungo termine e riduce i livelli di BDNF nell'ippocampo <sup>192</sup>. Pertanto, un'alternativa più sicura è rappresentata dall'*Hypericum triquetrifolium*, un'erba medicinale che cresce spontaneamente in Giordania, anch'essa appartenente alla famiglia delle *Hypericaceae*.

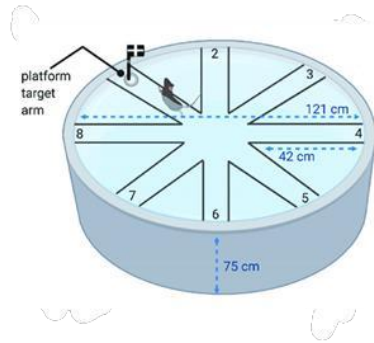
La somministrazione cronica di estratto di *Hypericum triquetrifolium* impedisce la riduzione dei livelli di BDNF nei ratti cronicamente stressati, migliora lo stato di stress ossidativo innescato dall'esposizione prolungata agli ormoni glucocorticoidi e ha una presunta attività antidepressiva, poiché condivide molti componenti biologicamente attivi con l'*Hypericum perforatum*<sup>193</sup>. L'attività antiossidante dipende dalla rutina e dall'ipericina. La rutina aumenta significativamente l'attività degli enzimi antiossidanti, come la superossido dismutasi e la catalasi, e i livelli di glutatione<sup>194</sup>. Oltre alle potenti proprietà antiossidanti, l'iperforina antagonizza i recettori prevenendo la *downregulation* di BDNF.

Nello studio di Alzoubi *et al.*<sup>195</sup> (2020), è stata esaminata l'influenza dello stress cronico sull'apprendimento spaziale e sulla memoria ed è stato indagato se gli effetti potessero essere prevenuti dalla somministrazione cronica di un estratto metanolico di *Hypericum triquetrifolium* Turra.

Sono stati impiegati ratti Wistar maschi adulti. Gli animali sono stati randomizzati in quattro gruppi, di cui uno trattato con un veicolo di controllo, uno con estratto di *Hypericum triquetrifolium* (50 mg/kg/die), uno sottoposto a stress cronico e uno sottoposto a stress cronico e trattato con *Hypericum triquetrifolium* (50 mg/kg/die). Il gruppo di controllo e il gruppo sottoposto solo a stress cronico hanno ricevuto volumi equivalenti del veicolo (0,3% DMSO e 0,1 M NaOH in rapporto 1:1) privo di estratto vegetale. Tutti i protocolli sperimentali sono stati condotti durante il periodo buio in una stanza poco illuminata.

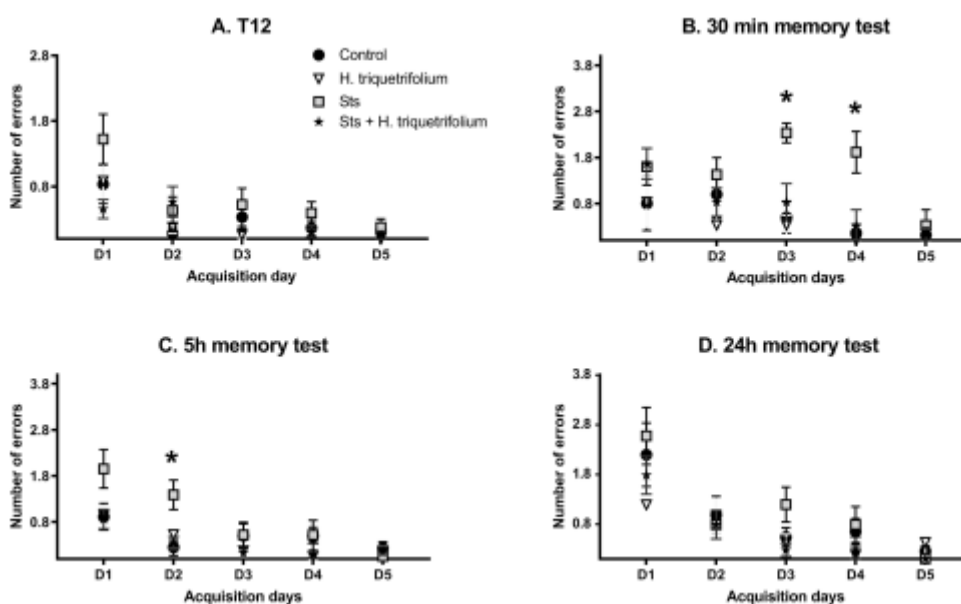
Lo stress cronico è stato ottenuto utilizzando il modello dell'intruso: il gruppo sottoposto a stress cronico e il gruppo sottoposto a stress cronico e trattato con *Hypericum triquetrifolium* sono stati posti in due gabbie per due settimane per indurre una gerarchia sociale; lo stress è stato, poi, indotto dallo scambio di due ratti (scelti in modo pseudo-casuale) ogni giorno tra le gabbie per un periodo di 9 settimane, costringendo gli animali ad adattarsi continuamente a nuove situazioni stressanti (lo scambio quotidiano sconvolge la gerarchia sociale). Lo stress cronico è rilevato tramite la misurazione dei livelli sierici di corticosterone e della pressione sanguigna.

Dopo 9 settimane di trattamento, sono state testate le prestazioni di apprendimento e memoria tramite il *Radial Arm Water Maze* (RAWM). Il RAWM consiste in un serbatoio d'acqua circolare dotato di sei piastre a forma di V disposte a formare un campo di nuoto con un'area centrale aperta e sei bracci riempiti d'acqua. Sotto la superficie dell'acqua, all'estremità di uno dei bracci, è presente una piattaforma di fuga trasparente. I topi sono collocati nello scomparto centrale e autorizzati a esplorare i bracci alla ricerca della piattaforma di fuga. Gli animali devono ricordare quali bracci sono stati visitati per assicurarsi di non entrare ripetutamente in zone prive di fuga. Il RAWM prevede una fase di apprendimento e tre test di memoria. La posizione della piattaforma di fuga è spostata ogni giorno in diversi bracci per determinare la strategia di risoluzione dei problemi degli animali e la flessibilità cognitiva.

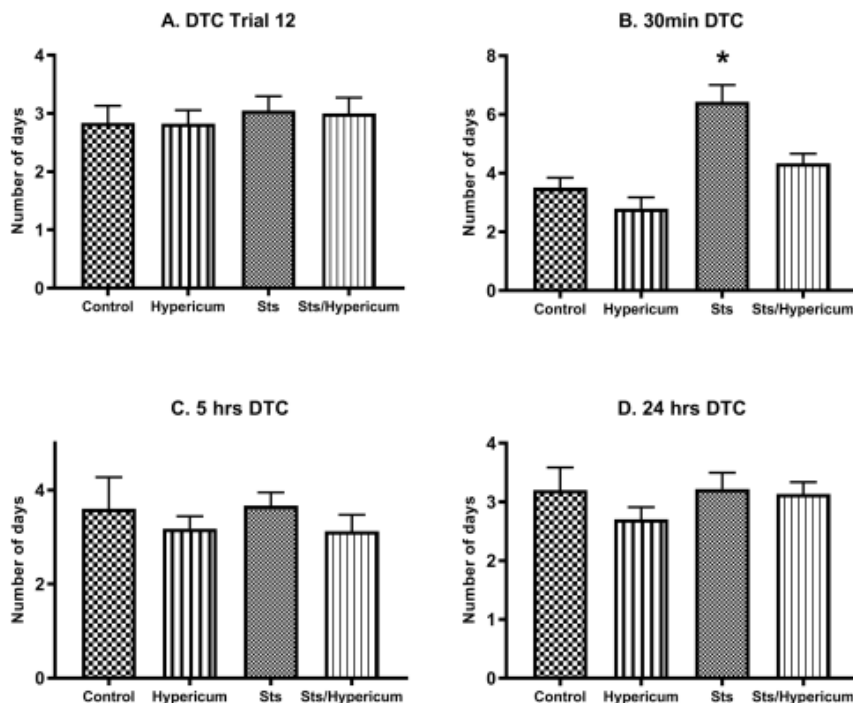


#### 5.5.2.1 Risultati dello studio di Alzoubi *et al.*

Gli animali sono stati addestrati su un nuovo obiettivo ogni giorno; quindi, tutti hanno iniziato ogni giornata con un alto numero di errori. Il numero di errori è diminuito con l'aumentare del numero di prove di addestramento, indicando che gli animali stavano imparando il compito in modo efficace, ricordando la posizione della piattaforma. Lo stress cronico, però, ha compromesso il processo di apprendimento; questo effetto è stato prevenuto dalla somministrazione cronica di *Hypericum triquetrifolium*.

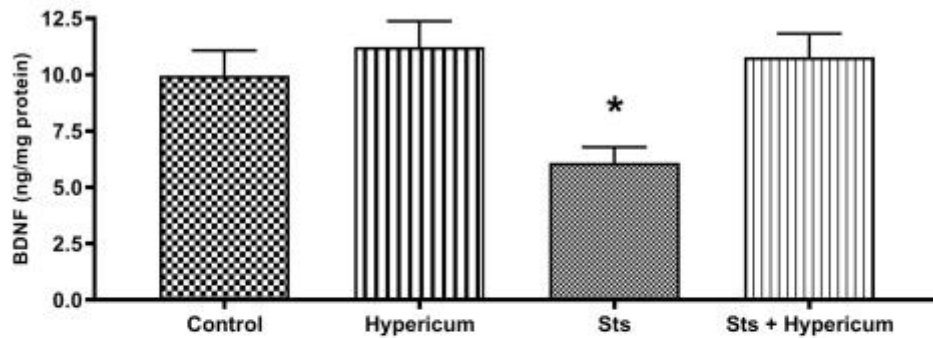


L'ultima prova di acquisizione (**T12**) rappresenta la fase di apprendimento ed è seguita dal test di memoria di 30 minuti (**B**), 5 ore (**C**) e 24 ore (**D**). Il gruppo sottoposto a stress cronico ha mostrato un significativo deficit di prestazioni (più errori) nei test di memoria a breve termine (30 minuti) e di 5 ore, poiché basato sull'ippocampo. Tuttavia, la memoria a lungo termine (24 ore), al di fuori del dominio basato sull'ippocampo, sembra essere preservata, con le prestazioni del gruppo cronicamente stressato paragonabili a quelle del gruppo di controllo. Nel test di memoria delle 24 ore, si è verificato probabilmente un miglioramento notturno della memoria spaziale mediata dall'ippocampo e il processo di consolidamento della memoria a lungo termine indipendente dall'ippocampo è rimasto intatto nonostante l'aumento cronico degli ormoni dello stress.

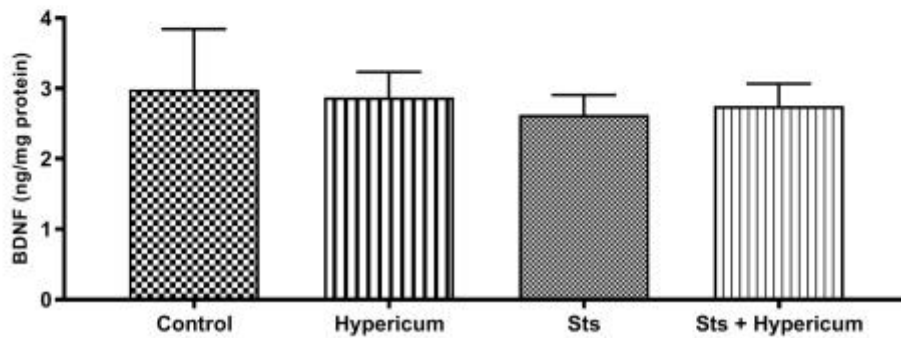


I livelli di BDNF nell'ippocampo sono ridotti dallo stress cronico solo nell'ippocampo, ma non nelle altre strutture cerebrali esaminate. La somministrazione cronica dell'estratto di *Hypericum triquetrifolium* ha impedito la riduzione dei livelli di BDNF nei ratti cronicamente stressati.

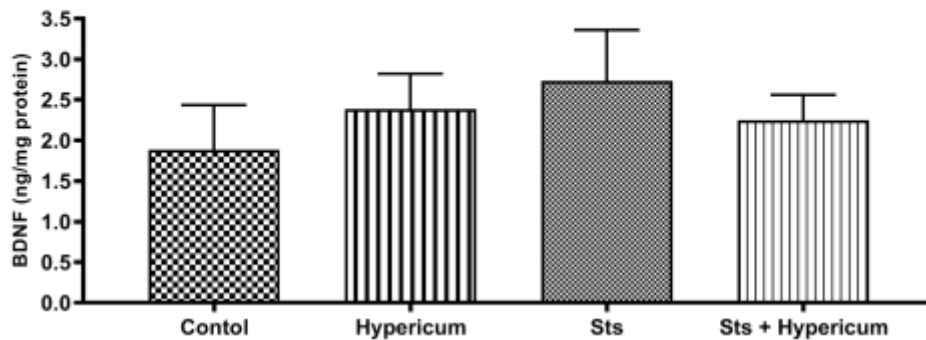
A. Levels of BDNF in the hippocampus



B. Levels of BDNF in the cerebellum



C. Levels of BDNF in the cortex



Oltre a un meccanismo mediato dalla proteina BDNF, lo stress ossidativo innescato dall'esposizione prolungata agli ormoni dello stress può essere migliorato, inoltre, dalla presunta attività antidepressiva dell'estratto di *Hypericum triquetrifolium*, poiché condivide molti componenti biologicamente attivi con *Hypericum perforatum*.

A livello molecolare, la disregolazione del recettore NMDA e la sottoregolazione del BDNF nello stress cronico sono i principali fattori che contribuiscono all'eziologia della depressione. La sensibilizzazione del recettore NMDA è fondamentale nella fase iniziale dell'acquisizione spaziale. L'iperforina è un antagonista del recettore NMDA ed è quindi potenzialmente neuroprotettiva.

### 5.5.3 Co-somministrazione di iperico e altri farmaci

L'iperico ha un importante effetto induttivo sulla glicoproteina P e sugli enzimi del citocromo P450 epatico, tra cui CYP3A4, CYP2C19, CYP2C9, CYP1A2 e CYP2D6 <sup>196</sup>. L'induzione di questi enzimi può ridurre la concentrazione di farmaci che sono metabolizzati dagli stessi o aumentare l'effetto di farmaci, come il clopidogrel, che sono, invece, convertiti in forma attiva da questi enzimi <sup>197</sup>. I farmaci che sono influenzati dall'induzione del CYP450 includono bupropione, contraccettivi orali, docetaxel, rifampicina, rivaroxaban, ossicodone, s-ketamina orale, ciclosporina, tacrolimus, atorvastatina, irinotecan, zolpidem, metformina e simvastatina <sup>198-199</sup>:

- l'effetto dell'iperico sugli enzimi responsabili del metabolismo dell'irinotecan può continuare per diverse settimane dopo l'interruzione; pertanto, il paziente può iniziare il trattamento con irinotecan dopo almeno due settimane dall'interruzione dell'assunzione di iperico;
- l'iperico può ridurre le concentrazioni plasmatiche e, quindi, l'efficacia di farmaci antivirali, come ritonavir e saquinavir, inibitori delle proteasi virali metabolizzati dai citocromi epatici <sup>200, 201</sup>;
- l'iperico può ridurre le concentrazioni plasmatiche e, quindi, l'efficacia di farmaci antineoplastici, come docetaxel e imatinib, i quali sono metabolizzati da CYP3A <sup>202</sup>, e di farmaci immunosoppressori, utilizzati dopo trapianto, come ciclosporina e tacrolimus <sup>203</sup>;
- l'iperico può ridurre la concentrazione terapeutica di warfarin, aumentandone la clearance, con conseguente rischio di coaguli <sup>204</sup>; mentre, per quanto riguarda la digossina, solo gli estratti contenenti alte dosi di iperforina potrebbero avere un effetto significativo sulla concentrazione <sup>205</sup>;



- l'iperico può ridurre l'emivita del noretindrone e dell'etinilestradiolo, inducendo il CYP3A e il loro metabolismo; potrebbe, inoltre, aumentare la possibilità di ovulazione e sanguinamento.

L'effetto avverso più noto è un aumento fatale della serotonina, con conseguente sindrome serotoninergica, se assunto in concomitanza con alcuni antidepressivi e inibitori delle MAO <sup>206-207</sup>. La sindrome serotoninergica è caratterizzata da tachicardia, ipertensione, midriasi e diaforesi. Sono stati documentati anche effetti avversi come reazioni allergiche, fotosensibilità, nausea, mal di testa, diarrea, irritazione cutanea e peggioramento dei sintomi psicotici nei pazienti con schizofrenia o disturbo bipolare.

### 5.6 Zafferano

Il *Crocus sativus* è una pianta medicinale, originariamente coltivata in Oriente e Medio Oriente, e successivamente in alcuni Paesi mediterranei, i cui stimmi forniscono lo zafferano, chiamato anche “oro rosso”. La storia dello zafferano risale a circa 4000 anni fa; si ritrova, infatti, nelle culture greco-romana, egizia



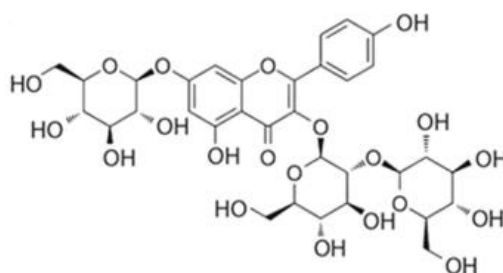
e persiana. Dalla Persia, lo zafferano si è diffuso in India e in Cina e solo all'inizio del Medioevo, intorno al IX secolo, con le conquiste arabo-musulmane, raggiunse anche il Nord Africa. Con l'invasione dell'Europa da parte dei Mori, la coltivazione dello zafferano si diffuse in Europa e, più in particolare, in Spagna. Attualmente, i principali produttori mondiali di zafferano sono l'Iran, la Grecia, il Marocco, la Spagna e l'India <sup>208-209</sup>.

Lo zafferano è caratterizzato dalla presenza di oltre 150 elementi volatili e non volatili, tra cui carotenoidi, polifenoli, flavonoidi e terpeni le cui proporzioni possono variare a seconda del paese di origine <sup>210-211</sup>. I principali composti biologicamente attivi dello zafferano sono la crocina e la crocetina (carotenoidi derivanti dalla zeaxantina) <sup>212 213</sup>, responsabili del colore giallo <sup>214, 215</sup>, la picrocrocina, un apocarotenoide responsabile del sapore <sup>216</sup>, e il safranale (terpene con funzione aldeidica) <sup>Error! Bookmark not defined., 217</sup>, che fornisce l'odore specifico dello zafferano.

L'effetto sinergico di tutti i componenti bioattivi presenti nello zafferano mostra una significativa attività antiossidante:

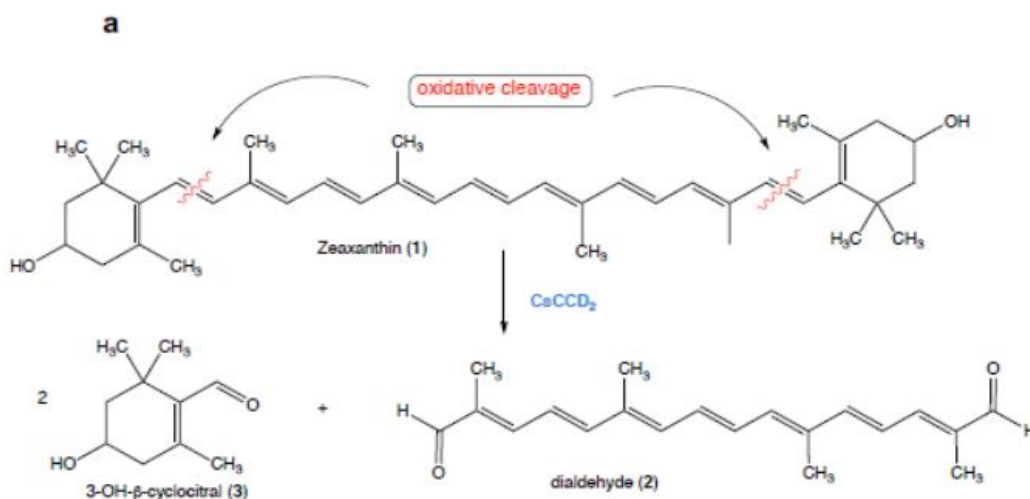
- i carotenoidi neutralizzano gli anioni superossido <sup>218</sup>;
- i polifenoli reagiscono con i radicali ossidrilici <sup>219</sup>;
- i flavonoidi inattivano i radicali superossido, perossile, alcossilico e ossidrilico, mediante donazione di atomi di idrogeno <sup>220</sup>, e, grazie alla capacità di chelare ioni metallici, come ferro e rame, inibiscono la generazione di radicali liberi <sup>221</sup>.

Secondo Hosseinzadeh *et al.* <sup>222</sup>, il flavonolo kaempferolo è responsabile dell'effetto antidepressivo dei petali di *Crocus sativus*. Il kaempferolo 3-O-β-sofoside-7-O-β-glucoside è il flavonolo più importante dello zafferano.

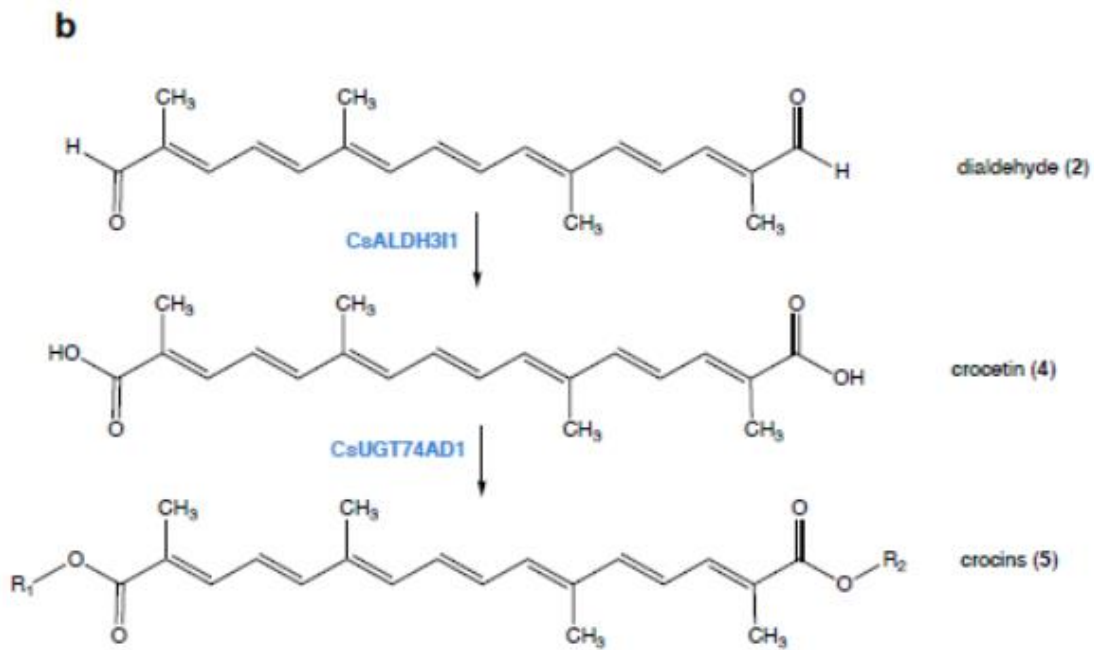


#### 5.6.1 Biosintesi dei principali composti attivi <sup>223</sup>

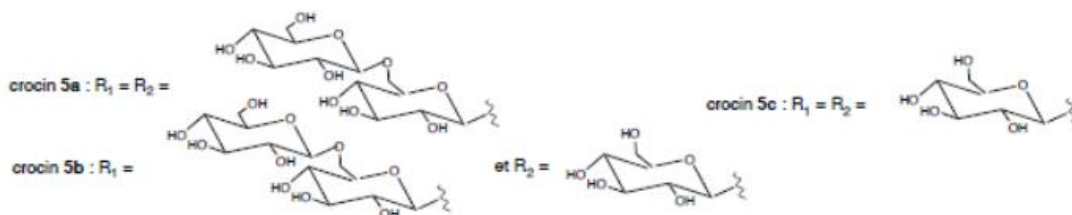
La zeaxantina (1), che rappresenta il composto di partenza, subisce una scissione ossidativa, provocando la formazione di un derivato carotenoidico, dialdeide (2), e di due frammenti apocarotenoidi, 3-OH-β-ciclocitrale (3).



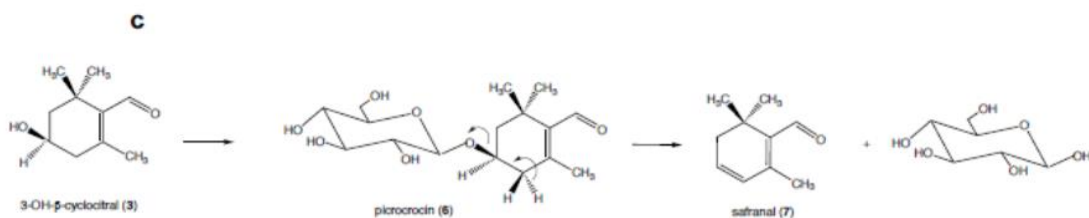
La dialdeide subisce una trasformazione ossidativa in un diacido denominato crocetina (4), che, a sua volta, va incontro a una diesterificazione con formazione della crocina (5).



Esistono diverse molecole di crocina in base alla struttura dei sostituenti R1 e R2.

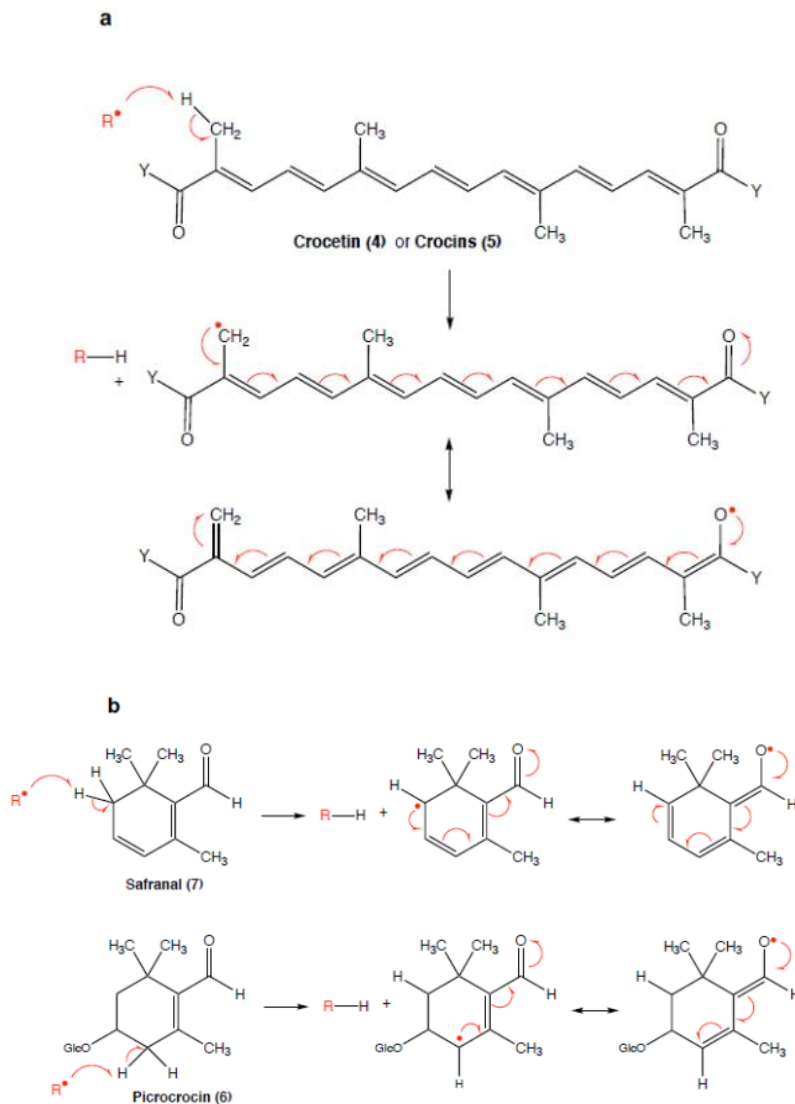


La funzione alcolica dei frammenti apocarotenoidi (3) è trasformata in etere glicosilico con conseguente formazione di picrocrocina (6). Il safranale (7) si ottiene dalla picrocrocina per perdita di una molecola di glucosio. La deglicosilazione della picrocrocina si verifica principalmente durante la conservazione e l'essiccazione all'aria degli stimmi freschi.



Le crocine e la picrocrocina sono portatrici di porzioni zuccherine sotto forma di funzioni estere ed etere, rispettivamente. La presenza di zuccheri in queste strutture chimiche aumenta la loro solubilità in acqua e facilita l'attraversamento della membrana cellulare. Il safranale, invece, fornisce una struttura terpenica monociclica con una funzione aldeidica.

Le crocine, la crocetina e il safranale possono facilmente cedere un protone a un radicale libero, formando un nuovo radicale che viene stabilizzato dalla delocalizzazione del singolo elettrone sulla catena carotenoide o sulla struttura terpenica.



### 5.6.2 Proprietà delle crocine

Le crocine sono potenti composti antinfiammatori <sup>224</sup>. La  $\alpha$ -crocina inibisce la cicloossigenasi-1 e la cicloossigenasi-2 e blocca la produzione di prostaglandine-2, inibendo la traslocazione nucleare delle subunità p50 e p65 di NF- $\kappa$ B <sup>225</sup>. Le crocine, inoltre, diminuiscono l'espressione dell'acido nitrico sintasi inducibile (iNOS) <sup>226</sup>.

La crocetina e le crocine sono anche note per le loro forti attività antiossidanti <sup>227</sup>. Impediscono la generazione di radicali liberi, riducono la perossidazione lipidica e aumentano i livelli di glutatione ridotto e di enzimi antiossidanti <sup>228</sup>.

Le crocine manifestano, inoltre, un effetto antidepressivo tramite un aumento dei livelli di mTOR e del fattore BDNF <sup>229</sup>. Gli studi hanno scoperto che il livello di espressione del BDNF e l'attivazione della via di segnalazione mTOR sono essenziali per gli antidepressivi ad azione rapida per promuovere la crescita dendritica e aumentare il contenuto di proteine sinaptiche <sup>230</sup>.

mTOR regola la sintesi proteica e stimola la rigenerazione dei neuroni del sistema nervoso centrale e degli assi nervosi periferici <sup>231, 232</sup> ed è spesso considerato un bersaglio essenziale degli antidepressivi rapidi. Il BDNF promuove la sopravvivenza e la differenziazione dei neuroni 5-HT e svolge un ruolo cruciale nella funzione e nella plasticità sinaptica dei neuroni cerebrali adulti <sup>233, 234</sup>. È inoltre comunemente usato per regolare le emozioni, come la depressione e l'ansia. Sempre più studi sono stati impiegati per rivelare che il trattamento con antidepressivi può aumentare il livello di espressione di BDNF nel tessuto cerebrale e ridurre la risposta allo stress <sup>235, 236</sup>.

È stato riscontrato che il livello di espressione di BDNF nei topi stressati e nelle cellule ferite era significativamente ridotto, ma notevolmente aumentato dopo la somministrazione di crocina <sup>237</sup>.

### 5.6.3 Proprietà della picrocrocina e del safranale

La picrocrocina e le crocine contengono frammenti zuccherini che migliorano la solubilità in acqua e, quindi, l'attraversamento della membrana cellulare. Tuttavia, la scissione delle funzioni estere (nelle crocine) è più facile della scissione delle funzioni eteree (nella picrocrocina).

Pertanto, la liberazione di crocetina spiega il fatto che le proprietà antiossidanti dello zafferano sono dovute principalmente alle crocine e non alla picrocrocina <sup>238, 239</sup>.

Alcuni studi evidenziano le attività antiossidanti del safranale e altri il contrario. Nel caso del diabete di tipo 2 e della nefropatia diabetica, è stato riscontrato che il safranale esercita effetti antiossidanti e antinfiammatori nel tessuto renale. In un esperimento sul diabete di tipo 2 nei ratti indotto dalla streptozotocina, il trattamento con safranale ha ridotto il livello di ossido nitrico e i livelli di TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  <sup>240</sup>. Inoltre, uno studio sui deficit cognitivi dopo un'iniezione intra-ippocampale di beta-amiloide nei ratti ha evidenziato la diminuzione dei livelli di marcatori infiammatori, come TNF- $\alpha$  e NF- $\kappa$ B, dopo il trattamento con safranale <sup>241</sup>. Il trattamento con safranale ha ridotto l'apoptosi cellulare indotta dalla beta-amiloide attraverso le vie P13K/AKT e MAPK/ERK <sup>242</sup>. Tramite i suoi effetti antiinfiammatori e antiapoptotici, il safranale esercita una significativa neuroprotezione.

#### 5.6.4 Attività dello zafferano sui disturbi neuropsichiatrici

Lo zafferano è stato ampiamente studiato per i suoi effetti antidepressivi. I risultati dello studio di Shahmansouri *et al.* <sup>243</sup> hanno dimostrato che il consumo a breve termine di zafferano potrebbe essere efficace quanto la fluoxetina nel migliorare i sintomi della depressione. Uno studio sul confronto degli effetti dello zafferano e dell'imipramina nel trattamento della depressione da lieve a moderata ha mostrato che una dose di 10 mg di zafferano ha lo stesso effetto dell'imipramina <sup>244</sup>. Inoltre, in uno studio condotto da Kashani *et al.* <sup>245</sup> in Iran su 60 donne in post-menopausa, è stato riscontrato che lo zafferano è un trattamento sicuro ed efficace per migliorare le vampate di calore e i sintomi depressivi.

Lo zafferano è utilizzato anche per migliorare il sonno. Aumenta il tempo a letto, facilita l'addormentamento e migliora la qualità e la durata del sonno. I meccanismi d'azione dell'estratto di zafferano sulla qualità e sulla durata del sonno non sono del tutto noti. È stato scoperto che il safranale attiva i neuroni che promuovono il sonno dal nucleo preottico ventrolaterale (VLPO) e inibisce i neuroni che promuovono la veglia dai nuclei tuberomammillari (TMN) in vitro <sup>246</sup>. Nei topi, è stato suggerito che le crocine modulano il sistema di eccitazione istaminergica o colinergica per indurre il sonno non-REM <sup>247</sup>.

Inoltre, l'estratto di zafferano e i suoi composti attivi sono noti per modulare i livelli di neurotrasmettitori come serotonina, dopamina, noradrenalina, glutammato e GABA-A <sup>248</sup>  
249 250 .

Alcuni studi hanno dimostrato che il safranale esercita effetti ansiolitici simili a quelli del diazepam, probabilmente attraverso l'interazione con il sito di legame delle benzodiazepine al recettore GABA-A <sup>251-252</sup>. Inoltre, le crocine alleviano il comportamento ossessivo-compulsivo attraverso un'azione antagonista nel sito del recettore 5-HT<sub>2C</sub>: le crocine sono antagonisti non selettivi del recettore della serotonina mCPP, noto per indurre un'eccessiva toelettatura nei ratti e, quindi, responsabile dei sintomi del disturbo ossessivo-compulsivo <sup>253</sup>.

Sono stati valutati gli effetti di un estratto di zafferano brevettato (Safr'Inside™) sulla risposta fisiologica e psicologica in adulti sani con umore basso e sottoposti a un fattore di stress psicosociale. I risultati hanno rivelato diversi effetti benefici dello zafferano sull'umore e sulla qualità della vita, accompagnati da un miglioramento delle relazioni sociali <sup>254</sup>.

È interessante notare che la variazione della RMSSD, una misura dell'HRV che riflette l'integrità del controllo autonomo mediato dal nervo vago sul cuore allo stress, è l'unico parametro ad essere modulato dallo zafferano e forse suggerisce una specificità d'azione sul sistema nervoso parasimpatico. È possibile che l'effetto osservato, modulato in particolare dal safranale, sia sostenuto da un aumento dell'attività colinergica <sup>255</sup>.

Il safranale può modulare l'HRV anche attraverso la sua azione sui sistemi GABAergici <sup>256</sup>. In uno studio, il safranale somministrato per via periferica ha abolito gli effetti convulsivi del pentilene-tetrazolo probabilmente mediati attraverso il complesso del recettore GABA-A-benzodiazepina <sup>257</sup>.

#### 5.6.5 Potenziale utilizzo dello zafferano nel trattamento della fibromialgia

La fibromialgia è un disturbo cronico debilitante che colpisce l'1-10% della popolazione generale <sup>258</sup>, principalmente donne. È caratterizzata da dolore cronico diffuso, di solito accompagnato da altri sintomi, tra cui ansia, depressione, affaticamento, disturbi del sonno, disfunzione cognitiva e mal di testa <sup>259</sup>.

La depressione maggiore colpisce il 22-90% degli individui affetti da fibromialgia <sup>260,261</sup>. La diminuzione della capacità antiossidante e l'aumento dello stress ossidativo sono documentati sia nella fibromialgia che nella depressione maggiore <sup>262,263</sup>. Alla base delle due condizioni, si suppone vi siano le alterazioni del sistema serotoninergico: l'abbassamento dei livelli di serotonina e noradrenalina è implicato nella fisiopatologia del dolore cronico e dei sintomi mentali della fibromialgia <sup>264-265</sup>.

Nonostante i miglioramenti riscontrati in seguito al trattamento con farmaci approvati, come duloxetina e pregabalin, i sintomi tendono ad essere intrattabili nella maggior parte dei pazienti <sup>266,267</sup> e gli effetti benefici dei farmaci sul dolore superano solo in minima parte i loro effetti collaterali; perciò, i tassi di aderenza al trattamento sono bassi <sup>268</sup>. Pertanto, è in corso la ricerca di nuove terapie <sup>269,270</sup>; tra queste, la fitoterapia ha dato risultati promettenti <sup>271,272</sup>. Lo zafferano risulta benefico sui disturbi depressivi <sup>273-274,245</sup>, sull'ansia <sup>275,274</sup> e sul dolore cronico <sup>276-277</sup>. L'efficacia dello zafferano è paragonabile a quella del citalopram, della fluoxetina <sup>278-279</sup> e dell'imipramina <sup>244</sup>. Rispetto ai farmaci antidepressivi, è efficace non solo per la sua azione sui neurotrasmettitori, ma anche per la sua potente attività antiossidante e per gli effetti neuroprotettivi e antinfiammatori <sup>280</sup>.

È interessante notare che, sebbene la monoterapia farmacologica sia il metodo di trattamento preferito in molte condizioni cliniche, la fibromialgia, come disturbo multidimensionale con comorbidità altamente variabili, può richiedere una terapia di combinazione per ottenere un miglioramento dei sintomi. In questo modo, lo zafferano, come trattamento aggiuntivo ai farmaci attualmente approvati o agli interventi non farmacologici, sarebbe un argomento interessante per ulteriori indagini.

#### 5.6.6 Effetto dello zafferano sui livelli di omocisteina

Esiste un'interessante ipotesi che suggerisce la possibilità della presenza di una base genetica o metabolica alla base della depressione <sup>281</sup>. Uno di questi cambiamenti metabolici è associato al metabolismo dell'omocisteina. L'omocisteina è un amminoacido non essenziale prodotto in seguito al metabolismo della metionina <sup>282,283</sup>. Circa il 20-50% dei pazienti con depressione grave presenta livelli totali di omocisteina plasmatici aumentati <sup>284,285</sup>. Non è tuttavia chiaro se l'omocisteina sia direttamente coinvolta e agisca come causa primaria dei sintomi depressivi <sup>286</sup>.



Quantità eccessive di omocisteina danneggiano i neuroni, inducendo eccitotossicità e sviluppando stress ossidativo <sup>287, 288</sup>, con conseguenti disturbi psichiatrici, come depressione, morbo di Alzheimer, schizofrenia e morbo di Parkinson.

L'omocisteina esercita il suo effetto tramite il recettore NMDA del glutammato <sup>289, 290</sup>. Questo recettore è presente su molti tipi di cellule, tra cui i neuroni dell'ippocampo. La stimolazione del recettore NMDA porta ad un afflusso di calcio e all'aumento delle specie reattive dell'ossigeno <sup>291</sup>. Il calcio regola le sinapsi nervose e ha un ruolo chiave nella crescita cellulare, nell'apoptosi, nello sviluppo neuronale e nella regolazione di vari canali metabolici <sup>292</sup>. Una concentrazione anormale di calcio può portare a danni cellulari e apoptosi. Gli studi hanno riportato che lo zafferano e i suoi costituenti attivi possono mantenere l'omeostasi del calcio nei neuroni, ma il meccanismo d'azione specifico rimane da chiarire <sup>293, 294</sup>.

L'aumento della sintesi di omocisteina può ridurre l'espressione dei recettori NMDA; le alterazioni di questi recettori inducono depressione <sup>295</sup>.

Lo zafferano ha attività antagoniste sui recettori NMDA <sup>296, 297</sup>. Influisce sui livelli di noradrenalina, dopamina e serotonina diminuendo l'attività dell'acetilcolina esterasi e inibendo l'attività della monoamino ossidasi nel cervello <sup>298</sup>.

### 5.7 *Rhodiola rosea*

La *Rhodiola rosea* appartiene alla famiglia delle Crassulaceae. È una pianta erbacea perenne a fiore giallo che cresce naturalmente ad alta quota in terreni sabbiosi asciutti, sulle scogliere marine e nelle fessure delle rocce montuose delle regioni artiche dell'Europa e dell'Asia (principalmente Siberia), nonché nelle regioni costiere orientali del Nord

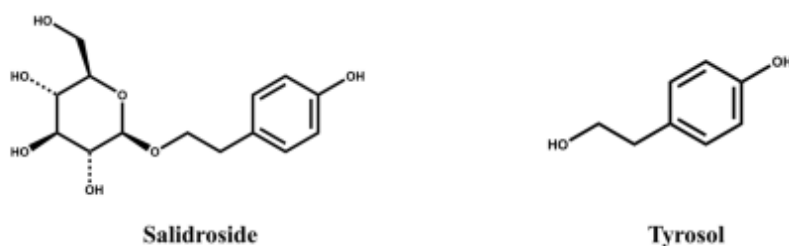


America <sup>299</sup>. La *Rhodiola rosea* è stata utilizzata per secoli per aumentare la resistenza fisica e la produttività lavorativa, per trattare l'affaticamento, la depressione, l'anemia, l'impotenza, per disturbi gastrointestinali, infezioni e disturbi del sistema nervoso <sup>300, 301 302, 303</sup>.

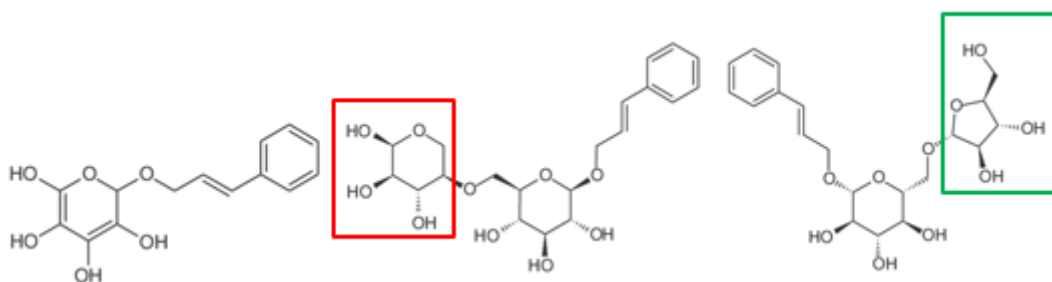
La ricerca scientifica moderna ha classificato la *Rhodiola rosea* come pianta adattogena, cioè in grado di aumentare in modo non specifico la resistenza di un organismo, senza disturbare i normali parametri biologici<sup>304, 305</sup>.

### 5.7.1 Composti bioattivi della *Rhodiola rosea*

La *Rhodiola rosea* presenta un ampio spettro di composti bioattivi, tra cui monofenoli, come il tirosolo e il salidroside (rodiolide), glicosidi dell'alcol cinnamico, come rosarina, rosavina e rosina, monoterpeni, come rosiridina e rosiridosidi, e flavonoidi, come la rodiolina e la rodiosina<sup>306 307</sup>. Il salidroside (p-idrossifenetil-β-D-glucoside) è un tirosolo (p-idrossifenetilalcol) dotato di un glucosio, mentre la rosina (cinnamil-O-β-D-glucoside) è un alcol cinnamico legato a una molecola di glucosio.



La rosavina, la rosarina e la rosina sono collettivamente indicate come rosavine<sup>308</sup>. I tre composti hanno strutture chimiche simili. Le strutture della rosavina e della rosarina si basano sulla rosina: nella rosavina, è stato introdotto, a livello del gruppo -OH in posizione 1, un anello piranico sostituito con tre gruppi ossidrilici nelle posizioni 2,3,4; nella rosarina, invece, nella stessa posizione, è stato introdotto un 2,3-diidrossifurano con una sostituzione idrossimetilica in posizione 4. In particolare, la combinazione della rosina con arabinofuranosio porta alla formazione della rosarina (cinnamil-(6-O-a-L-arabinofuranosil)-O-β-D-glucopiranoside), mentre la combinazione con arabinopiranosio porta alla formazione della rosavina (cinnamil-(6-O-a-L-arabinopiranosil)-O-β-D-glucopiranoside)<sup>309</sup>.



La *Rhodiola rosea* è caratterizzata da un contenuto relativamente alto di rosavine, che non sono state rilevate in altre specie di *Rhodiola*. Gli estratti dei rizomi di *Rhodiola rosea* sono generalmente standardizzati ad un minimo del 3,0% di rosavine e dell'1,0% di salidroside (nel loro rapporto naturale di 3:1), che fungono da marcatori analitici <sup>310</sup>.

Il salidroside, è presente in tutte le specie del genere *Rhodiola*, mentre le rosavine (rosavina, rosina, rosarina) sono componenti specifici della *Rhodiola rosea* <sup>300</sup>.

### 5.7.2 Proprietà della *Rhodiola rosea*

La *Rhodiola rosea* è indicata per la gestione delle condizioni asteniche, tra cui calo delle prestazioni lavorative, affaticamento mentale e fisico, disturbi del sonno, scarso appetito, irritabilità<sup>299-302</sup>. Aumenta la resistenza dell'organismo ed è un calmante emotivo che genera benefici sia per le prestazioni cognitive, sia per la conservazione a lungo termine delle funzioni cerebrali<sup>304</sup>.

La capacità della *Rhodiola rosea* di aumentare la resistenza aspecifica e di esercitare proprietà neuroprotettive è stata attribuita principalmente alla sua capacità di influenzare i livelli e l'attività di diversi componenti del sistema di risposta allo stress, tra cui la serotonina, le catecolamine e i peptidi oppioidi, come le  $\beta$ -endorfine<sup>299 303 311 312 313 314 315</sup>. In piccole e medie dosi, è stato riscontrato che la somministrazione di *Rhodiola rosea* stimola i recettori della noradrenalina, della serotonina, della dopamina e dell'acetilcolina nel sistema nervoso centrale<sup>315</sup>. Inoltre, potenzia gli effetti di questi neurotrasmettitori sul cervello aumentando la permeabilità della barriera ematoencefalica ai precursori della dopamina e della serotonina<sup>316</sup>. Per di più, i dati della letteratura indicano che può stimolare la sintesi, il trasporto e l'attività dei recettori oppioidi e dei peptidi come le  $\beta$ -endorfine<sup>314, 317</sup>. Le  $\beta$ -endorfine attenuano l'intensità della risposta allo stress e l'improvviso rilascio di peptidi oppioidi che si verifica come parte della risposta dell'asse ipofisi-surrene allo stress. L'eccessiva produzione di endorfine in situazioni di stress interferisce con le normali funzioni cerebrali e può portare a danni cardiaci. Inoltre, la *Rhodiola rosea* potrebbe proteggere il cervello e il cuore riducendo la secrezione del fattore di rilascio della corticotropina sotto stress, diminuire i livelli di corticosterone e aumentare l'espressione dei geni sensibili allo stress, specialmente nell'ippocampo e nella corteccia prefrontale<sup>318, 319</sup>.

Esistono risultati incoraggianti per quanto riguarda l'uso della *Rhodiola rosea* nel trattamento della depressione da lieve a moderata e dell'ansia generalizzata. Uno studio pilota di Bystritsky *et al.*<sup>320</sup> ha valutato se l'estratto di *Rhodiola rosea* fosse efficace nel ridurre i sintomi del disturbo d'ansia generalizzato (GAD). Dieci partecipanti (di età compresa tra 34 e 55 anni) con diagnosi di GAD sono stati arruolati nello studio, ricevendo una dose giornaliera totale di 340 mg di estratto di *Rhodiola rosea* per 10 settimane.

I risultati hanno mostrato che gli individui trattati hanno avuto un miglioramento significativo dei sintomi. Anche l'umore negativo totale, la rabbia, la confusione e la depressione sono diminuiti significativamente.

Darbinyan *et al.* hanno condotto uno studio clinico di fase III randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo per 6 settimane con l'obiettivo di valutare l'efficacia e la sicurezza di un estratto standardizzato di *Rhodiola rosea* in pazienti affetti da depressione lieve/moderata <sup>321</sup>. Un totale di 91 pazienti di età compresa tra 18 e 70 anni sono stati randomizzati in tre gruppi.

Un gruppo ha ricevuto due compresse di estratto di *Rhodiola rosea* (340 mg/die) ogni giorno, un secondo gruppo ha ricevuto due compresse due volte al giorno, con una dose (680 mg/die) e un terzo gruppo ha ricevuto due compresse placebo al giorno. Per gli individui nei gruppi di trattamento con *Rhodiola rosea*, la depressione generale, insieme all'insonnia, all'instabilità emotiva e alla somatizzazione, è migliorata significativamente dopo il trattamento.

Uno studio clinico di fase II di Mao *et al.* ha confrontato l'efficacia dell'estratto di *Rhodiola rosea* rispetto alla sertralina nel trattamento del disturbo depressivo maggiore da lieve a moderato <sup>322</sup>. Lo studio ha incluso 57 partecipanti, randomizzati a 12 settimane di intervento standardizzato con estratto di *Rhodiola rosea*, sertralina o placebo. Gli *odds ratio* hanno indicato che i pazienti che assumevano *Rhodiola rosea* avevano 1,4 volte le probabilità di miglioramento e i pazienti trattati con sertralina avevano 1,9 volte le probabilità di miglioramento rispetto a quelli che assumevano placebo. Sebbene la *Rhodiola rosea* abbia mostrato un effetto antidepressivo inferiore rispetto alla sertralina, ha anche prodotto un numero significativamente inferiore di eventi avversi ed è stata molto meglio tollerata, suggerendo che può possedere un rapporto rischio-beneficio più favorevole.

Una revisione completa di Amsterdam e Panossian <sup>316</sup> ha riportato che la *Rhodiola rosea* stimola l'espressione e il rilascio del neuropeptide-Y nelle cellule neurogliali, controlla più di 50 geni coinvolti nella regolazione del comportamento, dell'umore e dei disturbi depressivi, è associata ad alcuni mediatori-chiave della risposta allo stress e regola l'omeostasi dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene <sup>322 323 324 325</sup>.

Inoltre, altre ricerche hanno dimostrato che la *Rhodiola rosea* agisce come inibitore MAO-A e MAO-B, con prove a sostegno delle proprietà antidepressive e cognitive<sup>314</sup>.

### 5.7.3 Effetto antiossidante e neuroprotettivo della *Rhodiola rosea*

Gli antiossidanti proteggono i neuroni dallo stress ossidativo e possono prevenire, ritardare e trattare malattie neurodegenerative come il morbo di Alzheimer. Il morbo di Alzheimer può essere trattato, inoltre, attraverso l'inibizione dell'acetilcolinesterasi (AChE) perché caratterizzato da bassi livelli di acetilcolina ed elevata attività dell'enzima<sup>326</sup>. Molti composti fitochimici, come i fenoli, agiscono come antiossidanti e mostrano effetti inibitori della colinesterasi<sup>327 328 329</sup>.

Il salidroside e il tirosolo hanno capacità antiossidanti grazie al gruppo ossidrilico libero presente nell'anello aromatico, ma non sono in grado di donare protoni e reagire con i radicali DPPH a causa della lipofilia<sup>330</sup>. Poiché la rosarina, la rosavina e la rosina non sono composti fenolici, non sono in grado di donare idrogeno o elettroni ai radicali liberi.

Il salidroside, inoltre, favorisce la sintesi di enzimi antiossidanti, come la tioredossina, nelle cellule di neuroblastoma SH-SY5Y, proteggendole dall'apoptosi indotta dallo stress ossidativo<sup>331</sup>, e contribuisce agli effetti neuroprotettivi sopprimendo la produzione di ossido nitrico e citochine proinfiammatorie nella microglia attivata<sup>332</sup>. L'accumulo intracellulare di composti fenolici come il tirosolo, per di più, riduce lo stress ossidativo citotossico nelle cellule PC-12, portando ad un aumento della sopravvivenza dei neuroni<sup>333</sup>. È stato riportato che anche la rosarina e la rosina regolano la produzione di ossido nitrico attraverso la modulazione dell'ossido nitrico sintasi inducibile nelle cellule BV2 microgliali murine<sup>332</sup>.

I composti fenolici, come l'idrochinone, ma anche la rosarina, la rosavina, il salidroside e il tirosolo, inibiscono l'attività dell'AChE<sup>334</sup>. In particolare, la rosavina mostra una maggiore inibizione<sup>335</sup>, così come i glicosidi flavonoidi risultano maggiormente efficaci rispetto ai loro agliconi<sup>336</sup>.

#### 5.7.4 Meccanismo d'azione del salidroside

Secondo alcuni studi, la depressione è associata a una diminuzione dei fattori neurotrofici, a una compromissione della plasticità sinaptica e a una ridotta plasticità neurale<sup>337</sup>. È stato riportato, inoltre, che i pazienti depressi presentano un asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) iperattivo e un aumento dei livelli di cortisolo<sup>338</sup>. Infatti, iniezioni ripetute di cortisolo negli animali causano la deregolazione dell'asse HPA, danni neuronali, declino cognitivo e della memoria e inducono comportamenti simili alla depressione<sup>339</sup>  
340.

Il BDNF è un fattore neurotrofico ampiamente disperso nel sistema nervoso centrale, coinvolto nella crescita e nel mantenimento dei neuroni ed essenziale per la funzione cognitiva<sup>341</sup>. La ricerca ha dimostrato che il livello di BDNF nell'ippocampo e nella corteccia prefrontale è significativamente ridotto nei pazienti depressi<sup>342</sup>.

L'esposizione a cortisolo o LPS riduce notevolmente i livelli di BDNF nell'ippocampo, che migliorano significativamente in seguito alla somministrazione di salidroside<sup>343</sup>.

La patogenesi della depressione è associata, inoltre, alla neuroinfiammazione<sup>344</sup>. Le citochine infiammatorie svolgono un ruolo fondamentale nella segnalazione, ma lo stress eccessivo e l'infiammazione cronica possono portare a danni neuroinfiammatori cellulari ed esacerbazione di malattie neurodegenerative e disturbi psichiatrici<sup>345</sup>. In condizioni fisiologiche, l'espressione di IL-1 $\beta$  indotta dall'inflammasoma NLRP3 è essenziale come supporto trofico alla formazione della memoria<sup>346</sup>. Tuttavia, ad alti livelli, IL-1 $\beta$  diventa eccitotossico, alterando l'attività sinaptica<sup>347 348</sup>.

Studi recenti hanno dimostrato che lo stress partecipa alla patogenesi della depressione attivando il complesso NLRP3, che induce la piroptosi<sup>349</sup>. Il salidroside riduce significativamente i livelli di proteine correlate alla piroptosi, tra cui caspasi-1 e IL-1 $\beta$ . Il recettore P2X7 è altamente espresso in vari neuroni e cellule immunitarie ed è strettamente associato alla neuroinfiammazione e all'immunità<sup>350</sup>. I recettori P2X7, attivati dall'ATP, inducono l'iperattivazione dell'inflammasoma NLRP3. Come interruttore chiave dell'infiammazione, il recettore P2X7 partecipa allo sviluppo della depressione influenzando il rilascio di IL-1 $\beta$ <sup>351</sup>.

NF-κB è un attivatore trascrizionale dell'inflammasoma NLRP3, coinvolto, quindi, nell'emissione di fattori infiammatori e nella piroptosi<sup>352</sup>. Alcuni studi hanno dimostrato che l'espressione di proteine correlate alla via di segnalazione P2X7/NF-κB/NLRP3 e alla piroptosi è significativamente inibita dal salidroside<sup>343</sup>.

#### 5.7.5 Combinazione di *Rhodiola rosea* e zafferano nel trattamento della depressione maggiore

In uno studio eseguito con criteri e scale di misurazione riconosciuti e convalidati per la diagnosi e la valutazione della depressione e dell'ansia<sup>353</sup>, l'integrazione di sei settimane con una combinazione di estratti di *Rhodiola rosea* e zafferano è stata associata a una significativa diminuzione della gravità della depressione nei pazienti diagnosticati come da lievi a moderatamente malati. Dopo sei settimane di integrazione, l'ansia si è ridotta significativamente. Questo effetto ansiolitico è particolarmente interessante, perché la presenza concomitante di un disturbo depressivo con sintomi d'ansia è comune<sup>354 355 356</sup>.

Studi precedenti hanno dimostrato che i pazienti con depressione maggiore e alti livelli di ansia hanno una risposta più lenta al trattamento<sup>357</sup> e potrebbero avere meno probabilità di rispondere agli antidepressivi rispetto ai pazienti con bassi livelli di ansia<sup>356 358 359 360 361</sup>.



## 6. Conclusioni

Questa tesi ha esplorato in profondità il ruolo della fitoterapia nel trattamento dei disturbi d'ansia e della depressione, mettendo in luce l'importanza crescente delle piante medicinali nella medicina moderna. Attraverso una revisione sistematica della letteratura e l'analisi di studi preclinici e clinici, abbiamo visto come specifici fitoterapici abbiano dimostrato proprietà ansiolitiche e antidepressive significative.

La fitoterapia si è rivelata una valida alternativa o complemento ai trattamenti farmacologici convenzionali. Gli studi analizzati hanno mostrato che i composti attivi presenti in queste piante possono modulare meccanismi biologici complessi, offrendo benefici clinici con un profilo di effetti collaterali più favorevole rispetto ai farmaci sintetici. Tuttavia, nonostante i risultati promettenti, la variabilità nella composizione dei preparati fitoterapici e la necessità di standardizzazione rimangono sfide cruciali.

L'importanza di adottare rigorosi standard di qualità come le Good Agricultural and Collection Practices (GACP) e le Good Manufacturing Practices (GMP) è emersa chiaramente. Questi standard sono fondamentali per garantire l'efficacia e la sicurezza dei prodotti fitoterapici, riducendo la variabilità e assicurando che i preparati contengano quantità consistenti di principi attivi.

Un altro aspetto critico è la necessità di ulteriori ricerche. Sebbene numerosi studi abbiano fornito prove dell'efficacia dei fitoterapici, è essenziale continuare a investire in studi clinici di larga scala, randomizzati e controllati, per confermare i risultati preliminari e fornire ulteriori dati sulla sicurezza a lungo termine di questi trattamenti.

Le implicazioni cliniche di questo studio sono significative. I professionisti della salute dovrebbero essere ben informati sui benefici potenziali e sui rischi associati all'uso dei fitoterapici, per poter consigliare adeguatamente i pazienti. La fitoterapia, se integrata correttamente nella pratica clinica, può offrire una risorsa terapeutica preziosa, soprattutto per quei pazienti che cercano soluzioni naturali per i loro disturbi.

Guardando al futuro, la ricerca dovrebbe concentrarsi su diversi aspetti chiave: la standardizzazione dei prodotti fitoterapici, l'identificazione dei meccanismi molecolari alla base delle loro azioni terapeutiche e lo sviluppo di linee guida cliniche basate su evidenze solide. Solo attraverso un approccio integrato e multidisciplinare sarà possibile valorizzare appieno il potenziale della fitoterapia nel trattamento dei disturbi d'ansia e della depressione.

In conclusione, la fitoterapia rappresenta una promettente risorsa terapeutica che, se adeguatamente studiata e regolamentata, può contribuire significativamente al miglioramento della salute mentale. Questa tesi ha evidenziato l'importanza di una collaborazione continua tra ricerca scientifica e pratica clinica per garantire trattamenti sicuri ed efficaci.

---

## Bibliografia

- <sup>1</sup> Monti L., Giachetti D. *Medicinal plants in phytotherapy*.
- <sup>2</sup> *Piante medicinali nella terapia medica*. G. Penso, 1987.
- <sup>3</sup> *Fitoterapia comparata*. V. Mercati, E. Boncompagni, 1993.
- <sup>4</sup> Russo N., Pecorari R., Giachetti D., Miraldi E., Biagi M. *Normativa del medicinale fitoterapico e dei prodotti erboristici in Italia*.
- <sup>5</sup> *Le medicine complementari. Definizioni, applicazioni, evidenze scientifiche disponibili*. P. Bellavite, A. Conforti, A. Lechi, F. Menestrina, S. Pomari, 2000.
- <sup>6</sup> Dott. A. Nervetti, psicologo e psicoterapeuta.
- <sup>7</sup> *Anxiety disorders and phobias: A cognitive perspective*. A. Beck, G. Emery, RL Greenberg, 1985.
- <sup>8</sup> Wells A. *A cognitive model of generalized anxiety disorder*.
- <sup>9</sup> Borkovec TD, Alcaine OM, Behar E. *Avoidance theory of worry and generalized anxiety disorder*.
- <sup>10</sup> Chandrashekara S., Jayashree K., Veeranna HB, Vadiraj HS, Ramesh MN, Shobha A., Sarvanan Y., Vikram YK. *Effects of anxiety on TNF-alpha levels during psychological stress*.
- <sup>11</sup> Martinowich K., Manji H., Lu B. *New insights into BDNF function in depression and anxiety*.
- <sup>12</sup> Millan MJ. *The neurobiology and control of anxious states*.
- <sup>13</sup> Ishida Y., Hashiguchi H., Takeda R., Ishizuka Y., Mitsuyama Y., Kannan H., Nishimori T., Nakahara D. *Conditioned-fear stress increases Fos expression in monoaminergic and GABAergic neurons of the locus coeruleus and dorsal raphe nuclei*.

---

<sup>14</sup> Chambers MS, Fletcher SR. *CCKB antagonists in the control of anxiety and gastric acid secretion.*

<sup>15</sup> Humeau Y., Reisel D., Johnson AW, Borchardt T., Jensen V., Gebhardt C., Bosch V., Gass P., Bannerman DM, Good MA, Hvalby Ø., Sprengel R., Lüthi A. *A pathway-specific function for different AMPA receptor subunits in amygdala long-term potentiation and fear conditioning.*

<sup>16</sup> Timmerman W., Cisci G., Nap A., De Vries JB, Westerink BHC. *Effects of handling on extracellular levels of glutamate and other amino acids in various areas of the brain measured by microdialysis.*

<sup>17</sup> Millan MJ. *N-Methyl-d-aspartate receptor-coupled glycine B receptors in the pathogenesis and treatment of schizophrenia: a critical review.*

<sup>18</sup> *Che cosa è l'ansia: basi biologiche e correlazioni cliniche.* R. Torta, P. Caldera, 2008.

<sup>19</sup> Paylor R., Nguyen M., Crawley JN, Patrick J., Beaudet A., Orr-Urtreger A. *Alpha7 nicotinic receptor subunits are not necessary for hippocampal-dependent learning or sensorimotor gating: a behavioral characterization of  $\alpha 7$ -deficient mice.*

<sup>20</sup> Picciotto MR, Zoli M., Léna C., Bessis A., Lallemand Y., LeNovère N., Vincent P., Piche EM, Brûlet P., Changeux JP. *Abnormal avoidance learning in mice lacking functional high-affinity nicotine receptor in the brain.*

<sup>21</sup> Morilak DA, Frazer A. *Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders.*

<sup>22</sup> Di Salvo S. *Diffusione, cause e sintomi della depressione.*

<sup>23</sup> Lanni C., Stanga S., Lucchelli A., Govoni S. *Depressione: continuum nello sviluppo di farmaci antidepressivi per diverse fasce d'età e condizioni patologiche.*

<sup>24</sup> Prandi M. *La complessità della chimica degli strobili: un approfondimento sulla composizione del luppolo.*

<sup>25</sup> Hops. RA Neve, 1991.

- 
- <sup>26</sup> *Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids*. M. Verkele, D. De Keukeleire, 1991.
- <sup>27</sup> Van Cleemput M., Cattoor K., De Bosscher K., Haegeman G., De Keukeleire D., Heyerick A. *Hop (Humulus lupulus) - Derived bitter acids as multipotent bioactive compounds*.
- <sup>28</sup> Karabín M., Hudcová T., Jelínek L., Dostálek P. *Biologically active compounds from hops and prospects for their use*.
- <sup>29</sup> Zanolli P, Forster A., Vonhoff C., Hegger M., Biller A., Winterhoff H. *New insight in the neuropharmacological activity of Humulus lupulus L.*
- <sup>30</sup> Schiller H., Forster A., Vonhoff C., Hegger M., Biller A., Winterhoff H. *Sedating effects of Humulus lupulus L. extracts*.
- <sup>31</sup> Koulivand PH, Ghadiri MK, Gorji A. *Lavender and the nervous system*.
- <sup>32</sup> Góra J., Lis A. *Najcenniejsze olejki eteryczne*.
- <sup>33</sup> Prusinowska R., Śmigielski KB. *Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (Lavandula angustifolia L). A Review Herba Polonica*.
- <sup>34</sup> Lawrence BM. *Progress in essential oils*.
- <sup>35</sup> Rajeswara Rao B., Kaul P., Bhattacharya A., Rajput D., Syamasundar K., Ramesh S. *Comparative chemical composition of steam-distilled and water-soluble essential oils of South American marigold (Tagetes minuta L.)*.
- <sup>36</sup> Masago R., Matsuda T., Kikuchi Y., Miyazaki Y., Iwanaga K., Harada H., Katsuura T. *Effects of inhalation of essential oils on EEG activity and sensory evaluation*.
- <sup>37</sup> Buchbauer G., Jirovetz L., Jäger W. *Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation*.
- <sup>38</sup> Wang D., Yuan X., Liu T., Liu L., Hu Y., Wang Z., Zheng Q. *Neuroprotective activity of lavender oil on transient focal cerebral ischemia in mice*.

- 
- <sup>39</sup> Kashani MS, Tavirani MR, Talaei SA, Salami M. *Aqueous extract of lavender (Lavandula angustifolia) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease.*
- <sup>40</sup> Umezu T. *Behavioral effects of plant-derived essential oils in the Geller type conflict test in mice.*
- <sup>41</sup> Rahmati., Kiasalari Z., Roghani M., Khalili M., Ansari F. *Antidepressant and anxiolytic activity of Lavandula officinalis aerial parts hydroalcoholic extract in scopolamine-treated rats.*
- <sup>42</sup> Kasper S., Müller WE, Volz HP, Möller HJ, Koch E., Dienel A. *Silexan in anxiety disorders: Clinical data and pharmacological background.*
- <sup>43</sup> Belzung C. *Rodent models of anxiety-like behaviors: are they predictive for compounds acting via non-benzodiazepine mechanisms?*
- <sup>44</sup> Borsini F., Podhorna J., Marazziti D. *Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants.*
- <sup>45</sup> Kavoussi R. *Pregabalin: from molecule to medicine.*
- <sup>46</sup> Schuwald AM, Noldner M., Wilmes T., Klugbauer N., Leuner K., Müller WE. *Lavender oil-potent anxiolytic properties via modulating voltage dependent calcium channels.*
- <sup>47</sup> Mico JA, Prieto R. *Elucidating the mechanism of action of pregabalin.  $\alpha(2)\delta$  as a therapeutic target in anxiety.*
- <sup>48</sup> Baldinger P., Höflich A., Mitterhauser M., Hahn A., Rami-Mark C., Spies M., Wadsak W., Lanzenberger R., Kasper S. *Effects of Silexan on the serotonin-1A receptor and microstructure of the human brain: A randomized, placebo-controlled, double-blind, cross-over study with molecular and structural neuroimaging.*
- <sup>49</sup> Akimova E., Lanzenberger R., Kasper S. *The serotonin-1A receptor in anxiety disorders.*

- 
- <sup>50</sup> Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, Bajwa P., Parsons LH, Tecott LH. *Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor mutant mice.*
- <sup>51</sup> Parks CL, Robinson PS, Sibille E., Shenk T., Toth M. *Increased anxiety of mice lacking the serotonin-1A receptor.*
- <sup>52</sup> Gross C., Zhuang X., Stark K., Ramboz S., Oosting R., Kirby L., Santarelli L., Beck S., Hen R. *Serotonin-1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult.*
- <sup>53</sup> Chioca LR, Ferro MM, Baretta IP, Oliveira SM, Silva CR, Ferreira J., Losso EM, Andreatini R. *Anxiolytic-like effect of lavender essential oil inhalation in mice: participation of serotonergic but not GABA/benzodiazepine neurotransmission.*
- <sup>54</sup> Tauscher J., Bagby RM, Javanmard M., Christensen BK, Kasper S., Kapur S. *Inverse relationship between serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding and anxiety: A [(11)C]WAY-100635 PET investigation in healthy volunteers.*
- <sup>55</sup> Spindelegger C., Lanzenberger R., Wadsak W., Mien LK, Stein P., Mitterhauser M., Moser U., Holik A., Pezawas L., Kletter K., Kasper S. *Influence of escitalopram treatment on 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in limbic regions in patients with anxiety disorders.*
- <sup>56</sup> Le Poul E., Laaris N., Doucet E., Laporte AM, Hamon M., Lanfumey L. *Early desensitization of somato-dendritic 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors in rats treated with fluoxetine or paroxetine.*
- <sup>57</sup> Schuwald AM, Noldner M., Wilmes T., Klugbauer N., Leuner K., Muller WE. *Lavender oil-potent anxiolytic properties via modulating voltage dependent calcium channels.*
- <sup>58</sup> Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. *Biological effects of essential oils – A review.*
- <sup>59</sup> Kumar V. *Characterization of anxiolytic and neuropharmacological activities of Silexan®.*

- 
- <sup>60</sup> Balasubramani SP, Venkatasubramanian P., Kukkupuni SK, Patwardhan B. *Plant-based Rasayana drugs from Ayurveda*.
- <sup>61</sup> Doshi GM, Une HD, Shanbhag PP. *Rasayans and non-rasayans herbs: Future immunodrug - Targets*.
- <sup>62</sup> Dar NJ, Ahmad M. *Neurodegenerative diseases and Withania somnifera (L.): An update*.
- <sup>63</sup> Dar NJ, Hamid A., Ahmad M. *Pharmacologic overview of Withania somnifera, the Indian Ginseng*.
- <sup>64</sup> Alam N., Hossain M., Khalil MI, Moniruzzaman M., Sulaiman SA, Gan SH. *Recent advances in elucidating the biological properties of Withania somnifera and its potential role in health benefits*.
- <sup>65</sup> Tetali SD, Acharya S., Ankari AB, Nanakram V., Raghavendra AS. *Metabolomics of Withania somnifera (L.) dunal: Advances and applications*.
- <sup>66</sup> Tetali SD, Acharya S., Ankari AB, Nanakram V., Raghavendra AS. *Metabolomics of Withania somnifera (L.) dunal: Advances and applications*.
- <sup>67</sup> Chatterjee S., Srivastava S., Khalid A., Singh N., Sangwan RS, Sidhu OP, Roy R., Khetrpal CL, Tuli R. *Comprehensive metabolic fingerprinting of Withania somnifera leaf and root extracts*.
- <sup>68</sup> Trivedi MK, Panda P., Sethi KK, Jana S. *Metabolite Profiling in Withania somnifera Roots Hydroalcoholic Extract Using LC/MS, GC/MS and NMR Spectroscopy*.
- <sup>69</sup> Mohan R., Hammers H.J, Bargagna-Mohan P., Zhan XH, Herbstritt CJ, Ruiz A. *Withaferin A is a potent inhibitor of angiogenesis. Angiogenesis*.
- <sup>70</sup> Yang H., Shi G., Dou QP. *The tumour proteasome is a primary target for the natural anticancer compound Withaferin an isolated from "Indian winter cherry"*.
- <sup>71</sup> Ali M., Shuaib M., Ansari SH. *Withanolides from the stem bark of Withania somnifera. Phytochemistry*.



---

<sup>72</sup> Jayaprakasam B., Zhang Y., Seeram NP, Nair MG. *Growth inhibition of human tumour cell lines by withanolides from Withania somnifera leaves.*

<sup>73</sup> Jayaprakasam B., Padmanabhan K., Nair MG. *Withanamides in Withania somnifera fruit protect PC-12 cells from  $\beta$ -amyloid responsible for Alzheimer's disease.*

<sup>74</sup> Ghosal S., Lal J., Srivastava R., Bhattacharya SK, Upadhyay SN, Jaiswal AK, Chattopadhyay U. *Immunomodulatory and CNS effects of sitoindosides IX and X, two new glycowithanolides from Withania somnifera.*

<sup>75</sup> Bhattacharya SK, Goel RK, Kaur R., Ghosal S. *Anti-stress activity of sitoindosides VII and VIII, new acylsterylglucosides from Withania somnifera.*

<sup>76</sup> Schröter HB, Neumann D., Katritzky AR, Swinbourne FJ. *Withasomnine: A pyrazole alkaloid from Withania somnifera Dun.*

<sup>77</sup> Schwarting AE, Bobbit JM, Rother A., Atal CK, Khanna KL, Leary JD. *The alkaloids of Withania somnifera.*

<sup>78</sup> Wijeratne EMK, Xu YM, Scherz-Shouval R., Marron MT, Rocha DD, Liu MX, Costa-Lotufo LV, Santagata S., Lindquist S., Whitesell L., Gunatilaka AAL. *Structure-activity relationships for withanolides as inducers of the cellular heat-shock response.*

<sup>79</sup> Choudhary MI, Hussain S., Yousuf S., Dar A., Mudassar, Rahman AU. *Chlorinated and diepoxy withanolides from Withania somnifera and their cytotoxic effects against human lung cancer cell line.*

<sup>80</sup> Musazzi L., Tornese P., Sala N., Popoli M. *What acute stress protocols can tell us about PTSD and stress-related neuropsychiatric disorders.*

<sup>81</sup> Basta M., Chrousos GP, Vela-Bueno A., Vgontzas AN. *Chronic insomnia and the stress system.*

<sup>82</sup> Yaribeygi H., Panahi Y., Sahraei H., Johnston TP, Sahebkar A. *The impact of stress on body function: A review.*

<sup>83</sup> Yang L., Zhao Y., Wang Y., Liu L., Zhang X., Li B., Cui R. *The effects of psychological stress on depression.*

---

<sup>84</sup> Patriquin MA, Mathew SJ. *The neurobiological mechanisms of generalized anxiety disorder and chronic stress.*

<sup>85</sup> Chandrasekhar K., Kapoor J., Anishetty S. *A prospective, randomized double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy of a high-concentration full-spectrum extract of Ashwagandha root in reducing stress and anxiety in adults.*

<sup>86</sup> Buckingham JC. *Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking.*

<sup>87</sup> Mehta AK, Binkley P., Gandhi SS, Ticku MK. *Pharmacological effects of Withania somnifera root extract on GABAA receptor complex.*

<sup>88</sup> Bassareo V., Talani G., Frau R., Porru S., Rosas M., Kasture SB, Peana AT, Loi E., Sanna E., Acquas E. *Inhibition of morphine-and ethanol-mediated stimulation of mesolimbic dopamine neurons by Withania somnifera.*

<sup>89</sup> Candelario M., Cuellar E., Reyes-Ruiz JM, Darabedian N., Feimeng Z., Miledi R., Russo-Neustadt A., Limon A. *Direct evidence for GABAergic activity of Withania somnifera on mammalian ionotropic GABAA and GABA $\rho$  receptors.*

<sup>90</sup> Schliebs R., Liebmann A., Bhattacharya SK, Kumar A., Ghosal S., Bigl V. *Systemic administration of defined extracts from Withania somnifera (Indian Ginseng) and Shilajit differentially affects cholinergic but not glutamatergic and GABAergic markers in rat brain.*

<sup>91</sup> Sonar VP, Fois B., Distinto S., Maccioni E., Meleddu R., Cottiglia F., Acquas E., Kasture S., Floris C., Colombo D., Sissi C., Sanna E., Talani G. *Ferulic acid esters and withanolides: In search of Withania somnifera GABA-A receptor modulators.*

<sup>92</sup> Cobley JN, Fiorello ML, Bailey DM. *13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress.*

<sup>93</sup> Fedoce ADG, Ferreira F., Bota RG, Bonet-Costa V., Sun PY, Davies KJA. *The role of oxidative stress in anxiety disorder: cause or consequence?*

<sup>94</sup> Tomar V., Beuerle T., Sircar D. *A validated HPTLC method for the simultaneous quantification of three phenolic acids and three withanolides from Withania somnifera and its herbal products.*

- 
- <sup>95</sup> Zhao J., Nakamura N., Hattori M., Kuboyama T., Tohda C., Komatsu K. *Withanolide derivatives from the roots of Withania somnifera and their neurite outgrowth activities.*
- <sup>96</sup> Kumar A., Kalonia H. *Protective effect of Withania somnifera Dunal on the behavioral and biochemical alterations in sleep-disturbed mice.*
- <sup>97</sup> Sood A., Kumar A., Dhawan DK, Sandhir R. *Propensity of Withania somnifera to attenuate behavioural.Biochemical, and histological alterations in experimental model of stroke.*
- <sup>98</sup> Kaur T., Singh H., Mishra R., Manchanda S., Gupta M., Saini V., Sharma A., Kaur G. *Withania somnifera as a potential anxiolytic and immunomodulatory agent in acute sleep deprived female Wistar rats.*
- <sup>99</sup> Gupta M., Kaur G. *Withania somnifera as a Potential Anxiolytic and Anti-inflammatory Candidate Against Systemic Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation.*
- <sup>100</sup> Kumar A., Kalonia H. *Effect of Withania somnifera on sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats: possible gabaergic mechanism.*
- <sup>101</sup> Jagota A., Kowshik K. *Therapeutic effects of ashwagandha in brain aging and clock dysfunction.*
- <sup>102</sup> Janda K., Wojtkowska K., Jakubczyk K., Antoniewicz J., Skonieczna-Zydecka K. *Passiflora incarnata in neuropsychiatric disorders – A systematic review.*
- <sup>103</sup> Patel SS, Thattakudian Sheikuduman MS, Ravi V., Shrestha B., Verma NK, Karunakaran G. *Passiflora Incarnata Linn: A phytopharmacological review.*
- <sup>104</sup> Da Fonseca LR, de Rodrigues RA, de Ramos AS, da Cruz, JD, Ferreira JLP, de Silva JRA, Amaral ACF. *Herbal medicinal products from passiflora for anxiety: An unexploited potential.*
- <sup>105</sup> Jay M., Viricel MR, Gonnet JF. *C-glycosylflavonoids.*
- <sup>106</sup> Zeraik ML, Pereira CAM, Zuin VG, Yariwake JH. *Maracuja, “Um alimento funcional?”.*

- 
- <sup>107</sup> Harbone JB, Baxter H. *Phytochemical dictionary: A handbook of bioactive compound from plants.*
- <sup>108</sup> Lutomski J., Wrocinski T. *Pharmacodynamic properties of P. incarnata preparations. The effect of alkaloid and flavonoid components on pharmacodynamic properties of the raw materials.*
- <sup>109</sup> Peng L., Meeks TW, Blazes CK. *Complex persistent benzodiazepine dependence – When benzodiazepine deprescribing goes awry.*
- <sup>110</sup> Baandrup L., Ebdrup BH, Rasmussen JØ, Lindschou J., Gluud C., Glenthøj BY. *Pharmacological interventions for benzodiazepine discontinuation in chronic benzodiazepine users.*
- <sup>111</sup> Assessment Report on *Passiflora incarnata L., herba.* Ema/HMPC/669738/2013, No. November. 2014.
- <sup>112</sup> Appel K., Rose T., Fiebich B., Kammler T., Hoffmann C., Weiss G. *Modulation of the  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) system by Passiflora incarnata L.*
- <sup>113</sup> Dantas LP, de Oliveira-Ribeiro A., de Almeida-Souza LM, Groppo FC. *Effects of Passiflora incarnata and midazolam for control of anxiety in patients undergoing dental extraction.*
- <sup>114</sup> Azimaraghi O., Yousefshahi F., Khatavi F., Movafegh A. *Both oral Passiflora incarnata and oxazepam can reduce pre-operative anxiety in ambulatory surgery patients: A double-blind, placebo-controlled study.*
- <sup>115</sup> Akhondzadeh A., Naghavi HR, Vazirian M., Shayeganpour A., Rashidi H., Khani M. *Passionflower in the treatment of generalized anxiety: A pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam.*
- <sup>116</sup> Aslanargun P., Cuvas O., Dikmen B., Aslan E., Yuksel MU. *Passiflora incarnata Linneaus as an anxiolytic before spinal anesthesia.*
- <sup>117</sup> Wang F., Shing M., Huen Y., Tsang SY, Xue H. *Neuroactive flavonoids interacting with GABAA receptor complex.*

- 
- <sup>118</sup> Zhang W., Koehler KF, Zhang P., Cook JM. *Development of a comprehensive pharmacophore model for the benzodiazepine receptor.*
- <sup>119</sup> Hanrahan JR, Chebib M., Johnston GAR. *Flavonoid modulation of GABAA receptors.*
- <sup>120</sup> Dekermendjian K., Kahnberg P., Witt MR, Sterner O., Nielsen M., Liljefors T. *Structure–activity relationships and molecular modeling analysis of flavonoids binding to the benzodiazepine site of the rat brain GABAA receptor complex.*
- <sup>121</sup> Appel K., Rose T., Fiebich B., Kammler T., Hoffmann C., Weiss G. *Modulation of the  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) system by *Passiflora Incarnata L.**
- <sup>122</sup> Wasowski C., Marder M. *Flavonoids as GABAA receptor ligands: the whole story?*
- <sup>123</sup> Viola H., Wasowski C., Stein ML, Wolfman C., Silveira R., Dajas F., Medina JH, Paladini AC. *Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects.*
- <sup>124</sup> Souza LC, Antunes MS, Filho CB, Del Fabbro L., de Gomes MG, Goes AT, Donato F., Prigol M., Boeira SP, Jesse CR. *Flavonoid chrysin prevents age-related cognitive decline via attenuation of oxidative stress and modulation of BDNF levels in aged mouse brain.*
- <sup>125</sup> Sathiavelu J., Senapathy GJ, Devaraj R., Namasivayam N. *Hepatoprotective effect of chrysin on prooxidant-antioxidant status during ethanol-induced toxicity in female albino rats.*
- <sup>126</sup> Gargouri B., Bhatia HS, Bouchard M., Fiebich BL, Fetoui H. *Inflammatory and oxidative mechanisms potentiate bifenthrin-induced neurological alterations and anxiety-like behavior in adult rats.*
- <sup>127</sup> Gandhi S., Abramov AY. *Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration.*
- <sup>128</sup> Smaga I., Niedzielska E., Gawlik M., Moniczewski A., Krzek J., Przegalinski E., Pera J., Filip M. *Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism.*
- <sup>129</sup> Bhatt S., Nagappa AN, Patil CR. *Role of oxidative stress in depression.*

- 
- <sup>130</sup> Harasstani OA, Moin S., Tham CL, Liew CY, Ismail N., Rajajendram R., Harith HH, Zakaria ZA, Mohamad AS, Sulaiman MR, Israf DA. *Flavonoid combinations cause synergistic inhibition of proinflammatory mediator secretion from lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cells.*
- <sup>131</sup> Harasstani OA, Tham CL, Israf DA. *Kaempferol and chrysin synergies to improve septic mice survival.*
- <sup>132</sup> Bouayed J., Rammal H., Younos C., Soulimani R. *Positive correlation between peripheral blood granulocyte oxidative status and level of anxiety in mice.*
- <sup>133</sup> Salim S., Sarraj N., Taneja M., Saha K., Tejada-Simon MV, Chugh G. *Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats.*
- <sup>134</sup> Kaufmann FN, Gazal M., Mondin TC, Cardoso TA, Quevedo LÁ, Souza LD, Ghisleni G. *Cognitive psychotherapy treatment decreases peripheral oxidative stress parameters associated with major depression disorder.*
- <sup>135</sup> Moccia M., Capacchione A., Lanzillo R., Carbone F., Micillo T., Perna F., Brescia Morra, V. *Coenzyme Q10 supplementation reduces peripheral oxidative stress and inflammation in interferon- $\beta$ 1a-treated multiple sclerosis.*
- <sup>136</sup> Zanolli P., Avallone R., Baraldi M. *Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin.*
- <sup>137</sup> Wolfman C., Viola H., Paladini A., Dajas F., Medina JH. *Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from Passiflora Coerulea.*
- <sup>138</sup> Paladini AC, Marder M., Viola H., Wolfman C., Wasowski C., Medina JH. *Flavonoids and the central nervous system: From forgotten factors to potent anxiolytic compounds.*
- <sup>139</sup> Albert K., Pruessner J., Newhouse P. *Estradiol levels modulate brain activity and negative responses to psychosocial stress across the menstrual cycle.*
- <sup>140</sup> Rocca WA, Grossardt BR, Geda YE, Gostout BS, Bower JH, Maraganore DM, de Andrade M., Melton LJ. *3rd Long-term risk of depressive and anxiety symptoms after early bilateral oophorectomy.*

---

<sup>141</sup> Giannini A., Caretto M., Genazzani AR, Simoncini T. *Neuroendocrine changes during menopausal transition.*

<sup>142</sup> Pinna G. *Allopregnanolone, the neuromodulator turned therapeutic agent: Thank you, next?*

<sup>143</sup> Cueto-Escobedo J., Andrade-Soto J., Lima-Maximino M., Maximino C., Hernández-López F., Rodríguez-Landa JF. *Involvement of GABAergic system in the antidepressant-like effects of chrysin (5,7-dihydroxyflavone) in ovariectomized rats in the forced swim test: Comparison with neurosteroids.*

<sup>144</sup> Puga-Olguín A., Rodríguez-Landa JF, Rovirosa-Hernández MJ, Germán-Ponciano LJ, Caba M., Meza E., Guillén-Ruiz G., Olmos-Vázquez OJ. *Long-term ovariectomy increases anxiety- and despair-like behaviors associated with lower Fos immunoreactivity in the lateral septal nucleus in rats.*

<sup>145</sup> Lovick TA. *GABA in the female brain – Oestrous cycle-related changes in GABAergic function in the periaqueductal grey matter.*

<sup>146</sup> Rodríguez-Landa JF. *Considerations of timing post-ovariectomy in mice and rats in studying anxiety- and depression-like behaviors associated with surgical menopause in women.*

<sup>147</sup> Paul SM, Pinna G., Guidotti A. *Allopregnanolone: From molecular pathophysiology to therapeutics. A historical perspective.*

<sup>148</sup> Braestrup C., Nielsen M., Olsen CE. *Urinary and brain  $\beta$ -carboline-3-carboxylates as potent inhibitors of brain benzodiazepine receptors.*

<sup>149</sup> Salerno S., Settimo F., Taliani S., Simorini F., La Motta C., Fornaciari G., Marina AM. *Medicinal chemistry of indolylglyoxylamide GABAA/BzR high affinity ligands: identification of novel anxiolytic/non sedative agents.*

<sup>150</sup> Clayton T., Poe M., Rallapalli S., Biawat P., Savic M., Rowlett J., Gallos G., Emala C., Kaczorowski CC, Stafford D., Arnold L., Cook J. *A review of the updated pharmacophore for the alpha 5 GABA(A) benzodiazepine receptor model.*

- 
- <sup>151</sup> Emami S., Nadjafi F., Amine G., Amiri M., Khosravi M., Nasser M. *Les espèces de plantes médicinales utilisées par les guérisseurs traditionnels dans la province de Khorasan, nord-est de l'Iran.*
- <sup>152</sup> Božin B., Kladar N., Grujić N., Anačkov G., Samojlik I., Gavarić N., Srđenović Conić B. *Impact of origin and biological source on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant properties of some St. John's wort species (Hypericum spp., Hypericaceae) from the Central Balkans.*
- <sup>153</sup> Tokgöz HB, Altan F. *Hypericum perforatum L.: A medicinal plant with potential as a curative agent against obesity-associated complications.*
- <sup>154</sup> Ng QX, Venkatanarayanan N., Ho CYX. *Clinical use of Hypericum perforatum (St John's wort) in depression: A meta-analysis.*
- <sup>155</sup> Eatemadnia A., Ansari S., Abedi P., Najari S. *The effect of Hypericum perforatum on postmenopausal symptoms and depression: A randomized controlled trial.*
- <sup>156</sup> Butterweck V. *Mechanism of action of St John's wort in depression: what is known?*
- <sup>157</sup> Rodriguez-Landa JF, Contreras CM. *A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by Hypericum perforatum extracts.*
- <sup>158</sup> Stojanovic G., Dordevic A., Smelcerovic A. *Do other Hypericum species have medical potential as St. John's wort (Hypericum perforatum)?*
- <sup>159</sup> Xu S., Chen S., Xia W., Sui H., Fu X. *Hyperoside: A Review of its structure, synthesis, pharmacology.*
- <sup>160</sup> Stojanovic NM, Radulovic NS, Randjelovic PJ, Laketic D. *Antinociceptive properties of St. John's wort (Hypericum perforatum) and other hypericum species.*
- <sup>161</sup> Wang Q., Wei HC, Zhou SJ, Li Y., Zheng TT, Zhou CZ, Wan XH. *Hyperoside: A review on its sources, biological activities, and molecular mechanisms.*
- <sup>162</sup> Chunzhi G., Zunfeng L., Chengwei Q., Xiangmei B., Jingui Y. *Hyperin protects against LPS-induced acute kidney injury by inhibiting TLR4 and NLRP3 signaling pathways.*



- 
- <sup>163</sup> De Brito Toscano EC, Marciano Vieira EL, Boni Rocha Dias B., Vidigal Caliari M., Goncalves AP, Varela Giannetti A., Siqueira JM, Suemoto CK, Paraizo Leite RE, Nitrini R., Rachid MA, Teixeira AL. *NLRP3 and NLRP1 inflammasomes are up-regulated in patients with mesial temporal lobe epilepsy and may contribute to overexpression of caspase-1 and IL-beta in sclerotic hippocampi.*
- <sup>164</sup> Arioz, BI, Tastan B., Tarakcioglu E., Tufekci KU, Olcum M., Ersoy N., Bagriyanik A., Genc K., Genc S. *Melatonin attenuates LPS-induced acute depressive-like behaviors and microglial NLRP3 inflammasome activation through the SIRT1/Nrf2 pathway.*
- <sup>165</sup> Jing G., Wang H., Nan F., Liu Y., Zhang M. *Naofucong ameliorates high glucose induced hippocampal neuron injury through suppressing P2X7/NLRP1/caspase-1 pathway.*
- <sup>166</sup> Song AQ, Gao B., Fan JJ, Zhu YJ, Zhou J., Wang YL, Xu LZ, Wu WN. *NLRP1 inflammasome contributes to chronic stress-induced depressive-like behaviors in mice.*
- <sup>167</sup> Zhu YJ, Fan JJ, Wu FY, Zhang M., Song AQ, Li Y., Li YK, Wu WN. *Aging promotes chronic stress-induced depressive-like behavior by activating NLRP1 inflammasome-driven inflammatory signaling in mice.*
- <sup>168</sup> Song A., Wu Z., Zhao W., Shi W., Cheng R., Jiang J., Ni Z., Qu H., Qiaolongbatu X., Fan G., Lou Y. *The role and mechanism of hyperoside against depression-like behavior in mice via the NLRP1 inflammasome.*
- <sup>169</sup> Orzelska-Gorka J., Szewczyk K., Gawronska-Grzywacz M., Kedzierska E., Glowacka E., Herbet M., Dudka J., Biala G. *Monoaminergic system is implicated in the antidepressant-like effect of hyperoside and protocatechuic acid isolated from *impatiens glandulifera royle* in mice.*
- <sup>170</sup> Siuciak JA, Altar CA, Wiegand SJ, Lindsay RM. *Antinociceptive effect of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3.*
- <sup>171</sup> Mamounas LA, Blue ME, Siuciak JA, Altar CA. *Brain-derived neuro-trophic factor promotes the survival and sprouting of serotonergic axons in rat brain.*
- <sup>172</sup> Sell TS, Belkacemi T., Flockerzi V., Beck A. *Protonophore properties of hyperforin are essential for its pharmacological activity.*

- 
- <sup>173</sup> Leuner K., Kazanski V., Müller M., Essin K., Henke B., Gollasch M., Harteneck C., Müller WE. *Hyperforin-a key constituent of St. John's wort specifically activates TRPC6 channels.*
- <sup>174</sup> El Hamdaoui Y., Zheng F., Fritz N., Ye L., Tran MA, Schwickert K., Schirmeister T., Braeuning A., Lichtenstein D., Hellmich UA, Weikert D., Heinrich M., Treccani G., Schäfer MKE, Nowak G., Nürnberg B., Alzheimer C., Müller, C, Friedland K. *Analysis of hyperforin (St. John's wort) action at TRPC6 channel leads to the development of a new class of antidepressant drugs.*
- <sup>175</sup> Kandel BA, Ekins S., Leuner K., Thasler WE, Harteneck C., Zanger UM. *No activation of human pregnane X receptor by hyperforin-related phloroglucinols.*
- <sup>176</sup> Conrad CD, Ortiz JB, Judd JM. *Chronic stress and hippocampal dendritic complexity: Methodological and functional considerations.*
- <sup>177</sup> De Quervain D., Schwabe L., Roozendaal B. *Stress, glucocorticoids and memory: Implications for treating fear-related disorders.*
- <sup>178</sup> Schoenfeld TJ, McCausland HC, Morris HD, Padmanaban V., Cameron HA. *Stress and loss of adult neurogenesis differentially reduce hippocampal volume.*
- <sup>179</sup> Yagi S., Galea LAM. *Sex differences in hippocampal cognition and neurogenesis.*
- <sup>180</sup> Kim EJ, Pellman B., Kim JJ. *Stress effects on the hippocampus: A critical review.*
- <sup>181</sup> McEwen BS. *Stress, sex, hippocampal plasticity: Relevance to psychiatric disorders.*
- <sup>182</sup> Galea LAM, McEwen BS, Tanapat P., Deak T., Spencer RL, Dhabhar FS. *Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress.*
- <sup>183</sup> Arborelius L., Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB. *The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders.*
- <sup>184</sup> Holsboer F. *Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: Implications for therapy.*

---

<sup>185</sup> Sawyer K., Corsentino E., Sachs-Ericsson N., Steffens DC. *Depression, hippocampal volume changes, and cognitive decline in a clinical sample of older depressed outpatients and non-depressed controls.*

<sup>186</sup> Vasic N., Walter H., Hose A., Wolf RC. *Gray matter reduction associated with psychopathology and cognitive dysfunction in unipolar depression: A voxel-based morphometry study.*

<sup>187</sup> Erickson KI, Miller DL, Roecklein KA. *The aging hippocampus: Interactions between exercise, depression, and BDNF.*

<sup>188</sup> Bekinschtein P., Cammarota M., Medina JH. *BDNF and memory processing.*

<sup>189</sup> Gryzlak BM, Wallace RB, Zimmerman MB, Nisly NL. *National surveillance of herbal dietary supplement exposures: The poison control center experience.*

<sup>190</sup> Rychlik R., Siedentop H., Von den Driesch V., Kasper S. *General practice research study of St. Johns wort extract WS 5572. Normally 600 mg per day is enough.*

<sup>191</sup> Lecrubier Y., Clerc G., Didi R., Kieser M. *Efficacy of St. John's wort extract WS 5570 in major depression: A double-blind, placebo-controlled trial.*

<sup>192</sup> Valvassori SS, Borges C., Bavaresco DV, Varela RB, Resende WR, Peterle BR, Arent CO, Budni J., Quevedo J. *Hypericum perforatum chronic treatment affects cognitive parameters and brain neurotrophic factor levels.*

<sup>193</sup> Ng QX, Venkatanarayanan N., Ho CY. *Clinical use of Hypericum perforatum (St John's wort) in depression: A meta-analysis.*

<sup>194</sup> Song K., Na JY, Kim S., Kwon J. *Rutin upregulates neurotrophic factors resulting in attenuation of ethanol-induced oxidative stress in HT22 hippocampal neuronal cells.*

<sup>195</sup> Alzoubi KH, Abdel-Hafiz L., Khabour OF, El-Elimat T., Alzubi MA, Alali FQ. *Evaluation of the effect of Hypericum triquetrifolium Turra on memory impairment induced by chronic psychosocial stress in rats: Role of BDNF.*

<sup>196</sup> Obach RS. *Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by constituents of St. John's wort, an herbal preparation used in the treatment of depression.*

---

<sup>197</sup> Trana C., Toth G., Wijns W., Barbato E. *St. John's wort in patients non-responders to clopidogrel undergoing percutaneous coronary intervention: A single-center randomized open-label trial (St. John's Trial).*

<sup>198</sup> Andren L., Andreasson Å., Eggertsen R. *Interaction between a commercially available St. John's wort product (Movina) and atorvastatin in patients with hypercholesterolemia.*

<sup>199</sup> Hojo Y., Echizenya M., Ohkubo T., Shimizu T. *Drug interaction between St John's wort and zolpidem in healthy subjects.*

<sup>200</sup> Eagling VA, Wiltshire H., Whitcombe IW, Back DJ. *CYP3A4-mediated hepatic metabolism of the HIV-1 protease inhibitor saquinavir in vitro.*

<sup>201</sup> Cvetkovic RS, Goa KL. *Lopinavir/ritonavir: A review of its use in the management of HIV infection.*

<sup>202</sup> Frye RF, Fitzgerald SM, Lagattuta TF, Hruska MW, Egorin MJ. *Effect of St John's wort on imatinib mesylate pharmacokinetics.*

<sup>203</sup> Mai I, Bauer S, Perloff ES, Johne A, Uehleke B, Frank B, Budde K., Roots I. *Hyperforin content determines the magnitude of the St John's wort–cyclosporine drug interaction.*

<sup>204</sup> Jiang X., Williams KM, Liauw WS, Ammit AJ, Roufogalis BD, Duke CC, O Day R., McLachlan AJ. *Effect of St John's wort and ginseng on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in healthy subjects.*

<sup>205</sup> Mueller SC, Uehleke B., Woehling H., Petzsch M., Majcher-Peszynska J., Hehl EM, Sievers H., Frank B., Riethling AK, Drewelow B. *Effect of St John's wort dose and preparations on the pharmacokinetics of digoxin.*

<sup>206</sup> Apaydin EA, Maher AR, Shanman R., Booth MS, Miles JN, Sorbero ME, Hempel S. *A systematic review of St. John's wort for major depressive disorder.*

<sup>207</sup> Spina E., Barbieri MA, Cicala G., Bruno A., de Leon J. *Clinically relevant drug interactions between newer antidepressants and oral anticoagulants.*

<sup>208</sup> Palomares C. *Le safran, précieuse épice ou précieux médicament?*

- 
- <sup>209</sup> Dubois A. *Analyse de la filière safran du Maroc: Quelles perspectives pour la mise en place d'une indication géographique?*
- <sup>210</sup> Al-Snafi AE. *The pharmacology of Crocus sativus – A review.*
- <sup>211</sup> Jarukas L., Mykhailenko O., Baranauskaite J., Marksa M., Ivanauskas L. *Investigation of organic acids in saffron stigmas (Crocus sativus L.) extract by derivatization method and determination by GC/MS.*
- <sup>212</sup> Rameshrad M., Razavi BM, Hosseinzadeh H. *Saffron and its derivatives, crocin, crocetin and safranal: A patent review.*
- <sup>213</sup> Song YN, Wang Y., Zheng YH, Liu TL, Zhang C. *Crocins: A comprehensive review of structural characteristics, pharmacokinetics and therapeutic effects.*
- <sup>214</sup> Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H. *Bioactivity assessment and toxicity of crocin: A comprehensive review.*
- <sup>215</sup> Hashemi M., Hosseinzadeh H. *A comprehensive review on biological activities and toxicology of crocetin.*
- <sup>216</sup> Carmona M., Zalacain A., Salinas MR, Alonso GL. *A new approach to saffron aroma.*
- <sup>217</sup> Nanda S., Madan K. *The role of safranal and saffron stigma extracts in oxidative stress, diseases and photoaging: A systematic review.*
- <sup>218</sup> Galano A., Vargas R., Martínez A. *Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxide radical anion.*
- <sup>219</sup> Rahaiee S., Moini S., Hashemi M., Shojaosadati SA. *Evaluation of antioxidant activities of bioactive compounds and various extracts obtained from saffron (Crocus sativus L.): A review.*
- <sup>220</sup> Kumar S., Pandey AK. *Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview.*
- <sup>221</sup> Mira L., Fernandez MT, Santos M., Rocha R., Florêncio MH, Jennings KR. *Interactions of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity.*

- 
- <sup>222</sup> Hosseinzadeh H., Motamedshariaty V., Hadizadeh F. *Antidepressant effect of kaempferol, a constituent of saffron (Crocus sativus) petal, in mice and rats.*
- <sup>223</sup> Dominique Vervandier-Fasseur, Université de Bourgogne.
- <sup>224</sup> Boskabady MH, Farkhondeh T. *Antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of Crocus sativus L. and its main constituents.*
- <sup>225</sup> Xu GL, Li G., Ma HP, Zhong H., Liu F., Ao GZ. *Preventive effect of crocin in inflamed animals and in LPS-challenged RAW 264.7 cells.*
- <sup>226</sup> Kim JH, Park GY, Bang SY, Park SY, Bae SK, Kim Y. *Crocin suppresses LPS-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by upregulation of heme oxygenase-1 via calcium/calmodulin-dependent protein kinase 4.*
- <sup>227</sup> Cerdá-Bernad D., Valero-Cases E., Pastor JJ, Frutos MJ. *Saffron bioactives crocin, crocetin and safranal: Effect on oxidative stress and mechanisms of action.*
- <sup>228</sup> Mehri S., Abnous K., Mousavi SH, Shariaty VM, Hosseinzadeh H. *Neuroprotective effect of crocin on acrylamide-induced cytotoxicity in PC12 cells.*
- <sup>229</sup> Mozaffari S., Yasuj SR, Motaghinejad M., Motevalian M., Kheiri R. *Crocin acting as a neuroprotective agent against methamphetamine-induced neurodegeneration via CREB-BDNF signaling pathway.*
- <sup>230</sup> Park SW, Lee JG, Seo MK, Lee CH, Cho HY, Lee BJ, Seol W., Kim YH. *Differential effects of antidepressant drugs on mTOR signalling in rat hippocampal neurons.*
- <sup>231</sup> Hay N., Sonenberg N. *Upstream and downstream of mTOR.*
- <sup>232</sup> Abe N., Borson SH, Gambello MJ, Wang F., Cavalli V. *Mammalian target of rapamycin (mTOR) activation increases axonal growth capacity of injured peripheral nerves.*
- <sup>233</sup> Martinowich K., Lu B. *Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders.*

- 
- <sup>234</sup> Scharfman H., Goodman J., Macleod A., Phani S., Antonelli C., Croll S. *Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats.*
- <sup>235</sup> Huang Z., Zhong XM, Li ZY, Feng CR, Pan AJ, Mao QQ. *Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats.*
- <sup>236</sup> Tsai SJ, Hong CJ, Liou YJ. *Effects of BDNF polymorphisms on antidepressant action.*
- <sup>237</sup> Wang Y., Zhou S., Song X., Ding S., Wang B., Wen J., Chen C. *Study on antidepressant effect and mechanism of crocin mediated by the mTOR signaling pathway.*
- <sup>238</sup> Ochiai T., Shimeno H., Mishima K., Iwasaki K., Fujiwara M., Tanaka H., Shoyama Y., Toda A., Eyanagi R., Soeda S. *Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury in vitro and in vivo.*
- <sup>239</sup> Kyriakoudi A., O'Callaghan YC, Galvin K., Tsimidou MZ, O'Brien NM. *Cellular transport and bioactivity of a major saffron apocarotenoid, picrocrocin (4-( $\beta$ -D-Glucopyranosyloxy)-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde).*
- <sup>240</sup> Hazman Ö., Bozkurt MF. *Anti-inflammatory and antioxidative activities of safranal in the reduction of renal dysfunction and damage that occur in diabetic nephropathy.*
- <sup>241</sup> Baluchnejadmojarad T., Mohamadi-Zarch SM, Roghani M. *Safranal, an active ingredient of saffron, attenuates cognitive deficits in amyloid  $\beta$ -induced rat model of Alzheimer's disease: Underlying mechanisms.*
- <sup>242</sup> Rafieipour F., Hadipour E., Emami SA, Asili J., Tayarani-Najaran Z. *Safranal protects against beta-amyloid peptide-induced cell toxicity in PC12 cells via MAPK and PI3 K pathways.*
- <sup>243</sup> Shahmansouri N., Farokhnia M., Abbasi SH, Kassaian SE, Tafti AAN, Gougol A., Yekehtaz H., Forghani S., Mahmoodian M., Saroukhani S., Arjmandi-Beglar A., Akhondzadeh S. *A randomized, double-blind, clinical trial comparing the efficacy and safety of *Crocus sativus* L. with fluoxetine for improving mild to moderate depression in post percutaneous coronary intervention patients.*

- 
- <sup>244</sup> Akhondzadeh S., Fallah-Pour H., Afkham K., Jamshidi AH, Khalighi-Cigaroudi F. *Comparison of Crocus sativus L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: A pilot double-blind randomized trial [ISRCTN45683816]*.
- <sup>245</sup> Kashani L., Esalatmanesh S., Eftekhari F., Salimi S., Foroughifar T., Etesam F., Safiaghdam H., Moazen-Zadeh E., Akhondzadeh S. *Efficacy of Crocus sativus (saffron) in treatment of major depressive disorder associated with post-menopausal hot flashes: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial.*
- <sup>246</sup> Liu Z., Xu XH, Liu TY, Hong ZY, Urade Y., Huang ZL, Qu WM. *Safranal enhances non-rapid eye movement sleep in pentobarbital-treated mice.*
- <sup>247</sup> Masaki M., Aritake K., Tanaka H., Shoyama Y., Huang ZL, Urade Y. *Crocin promotes non-rapid eye movement sleep in mice.*
- <sup>248</sup> Dehghanmehr S., Shadadi H., Mansouri A., Arbabisarjou A. *Effect of oral saffron capsules on sleep quality in patients with diabetes at Zabol-Iran.*
- <sup>249</sup> Georgiadou G., Tarantilis PA, Pitsikas N. *Effects of the active constituents of Crocus Sativus L., crocins, in an animal model of obsessive-compulsive disorder.*
- <sup>250</sup> Hosseinzadeh H., Sadeghnia HR. *Protective effect of safranal on pentylenetetrazol-induced seizures in the rat: Involvement of GABAergic and opioids systems.*
- <sup>251</sup> Hosseinzadeh H., Noraei NB. *Anxiolytic and hypnotic effect of Crocus sativus aqueous extract and its constituents, crocin and safranal, in mice.*
- <sup>252</sup> Marder M., Estiú G., Blanch LB, Viola H., Wasowski C., Medina JH, Paladini AC. *Molecular modeling and QSAR analysis of the interaction of flavone derivatives with the benzodiazepine binding site of the GABA(A) receptor complex.*
- <sup>253</sup> Georgiadou G., Tarantilis PA, Pitsikas N. *Effects of the active constituents of Crocus sativus L., crocins, in an animal model of obsessive-compulsive disorder.*
- <sup>254</sup> Jackson PA, Forster J., Khan J., Pouchieu C., Dubreuil S., Gaudout D., Moras B., Pourtau L., Joffre F., Vaysse C., Bertrand K., Abrous H., Vauzour D., Brossaud J., Corcuff JB, Capuron L., Kennedy DO. *Effects of saffron extract supplementation on*



---

*mood, well-being, and response to a psychosocial stressor in healthy adults: A randomized, double-blind, parallel group, clinical trial.*

<sup>255</sup> Geromichalos GD, Lamari FN, Papandreou MA, Trafalis DT, Margarity M., Papageorgiou A., Papageorgiou A., Sinakos Z. *Saffron as a source of novel acetylcholinesterase inhibitors: Molecular docking and in vitro enzymatic studies.*

<sup>256</sup> Hosseinzadeh H., Talebzadeh F. *Anticonvulsant evaluation of safranal and crocin from *Crocus sativus* in mice.*

<sup>257</sup> Hosseinzadeh H., Sadeghnia HR. *Protective effect of safranal on pentylenetetrazol-induced seizures in the rat: involvement of GABAergic and opioids systems.*

<sup>258</sup> Queiroz LP. *Worldwide epidemiology of fibromyalgia.*

<sup>259</sup> Schmidt-Wilcke T., Clauw DJ. *Fibromyalgia: From pathophysiology to therapy.*

<sup>260</sup> Pae CU, Luyten P., Marks DM, Han C., Park SH, Patkar AA, Masand PS, Van Houdenhove B. *The relationship between fibromyalgia and major depressive disorder: A comprehensive review.*

<sup>261</sup> Gracely RH, Ceko M., Bushnell MC. *Fibromyalgia and depression.*

<sup>262</sup> Cordero MD, de Miguel M., Carmona-López I., Bonal P., Campa F., Moreno-Fernández AM. *Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in fibromyalgia.*

<sup>263</sup> Meeus M., Nijs J., Hermans L., Goubert D., Calders P. *The role of mitochondrial dysfunctions due to oxidative and nitrosative stress in the chronic pain or chronic fatigue syndromes and fibromyalgia patients: Peripheral and central mechanisms as therapeutic targets?*

<sup>264</sup> Maletic V., Raison CL. *Neurobiology of depression, fibromyalgia and neuropathic pain.*

<sup>265</sup> Sluka KA, Clauw DJ. *Neurobiology of fibromyalgia and chronic widespread pain.*

<sup>266</sup> Ghavidel-Parsa B., Bidari A., Amir Maafi A., Ghalebashi B. *The iceberg nature of fibromyalgia burden: The clinical and economic aspects.*

- 
- <sup>267</sup> Theoharides TC, Tsilioni I., Arbetman L., Panagiotidou S., Stewart JM, Gleason RM, Russell IJ. *Fibromyalgia syndrome in need of effective treatments.*
- <sup>268</sup> Häuser W., Walitt B., Fitzcharles MA, Sommer C. *Review of pharmacological therapies in fibromyalgia syndrome.*
- <sup>269</sup> Ablin JN, Häuser W. *Fibromyalgia syndrome: Novel therapeutic targets.*
- <sup>270</sup> Lawson K. *Potential drug therapies for the treatment of fibromyalgia.*
- <sup>271</sup> De Souza Nascimento S., DeSantana JM, Nampo FK, Ribeiro ÊA, da Silva DL, Araújo-Júnior JX, da Silva Almeida JR, Bonjardim LR, de Souza Araújo AA, Quintans-Júnior LJ. *Efficacy and safety of medicinal plants or related natural products for fibromyalgia: A systematic review.*
- <sup>272</sup> Lauche R., Cramer H., Häuser W., Dobos G., Langhorst J. *A systematic overview of reviews for complementary and alternative therapies in the treatment of the fibromyalgia syndrome.*
- <sup>273</sup> Hausenblas HA, Saha D., Dubyak PJ, Anton SD. *Saffron (Crocus sativus L.) and major depressive disorder: A meta-analysis of randomized clinical trials.*
- <sup>274</sup> Mazidi M., Shemshian M., Mousavi SH, Norouzy A., Kermani T., Moghiman T., Sadeghi A., Mokhber N., Ghayour-Mobarhan M., Ferns GA. *A double-blind, randomized and placebo-controlled trial of Saffron (Crocus sativus L.) in the treatment of anxiety and depression.*
- <sup>275</sup> Ghajar A., Neishabouri SM, Velayati N., Jahangard L., Matinnia N., Haghghi M., Ghaleiha A., Afarideh M., Salimi S., Meysamie A., Akhondzadeh S. *Crocus sativus L. versus citalopram in the treatment of major depressive disorder with anxious distress: A double-blind, controlled clinical trial.*
- <sup>276</sup> Milajerdi A., Bitarafan V., Mahmoudi M. *A review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to neurologic, cardiovascular and gastrointestinal diseases.*
- <sup>277</sup> Amin B., Hosseini S., Hosseinzadeh H. *Enhancement of antinociceptive effect by co-administration of amitriptyline and Crocus sativus in a rat model of neuropathic pain.*

- 
- <sup>278</sup> Noorbala AA, Akhondzadeh S., TahmacebiPour N., Jamshidi AH. *Hydroalcoholic extract of Crocus sativus L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: A double-blind, randomized pilot trial.*
- <sup>279</sup> Kashani L., Eslatmanesh S., Saedi N., Niroomand N., Ebrahimi M., Hosseinian M., Foroughifar T., Salimi S., Akhondzadeh S. *Comparison of saffron versus fluoxetine in treatment of mild to moderate postpartum depression: A double-blind, randomized clinical trial.*
- <sup>280</sup> Khazdair MR, Boskabady MH, Hosseini M., Rezaee R., Tsatsakis AM. *The effects of Crocus sativus (saffron) and its constituents on nervous system: A review.*
- <sup>281</sup> Schildkraut JJ. *The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence.*
- <sup>282</sup> Lentz SR. *Homocysteine and vascular dysfunction.*
- <sup>283</sup> Budge MM, De Jager C., Hogervorst E., Smith AD. *Total plasma homocysteine, age, systolic blood pressure, and cognitive performance in older people.*
- <sup>284</sup> Fava M., Borus JS, Alpert JE, Nierenberg AA, Rosenbaum JF. *Folate, vitamin B12, and homocysteine in major depressive disorder.*
- <sup>285</sup> Bottiglieri T., Laundry M., Crellin R., Toone BK, Carney MWP, Reynolds EH. *Monoamine metabolism in depression.*
- <sup>286</sup> Bottiglieri T. *Homocysteine and folate metabolism in depression.*
- <sup>287</sup> Koz ST, Etem EO, Baydas G., Yuce H., Ozercan HI, Kuloğlu T., Koz S., Etem A., Demir N. *Effects of resveratrol on blood homocysteine level, on homocysteine induced oxidative stress, apoptosis and cognitive dysfunctions in rats.*
- <sup>288</sup> Oldreive CE, Doherty GH. *Neurotoxic effects of homocysteine on cerebellar Purkinje neurons in vitro.*
- <sup>289</sup> Lipton SA, Kim WK, Choi YB, Kumar S., D'Emilia DM, Rayudu PV, Arnelle DR, Stamler JS. *Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor.*

- 
- <sup>290</sup> Li J., Qi Y., Liu H., Cui Y., Zhang L., Gong H., Li Y., Li L., Zhang Y. *Acute highaltitude hypoxic brain injury: Identification of ten differential proteins.*
- <sup>291</sup> Waldmeier PC, Spooren WP, Hengerer B. *Protects CGP 3466 dopaminergic neurons in lesion models of Parkinson's disease.*
- <sup>292</sup> Maklad A., Sharma A., Azimi I. *Calcium signaling in brain cancers: Roles and therapeutic targeting.*
- <sup>293</sup> Zhao Z., Zheng B., Li J., Wei Z., Chu S., Han X., Chu L., Wang H., Chu X. *Influence of crocetin, a natural carotenoid dicarboxylic acid in saffron, on L-type Ca<sup>2+</sup> current, intracellular Ca<sup>2+</sup> handling and contraction of isolated rat cardiomyocytes.*
- <sup>294</sup> Xue Y., Jin W., Xue Y., Zhang Y., Wang H., Zhang Y., Guan S., Chu X., Zhang J. *Safranal, an active constituent of saffron, ameliorates myocardial ischemia via reduction of oxidative stress and regulation of Ca<sup>2+</sup> homeostasis.*
- <sup>295</sup> Bukharaeva E., Shakirzyanova A., Khuzakhmetova V., Sitdikova G., Giniatullin R. *Homocysteine aggravates ROS-induced depression of transmitter release from motor nerve terminals.*
- <sup>296</sup> Hosseinzadeh H., Sadeghnia HR, Rahimi A. *Effect of safranal on extracellular hippocampal levels of glutamate and aspartate during kainic acid treatment in anesthetized rats.*
- <sup>297</sup> Lechtenberg MD, Schepmann M., Niehues N., Hellenbrand B., Wunsch B., Hensel A. *Quality and functionality of saffron: Quality control, species assortment and affinity of extract and isolated saffron compounds to NMDA and  $\sigma$ -1(Sigma-1) receptors.*
- <sup>298</sup> Khazdair MR, Boskabady MH, Hosseini M., Rezaee R., Tsatsakis AM. *The effects of Crocus sativus (saffron) and its constituents on nervous system: A review.*
- <sup>299</sup> Brown R., Gerbarg P., Ramazanov Z. *Rhodiola rosea: A Phytomedicinal overview.*
- <sup>300</sup> Panossian A., Wikman G., Sarris J. *Rosenroot (Rhodiola rosea): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy.*

- 
- <sup>301</sup> Tao H., Wu X., Cao J., Peng Y., Wang A., Pei J., Xiao J., Wang S., Wang Y. *Rhodiola species: A comprehensive review of traditional use, phytochemistry, pharmacology, toxicity, and clinical study.*
- <sup>302</sup> Shikov AN, Pozharitskaya ON, Makarov VG, Wagner H., Verpoorte R., Heinrich M. *Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications.*
- <sup>303</sup> Saratikov AS, Krasnov EA. *Chapter VIII: Clinical studies of Rhodiola. In Rhodiola Rosea is a valuable medicinal plant (Golden Root).*
- <sup>304</sup> Kelly GS. *Rhodiola rosea: A possible plant adaptogen.*
- <sup>305</sup> European Medicines Agency; Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). *Assessment Report on Rhodiola rosea L., Rhizoma Et Radix.*
- <sup>306</sup> Avula B., Wang YH, Ali Z., Smillie TJ, Filion V., Cuerrier A., Arnason JT, Khan IA. *RP-HPLC determination of phenylalkanooids and monoterpenoids in Rhodiola rosea and identification by LC-ESITOF.*
- <sup>307</sup> Panossian A., Wikman G., Sarris J. *Rosenroot (Rhodiola rosea): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy.*
- <sup>308</sup> Li Y., Pham V., Bui M., Song L., Wu C., Walia A., Uchio E., Smith-Liu F., Zi X. *Rhodiola rosea L.: An herb with anti-stress, anti-aging, and immunostimulating properties for cancer chemoprevention.*
- <sup>309</sup> Wang S., Feng Y., Zheng L., He P., Tan J., Cai J., Wu M., Ye X. *Rosavin: Research advances in extraction and synthesis, pharmacological activities and therapeutic effects on diseases of the characteristic active ingredients of Rhodiola rosea L.*
- <sup>310</sup> Stojcheva EI, Quintela JC. *The effectiveness of Rhodiola rosea L. preparations in alleviating various aspects of life-stress symptoms and stress-induced conditions – Encouraging clinical evidence.*
- <sup>311</sup> Panossian A., Wikman G. *Effects of adaptogens on the central nervous system and the molecular mechanisms associated with their stress-protective activity.*
- <sup>312</sup> Maslova LV, Kondratev B., Maslov LN, Lishmanov IB. *The cardioprotective and antiadrenergic activity of an extract of Rhodiola rosea in stress.*

- 
- <sup>313</sup> Lishmanov IB, Trifonova ZV, Tsibin AN, Maslova LV, Dementeva LA. *Plasma beta-endorphin and stress hormones in stress and adaptation.*
- <sup>314</sup> Lee WJ, Chung HH, Cheng YZ, Lin HJ, Cheng JT. *Rhodiola-water extract induces  $\beta$ -endorphin secretion to lower blood pressure in spontaneously hypertensive rats.*
- <sup>315</sup> Van Diermen D., Marston A., Bravo J., Reist M., Carrupt PA, Hostettmann K. *Monoamine oxidase inhibition by Rhodiola rosea L. roots.*
- <sup>316</sup> Amsterdam JD, Panossian AG. *Rhodiola rosea L. as a putative botanical antidepressant.*
- <sup>317</sup> Stancheva SL, Mosharraf A. *Effect of the extract of Rhodiola rosea L. on the content of the brain biogenic monoamines.*
- <sup>318</sup> Xia N., Li J., Wang H., Wang J., Wang Y. *Schisandra chinensis and Rhodiola rosea exert an anti-stress effect on the HPA axis and reduce hypothalamic c-Fos expression in rats subjected to repeated stress.*
- <sup>319</sup> Dinel AL, Guinobert I., Lucas C., Blondeau C., Bardot V., Ripoche I., Berthomier L., Pallet V., Layé S., Joffre C. *Reduction of acute mild stress corticosterone response and changes in stress-responsive gene expression in male Balb/c mice after repeated administration of a Rhodiola rosea L. root extract.*
- <sup>320</sup> Bystritsky A., Kerwin L., Feusner JD. *A pilot study of Rhodiola rosea (Rhodax) for generalized anxiety disorder (GAD).*
- <sup>321</sup> Darbinyan V., Aslanyan G., Amroyan E., Gabrielyan E., Malmström C., Panossian A. *Clinical trial of Rhodiola rosea L. extract SHR-5 in the treatment of mild to moderate depression.*
- <sup>322</sup> Mao JJ, Xie SX, Zee J., Soeller I., Li QS, Rockwell K., Amsterdam JD. *Rhodiola rosea versus sertraline for major depressive disorder: A randomized placebo-controlled trial.*
- <sup>323</sup> Konstantinos F., Heun R. *The effects of Rhodiola rosea supplementation on depression, anxiety and mood – A systematic review.*
- <sup>324</sup> Anghelescu IG, Edwards D., Seifritz E., Kasper S. *Stress management and the role of Rhodiola rosea: A review.*

- 
- <sup>325</sup> Chen QG, Zeng YS, Qu ZQ, Tang JY, Qin YJ, Chung P., Wong R., Hägg U. *The effects of Rhodiola rosea extract on 5-HT level, cell proliferation and quantity of neurons at cerebral hippocampus of depressive rats.*
- <sup>326</sup> Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Sayre LM, Perry G, Smith MA. Oxidative stress, antioxidants, and Alzheimer disease.
- <sup>327</sup> Ding X., Ouyang MA, Liu X., Wang RZ. *Acetylcholinesterase inhibitory activities of flavonoids from the leaves of Ginkgo biloba against brown planthopper.*
- <sup>328</sup> Kang SY, Lee KY, Sung SH, Park MJ, Kim YC. *Coumarins isolated from Angelica gigas inhibit acetylcholinesterase: Structure-activity relationships.*
- <sup>329</sup> Kim JW, Im S., Jeong HR, Jung YS, Lee I., Kim KJ, Park SK, Kim DO. *Neuroprotective effects of Korean red pine (Pinus densiflora) bark extract and its phenolics.*
- <sup>330</sup> Damiani E., Belaid C., Carloni P., Greci L. *Comparison of antioxidant activity between aromatic indolinonic nitroxides and natural and synthetic antioxidants.*
- <sup>331</sup> Zhang L., Yu H., Sun Y., Lin X., Chen B., Tan C., Cao G., Wang Z. *Protective effects of salidroside on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells.*
- <sup>332</sup> Lee Y., Jung JC, Jang S., Kim J., Ali Z., Khan IA, Oh S. *Antiinflammatory and neuroprotective effects of constituents isolated from Rhodiola rosea.*
- <sup>333</sup> Di Benedetto R., Vari R., Scazzocchio B., Filesì C., Santangelo C., Giovannini C., Matarrese P., D'Archivio M., Masella R.. *Tyrosol, the major extra virgin olive oil compound, restored intracellular antioxidant defences in spite of its weak antioxidative effectiveness.*
- <sup>334</sup> Wang H., Zhou G., Gao X., Wang Y., Yao W. *Acetylcholinesterase inhibitory-active components of Rhodiola rosea L.*
- <sup>335</sup> Li XD, Kang ST, Li GY, Li X., Wang JH. *Synthesis of some phenylpropanoid glycosides (PPGs) and their acetylcholinesterase/xanthine oxidase inhibitory activities.*

- 
- <sup>336</sup> Ding X., Ouyang MA, Liu X., Wang RZ. *Acetylcholinesterase inhibitory activities of flavonoids from the leaves of Ginkgo biloba against brown planthopper.*
- <sup>337</sup> Duman RS, Aghajanian GK, Sanacora G., Krystal JH. *Synaptic plasticity and depression: New insights from stress and rapid-acting antidepressants.*
- <sup>338</sup> Keller J., Gomez R., Williams G., Lembke A., Lazzeroni L., Murphy Jr. GM, Schatzberg AF. *HPA axis in major depression: Cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition.*
- <sup>339</sup> Zhao Y., Ma R., Shen J., Su H., Xing D., Du, L. *A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections.*
- <sup>340</sup> Badr AM, Attia HA, Al-Rasheed N. *Oleuropein reverses repeated corticosterone-induced depressive-like behavior in mice: Evidence of modulating effect on biogenic amines.*
- <sup>341</sup> Phillips C. *Brain-derived neurotrophic factor, depression, and physical activity: Making the neuroplastic connection.*
- <sup>342</sup> Taliaz D., Stall N., Dar DE, Zangen A. *Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis.*
- <sup>343</sup> Chai Y., Cai Y., Fu Y., Wang Y., Zhang Y., Zhang X., Zhu L., Miao M., Yan T. *Salidroside ameliorates depression by suppressing NLRP3-mediated pyroptosis via P2X7/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway.*
- <sup>344</sup> Galecki P., Talarowska M. *Inflammatory theory of depression.*
- <sup>345</sup> Voet S., Srinivasan S., Lamkanfi M., van Loo G. *Inflammasomes in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases.*
- <sup>346</sup> Yirmiya R., Winocur G., Goshen I. *Brain interleukin-1 is involved in spatial memory and passive avoidance conditioning.*
- <sup>347</sup> Ross FM, Allan SM, Rothwell NJ, Verkhratsky A. *A dual role for interleukin-1 in LTP in mouse hippocampal slices.*



- 
- <sup>348</sup> Huang Y., Smith DE, Ibáñez-Sandoval O., Sims JE, Friedman WJ. *Neuron-specific effects of interleukin-1 $\beta$  are mediated by a novel isoform of the IL-1 receptor accessory protein.*
- <sup>349</sup> Ariozi BI, Tastan B., Tarakcioglu E., Tufekci KU, Olcum M., Ersoy N., Bagriyanik A., Genc K., Genc S. *Melatonin attenuates LPS-induced acute depressive-like behaviors and microglial NLRP3 inflammasome activation through the SIRT1/Nrf2 pathway.*
- <sup>350</sup> Kanellopoulos JM, Delarasse C. *Pleiotropic roles of P2X7 in the central nervous system.*
- <sup>351</sup> Yue N., Huang H., Zhu X., Han Q., Wang Y., Li B., Liu Q., Wu G., Zhang Y., Yu J. *Activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome assembly in hippocampal glial cells mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors.*
- <sup>352</sup> Swanson KV, Deng M., Ting JP. *The NLRP3 inflammasome: Molecular activation and regulation to therapeutics.*
- <sup>353</sup> Bangratz M., Abdellah SA, Berlin A., Blondeau C., Guilbot A., Dubourdeaux M., Lemoine P. *A preliminary assessment of a combination of rhodiola and saffron in the management of mild–moderate depression.*
- <sup>354</sup> Wu Z., Fang Y. *Comorbidity of depressive and anxiety disorders: Challenges in diagnosis and assessment.*
- <sup>355</sup> Lamers F., van Oppen P., Comijs HC, Smit JH, Spinhoven P., van Balkom AJLM, Nolen WA, Zitman FG, Beekman ATF, Penninx BWJH. *Comorbidity patterns of anxiety and depressive disorders in a large cohort study: The Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA).*
- <sup>356</sup> Fava M, Rush AJ, Alpert JE, Balasubramani GK, Wisniewski SR, Carmin CN, Biggs MM, Zissok S., Leuchter A., Howland R., Warden D., Trivedi MH. *Difference in treatment outcome in outpatients with anxious versus nonanxious depression: A STAR\*D report.*
- <sup>357</sup> Clayton PJ, Grove WM, Coryell W., Keller M., Hirschfeld R., Fawcett J. *Follow-up and family study of anxious depression.*

---

<sup>358</sup> Fava M., Uebelacker LA, Alpert JE, Nierenberg AA, Pava JA, Rosenbaum JF. *Major depressive subtypes and treatment response.*

<sup>359</sup> Flint AJ, Rifat SL. Anxious depression in elderly patients: *Response to antidepressant treatment.*

<sup>360</sup> Davidson JR, Meoni P., Haudiquet V., Cantillon M., Hackett D. *Achieving remission with venlafaxine and fluoxetine in major depression: Its relationship to anxiety symptoms.*

<sup>361</sup> Saveanu R., Etkin A., Duchemin AM, Goldstein-Piekarski A., Gyurak A., Debattista C., Schatzberg AF, Sood S., Day CVA, Palmer DM, Rekshan WR, Gordon E., Rush AJ, Williams LM. *The International Study to Predict Optimized Treatment in Depression (iSPOT-D): Outcomes from the acute phase of antidepressant treatment.*