

## RICERCA E QUANTIFICAZIONE DI ALFA,BETA-TUJONE IN CAMPIONI BIOLOGICI IN UN CASO DI AVVELENAMENTO DOVUTO A UN INFUSO DI ARTEMISIA VULGARIS L.

Di Lorenzo C.<sup>1</sup>, Ferretti F.<sup>2</sup>, Colombo F.<sup>1</sup>, Moro E.<sup>1</sup>, Ceschi A.<sup>3,4</sup>, Frigerio G.<sup>1</sup>, Orgiu F.<sup>1</sup>, Lüde S.<sup>5</sup>, Restani P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia*

<sup>2</sup>*Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia*

<sup>3</sup>*Institute of Pharmacological Sciences of Southern Switzerland, Bellinzona, Svizzera*

<sup>4</sup>*Division of Clinical Pharmacology and Toxicology, Drug and Therapeutics Committee, Ente Ospedaliero Cantonale, Lugano, Svizzera*

<sup>5</sup>*National Poisons Centre, Tox Info Suisse, Associated Institute of the University of Zurich, Zurigo, Svizzera*

Le piante appartenenti al genere *Artemisia* (*Asteraceae*) sono largamente impiegate in Europa, Asia e Nord America per la preparazione di integratori alimentari e infusi per le loro proprietà benefiche. In particolare, ad *Artemisia vulgaris* vengono tradizionalmente attribuite proprietà digestive, antispasmodiche, antinfiammatorie e antipertensive. Pur appartenendo allo stesso genere, le diverse specie sono caratterizzate da un'ampia variabilità morfologica e fitochimica, che include più di 50 composti chimici differenti. Tra questi sono presenti l' $\alpha$  e il  $\beta$ -tujone, due chetoni monoterpene ritenuti responsabili di eventi avversi soprattutto a carico del sistema nervoso centrale (tra cui crisi epilettiche e convulsioni) associati all'inibizione dei recettori dell'acido gamma-amino butirrico (GABA) (1).

Scopo del presente studio è stata la ricerca e l'identificazione degli stereoisomeri  $\alpha$  e  $\beta$ -tujone in fluidi biologici di un soggetto di 49 anni giunto al pronto soccorso in stato maniacale comparso dopo l'ingestione di circa 1 L di infuso a base di *Artemisia vulgaris*. A tal fine è stata messa a punto una nuova metodica HPLC accoppiata a fluorimetro, che è stata utilizzata per il dosaggio degli analiti allo studio in campioni di sangue e urine prelevati il giorno del ricovero (giorno 0) e il giorno successivo (giorno 1). L'analisi è stata condotta in condizioni isocratiche e convalidata per i principali parametri analitici secondo le linee guida FDA. Le concentrazioni di  $\alpha,\beta$ -tujone riscontrate nel campione di siero prelevato il giorno 0 erano di  $27.73 \pm 3.48 \mu\text{g/mL}$  e nel giorno 1 di  $24.1 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ . Al contrario, nei campioni di urine analizzati il tujone è risultato non determinabile (<LOD).

I risultati ottenuti sono stati successivamente confermati analizzando gli stessi campioni biologici con un metodo gas-cromatografico (2), che ha permesso di confermare i quantitativi di  $\alpha$  e  $\beta$ -tujone determinati tramite HPLC.

In conclusione, le metodiche applicate hanno consentito di identificare e quantificare  $\alpha,\beta$ -tujone quali biomarker di tossicità.

Inoltre, è interessante notare che pur essendo  $\alpha$  e  $\beta$ -tujone presenti in differenti quantità in tutte le specie di *Artemisia*, gli effetti avversi descritti in letteratura sono stati attribuiti quasi esclusivamente ad *A. absinthium*, mentre nel caso descritto l'avvelenamento è stato associato ad assunzione di *A. vulgaris*. Oltre alla possibilità di una contaminazione accidentale da *A. absinthium*, nel presente lavoro verranno proposte e discusse altre ipotesi plausibili alla base dell'evento avverso descritto.

*This research received funding from the European Community's Seventh Framework Program*

(FP7/2007-2013) under grant agreement n° 245199, and has been carried out within the PlantLIBRA project ([www.plantlibra.eu](http://www.plantlibra.eu)). This paper does not necessarily reflect the Commission's views or future policy in these areas.

#### **Riferimenti bibliografici**

- (1) Höld, K.M., Sirisoma, N.S., Casida, J.E. (2001) Detoxification of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujones (the active ingredients of absinthe): site specificity and species differences in cytochrome P450 oxidation *in vitro* and *in vivo*. *Chemical Research Toxicology*, 14, 580-595.
- (2) Dybowski, M.P., Dawidowicz, A.L. (2016) The determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in human serum - Simple analysis of absinthe congener substance. *Forensic Sciences International*, 259, 188-192.