

ISOTIOCIANATI DELLE BRASSICACEAE E SOLFURO D'IDROGENO: IMPLICAZIONI FARMACOLOGICHE E TOSSICOLOGICHE

Citi V.¹, Piragine E.¹, Martelli A.¹, Testai L.¹, Pagnotta E.², Lazzeri L.², Calderone V.³

¹ Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia

² Crea, Centro di ricerca per le colture industriali, Bologna, Italia

³ Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia

Il solfuro di idrogeno (H₂S) negli anni passati era conosciuto solamente come gas tossico dal caratteristico odore di uova marce. Ad elevate concentrazioni H₂S causa effetti dannosi che vanno dall'irritazione agli occhi a grave tossicità polmonare, fino ad arrivare nei casi più seri, a perdita di conoscenza, arresto cardiopolmonare e asfissia. Tuttavia, è stato scoperto che H₂S è anche un gastrasmittitore endogeno prodotto principalmente da due enzimi piridossal-5'-fosfato dipendenti, cistationina-γ-liasi (CSE) e cistationina-β-sintasi (CBS), a partire dall'aminoacido L-cisteina (Cys), e dall'enzima mitocondriale mercaptopiruvato solfotransferasi. Come mediatore endogeno, H₂S a concentrazioni fisiologiche è in grado di promuovere numerosi effetti benefici a livello del sistema cardiovascolare, respiratorio e nervoso. Il nostro gruppo di ricerca ha recentemente scoperto che alcuni aril isotiocianati di sintesi rilasciano H₂S e promuovono un effetto antiipertensivo, attribuibile al rilascio di H₂S.

Molti isotiocianati naturali sono presenti nella famiglia delle *Brassicaceae*, a cui appartengono numerose specie edibili come broccoli (*Brassica oleracea* L.), senape nera (*Brassica nigra* L.), senape bianca (*Sinapis alba* L.) etc. Gli isotiocianati di origine naturale derivano dall'idrolisi di glucosinolati, per l'azione dell'enzima mirosinasi che scinde il legame tioglicosidico, portando alla liberazione di glucosio e della parte agliconica. I glucosinolati, e di conseguenza i corrispondenti isotiocianati, promuovono effetti farmacologici che in molti casi sono sovrapponibili a quelli esibiti da H₂S. Tuttavia la possibilità che questa classe di composti potesse essere in grado di rilasciare H₂S non è mai stata dimostrata.

In questo lavoro sono stati caratterizzati come H₂S-donor alcuni isotiocianati di origine naturale, presenti in molte specie di *Brassicaceae*: allil isotiocianato (AITC), presente nella *Brassica nigra* L., 4-idrossibenil isotiocianato (HBITC), presente nella *Sinapis alba* L., benzil isotiocianato, presente nel *Lepidium sativum* L. ed erucina (ERU) presente in *Brassica oleracea* L. ed *Eruca vesicaria* L. La donazione di H₂S è stata misurata con metodica elettrochimica "cell-free", che prevede l'incubazione del composto solforato alla concentrazione 1mM in PBS (pH7.4, in assenza o in presenza di Cys 4mM) e l'utilizzo di un elettrodo selettivo per H₂S connesso al detector amperometrico Apollo 4000 (WPI). La liberazione di H₂S da parte di composti selezionati è stata anche misurata all'interno di cellule di muscolatura liscia di aorta umana

(HASMC) e in cellule di adenocarcinoma pancreatico (AsPC-1) con metodo spettrofluorimetrico mediante la sonda WSP1.

L'incubazione di AITC ha portato alla donazione di H₂S di circa 6μM in presenza di Cys; in assenza dell'aminoacido infatti il rilascio di H₂S risulta significativamente inferiore (0,5μM). La donazione di H₂S Cys-dipendente, presumibilmente dovuta alla natura nucleofila del gruppo tiolico della Cys, è stata già osservata per alcuni H₂S-donor noti, quali GYY4137 e diallil disolfuro (DADS). Tra gli isotiocianati testati, il HBITC è risultato il più efficace H₂S-donor: in presenza di Cys, ha portato a un rilascio di H₂S di circa 10μM, mentre in assenza di Cys, la concentrazione di H₂S formatosi è risultata dimezzata. ERU infine, ha mostrato un profilo H₂S-donor Cys-dipendente, con la liberazione di circa 2μM di H₂S.

Nelle linee cellulari HASMC e AsPC-1, ERU ha mostrato un rilascio di H₂S concentrazione-dipendente, indicando che gli isotiocianati sono in grado di entrare e di accumularsi all'interno delle cellule e di sfruttare i tioli organici per rilasciare H₂S.

In conclusione, gli isotiocianati di origine naturale mostrano caratteristiche di "H₂S donor" e, alla luce delle proprietà farmacologiche e tossicologiche di H₂S, tale caratteristica farmacologica originale può rappresentare un meccanismo razionale sia di eventuali effetti terapeutici e tossici dei metaboliti secondari solforati.