

RANE E ROSPI: UN VIAGGIO TRA TRADIZIONE E INNOVAZIONE

Carlotta Di Cesare e Laura Miazzi

L'interesse scientifico, sia in campo farmacologico che cosmetico, si sta lentamente spostando dal regno vegetale verso quello animale. Una crescente attenzione verso veleni e tossine, in particolar modo di insetti, rettili e anfibi, ha reso possibile la creazione di una banca dati che raccoglie più di 173.000 specie che li producono. I “veleni” sono miscele complesse di molecole o enzimi che si sono evolute nel corso di milioni di anni e che sono spesso coinvolte nei processi biologici delle malattie. Molte delle proteine tossiche e dei peptidi che li compongono agiscono ad esempio su recettori cellulari e canali ionici, controllando il comportamento delle cellule⁽¹⁾. Il presente lavoro è dedicato ai rimedi antichi e alle proprietà terapeutiche odierne individuate nella rana e nel rospo, due famiglie di animali note per produrre sostanze velenose a livello della cute.

SCOPO DEL LAVORO E FONTI

Il lavoro di ricerca si sviluppa in due parti; la prima riguardante i rimedi del passato, per mezzo di una consultazione diretta dei classici del sapere farmaceutico a partire da *I Discorsi* di Pietro Andrea Mattioli fino ad arrivare alla *Farmacopea* del Campana; la seconda mediante la selezione di articoli scientifici identificati attraverso un motore di ricerca e una banca dati certificata (PubMed/Medline).

Il fine ultimo è quello di valutare una possibile continuità tra tradizione e innovazione e di comprendere se il passato possa essere un “input” per nuove e moderne scoperte farmacologiche.

APPROFONDIMENTO STORICO

Attualmente la ricerca farmaceutica non si basa solo sull'innovazione e sulle nuove scoperte; da tempo si è infatti capito che il passato può essere una preziosa fonte di ispirazione. Se ci guardiamo indietro possiamo accorgerci di quanti spunti ci offrono i rimedi naturali, vegetali e animali, di una medicina quasi arcaica.

Sono infatti noti esemplari animali molto interessanti, che un tempo sostituivano i nostri farmaci moderni; tra questi hanno particolarmente rilievo la rana e il rospo, ad oggi studiati nuovamente. Ecco quindi che diventano fondamentali tutte quelle opere di diverse epoche, dove sfogliandole possiamo notare come alcuni autori si siano soffermatati sulle proprietà benefiche di questi due animali, sfruttate in vario modo nella medicina tradizionale del tempo. Ripercorriamole.

Vi sono documenti che testimoniano come già nel 1500 la rana fosse utilizzata a sco-

⁽¹⁾ VenomKB, Venom Knowledge Base, Columbia University.

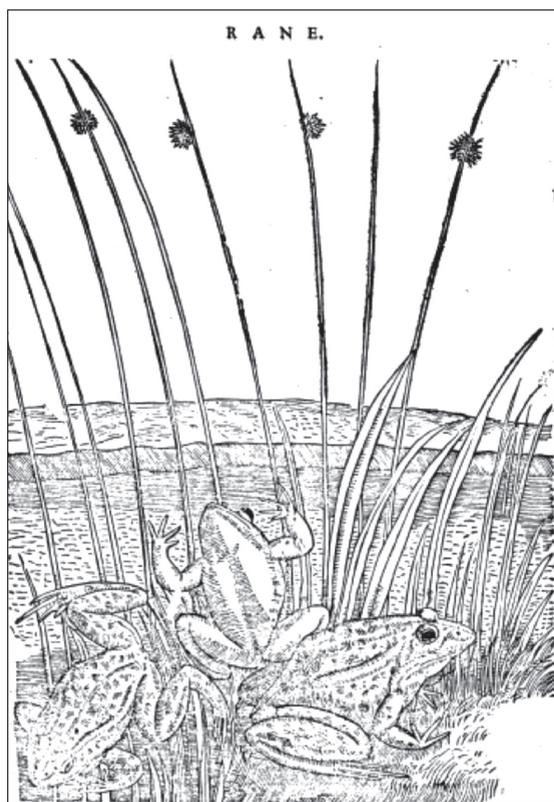


Fig. 1 – Rane, Mattioli, *I Discorsi* 1568.

no che la carne di ranocchia fosse velenosa; egli invece la definisce saporita e sottolinea come coloro che se ne siano cibati per lungo tempo si siano poi salvati da diversi mali, in particolare dai morsi di tutti gli animali velenosi. Mette invece in guardia dai rospi (Fig. 2): «Ritrovassene anchora di terrestri, le quali noi in Toscana chiamiamo Botte, & altri le chiamano Rospi. & di quelle, che particolarmente per restare ne i canneti si chiamano Calamite. Ma ambedue velenose, & mortali».

Nel *Tesoro della Sanità di Castore Durante* (1588)⁽³⁾ troviamo conferma di quanto scritto da Mattioli: anche in quest'opera viene spiegato come le rane lessate nell'olio possano essere la teriaca per tutti i morsi di serpi, la cura per il mal di denti, la lebbra e gli spasmi. Vi sono però nuove indicazioni su come scegliere l'esemplare di rana: Castore Durante ci suggerisce di selezionare le rane d'acqua, quelle grosse e ben formate e non generate nel tempo della pioggia. Raccomanda inoltre di non cibarsi di quelle morte a causa delle serpi o di quelle in amore perché non verrebbero digerite, ma potrebbero cau-

pi curativi; l'opera di Pietro Mattioli, *I Discorsi*, che ebbe moltissime riedizioni a partire dal Cinquecento, è per noi una ricca fonte di informazioni. In diverse pagine dell'edizione del 1568⁽²⁾ al Cap. XXV del Secondo libro di Dioscoride (Fig. 1) ci viene spiegato come risciacquando la bocca con un decotto a base di rane, acqua e aceto venisse curato il mal di denti; si poteva poi creare una teriaca con le carni di rane lessate in olio e sale come antidoto per i veleni di tutte le serpi. Queste venivano inoltre aggiunte in alcuni unguenti per favorire il transito intestinale oppure introdotte vive nell'olio, bollite e adoperate per la cura della gotta.

Molte parti delle rane erano preziose e utili, tanto che persino le ceneri, raccolte dalle carni bruciate, venivano poste sulle ferite aperte per impedire la continua fuoriuscita di sangue. Vi sono inoltre accenni che testimoniano il loro utilizzo per contrastare la caduta dei capelli o la rogna dei cavalli.

Mattioli in quest'opera si scaglia contro alcuni scrittori che sosteneva-

⁽²⁾ MATTIOLI P.A., *I Discorsi*, In Venetia, Appresso Vincenzo Valgrisi, 1568.

⁽³⁾ DURANTE C., *Il Tesoro della Sanità*, In Venetia, Appresso Andrea Muschio, 1588.

sare spasmi allo stomaco e sangue nelle urine.

Vi è anche una sorta di ricetta su come cucinarle: si prendano le cosce, scorticate prima e tenute in acqua fredda per ventiquattro ore e le si cucinino con erbe odorifere e aglio. Queste saranno un toccasana per i giovani e i colerici, ma non per le persone anziane e per i flemmatici.

Castore Durante fa poi un piccolo accenno alle piante che potrebbero essere contaminate dai rospi, tra queste vi è in particolare la salvia «[...] & qualche volta è velenosa, percioche s'infetta essa facilmente da i serpi, & da i rospi de gli horti con l'alito loro velenoso, & con la saluia pestifera». Prosegue indicando il rimedio «Si laui con vino, & per tutto la saluia deue essere accompagnata con la ruta ne gli horti, accioche non sia infettata da gl'animali velenosi, che si ricouerano volentieri sotto la saluia».

Conclude dicendo che se con la salvia sono doverosi opportuni accorgimenti, per le fragole invece non vi è nulla da temere in quanto, alte da terra, non vengono infettate dal veleno dei rospi.

Un'altra importante testimonianza la troviamo nell'*Universale Theatro Farmaceutico* di Antonio De Sgobbis (1667)⁽⁴⁾ il quale riporta un medicamento a base di sperma di rane, precedentemente inventato da Paracelso. Questo preparato veniva ottenuto mediante distillazione in un vaso esposto al calore del sole e ripetuta poi l'operazione di distillazione in alambicco. L'applicazione più comune era per la cura del mal di gambe e delle piaghe.

Per il rospo sono noti due impieghi assai particolari: il primo di questi era la pietra, che si diceva fosse contenuta nella testa del rospo vecchio, consigliata contro la peste e come antidoto per altri veleni; il secondo, non meno interessante, era una specie di amuleto formato da rospi essiccati, che venivano portati appesi al collo all'interno di un sacchetto di seta; le donne credevano che se lo avessero indossato avrebbero potuto eventualmente curare il tumore al seno.

Nell'opera di Niccolò Lemery, *Farmacopea Universale* (1742)⁽⁵⁾, troviamo due diverse tipologie di olio, quello di rana (*Oleum Ranarum*) e quello di sperma di rana (*Oleum de Spermate Ranarum*). Ecco un passo dove ci viene descritta (come fosse una ricetta) la procedura per ottenere il primo olio citato sopra: «Si prenderanno dieci o dodici rane vive, si taglieranno in pezzi e si metteranno in un vaso di terra vernicato, si verserà subito sopra di effe una libra e mezzo di olio di lino, si coprirà il vaso e si metterà in bagno maria bollente, vi si lascerà ovver ott'ore».

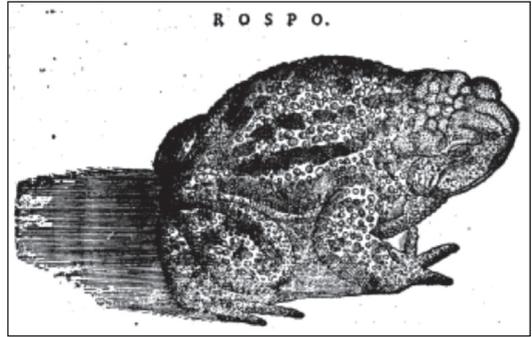


Fig. 2 – Rospo, Mattioli, *I Discorsi* 1568.

⁽⁴⁾ DE SGOBBIS A., *Universale Theatro Farmaceutico*, In Venetia, Presso Paolo Baglioni, 1682.

⁽⁵⁾ LEMERY N., *Farmacopea Universale*, In Venezia, Nella Stamperia dell'Hertz, 1735.



Fig. 3 – *Phyllobates terribilis*, detta anche “rana freccia”.

Questo unguento ottenuto poi con una specie di spremitura veniva prescritto contro le infiammazioni e la gotta oppure per stimolare il sonno applicandolo sulle tempie e facendo un opportuno massaggio. «*Si possono fare alla stessa maniera gli Oli di Botta o Rospo*».

Nell’opera *Trattato della buona scelta de’ medicamenti* di Daniello Lodovico (1767)⁽⁶⁾ si parla ancora ampiamente dello *Sperma Ranarum*. Lodovico ci spiega come i modi per conservare questa preparazione fossero due: il primo, considerato il meno efficiente, prevedeva l’aggiunta di allume alle uova di rana e la colatura per mezzo di un sacchetto di tela; il secondo, ritenuto migliore, consigliava di porre lo *Sperma Ranarum* in un vaso chiuso e di esporlo al sole durante l’estate, poiché così si sarebbe formato un liquore che si divideva dalla “feccia” più pesante che cadeva invece sul fondo del vaso. L’acqua così ottenuta si sarebbe potuta filtrare e conservare per due o tre anni.

Le applicazioni erano diverse: lo sperma di rana, così come l’olio, veniva usato ampiamente contro le infiammazioni, per contrastare la gotta e come “refrigerativo” sulle ustioni della pelle. Veniva inoltre applicato in associazione con il mercurio per la sifilide. Scrive Lodovico «*L’impiastro di rane di Vigo, preparato con il Mercurio è buono ne’ dolori cronici ne’ tumori duri Venerei e d’altra specie*».

Anche Antonio Campana nella sua *Farmacopea ferrarese*, che ebbe numerosissime edizioni dalla prima del 1798, introduce nei suoi elenchi di animali questi esemplari.

Ci tramanda infatti che la “*Rana Esculenta*” fosse nutritiva e che in antichità senza ragione venisse utilizzata nella formulazione di cerotti e che il “*Rospo, Rana bufo*”, seccato o quasi bruciato nel forno, fosse utilizzato per guarire la tigna, per far cadere le croste e aiutare le piaghe a guarire (*Farmacopea*, edizione 1841)⁽⁷⁾.

APPROFONDIMENTO SCIENTIFICO

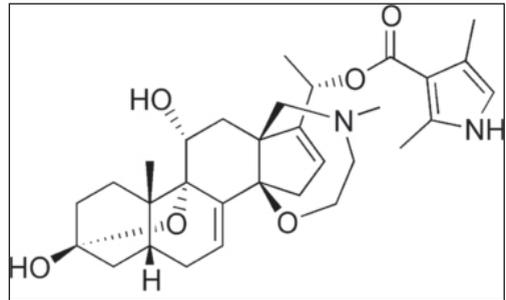
Rane della famiglia *Dendrobatidae*

Numerosi studi rivelano che la famiglia di rane tra le più velenose al mondo è quella delle *Dendrobatidae*. Nella pelle di queste rane infatti sono stati trovati più di 500 diver-

⁽⁶⁾ LUDOVICO D., *Trattato della buona scelta de’ Medicamenti*, In Venetia, Presso Nicolò Pezzana, 1767.

⁽⁷⁾ CAMPANA A., *Farmacopea Ferrarese*, Livorno, Fratelli Vignozzi, 1841.

Fig. 4 – Struttura chimica della batracotossina, alcaloide prodotto da *Phylllobates terribilis*.



si tipi di alcaloidi, composti azotati dotati di grandi effetti farmacologici in relazione all'assunzione di piccole dosi. La famiglia delle *Dendrobatidae* è costituita da circa 180 specie, tra le quali la più pericolosa è la *Phylllobates terribilis*, detta anche “rana freccia”, diffusa nelle foreste pluviali dell'America Centrale e Sud America (Fig. 3). Il nome deriva dal fatto che queste piccole rane dorate venivano utilizzate dalle tribù native colombiane per avvelenare le frecce, impiegate per la caccia di grossi mammiferi o di altre prede. Gli studi sulle tossine prodotte da queste rane cominciarono nel 1960 ad opera del dottor Bernhard Witkop e furono seguiti da successive ricerche, principalmente del dottor John W. Daly e colleghi dell'Istituto Nazionale per la Salute. Il loro lavoro iniziò con la scoperta della batracotossina in due specie del genere *Phylllobates* e rapidamente si estese ad includere numerose delle principali classi degli alcaloidi dei dendrobatidi⁽⁸⁾.

Origine delle tossine

Il meccanismo con cui le rane della famiglia delle *Dendrobatidae* producono il veleno non è ancora del tutto chiaro ma sembrerebbe che alcune specie siano altamente tossiche a causa della loro alimentazione⁽⁹⁾. Inizialmente si pensava che le rane sintetizzassero completamente da sé questi alcaloidi, o per lo meno partissero da alcuni precursori enzimatici contenuti nelle ghiandole granulari della loro cute. Studi hanno invece rivelato che le *Phylllobates terribilis* catturate, stabulate in terrario, presentavano livelli molto alti di batracotossina nella loro pelle, mentre quelle nate in cattività da genitori di cattura non ne possedevano⁽¹⁰⁾. Ciò sembra dovuto al fatto che le tossine sono immagazzinate nelle ghiandole epidermiche delle rane a partire da alcaloidi contenuti in alcuni artropodi come formiche, coleotteri e millepiedi. È infatti conosciuta la variabilità, in termini di tossicità, di differenti popolazioni di dendrobatidi della stessa specie; ad esempio *Den-*

⁽⁸⁾ MARKI F., WITKOP B., *The Venom of the Colombian Arrow Poison Frog Phylllobates bicolor*, *Experientia*, 1963, vol. XIX, pp. 329-376.

⁽⁹⁾ DALY J.W., KANEKO T., WILHAM J., GARRAFFO H.M., SPANDE T.F., ESPINOSA A., DONNELLY M.A., *Bioactive alkaloids of frog skin: Combinatorial bioprospecting reveals that pumiliotoxins have an arthropod source*, *PNAS*, 2002, vol. 99, pp. 13996-14001.

⁽¹⁰⁾ MEBS D., ALVAREZ J.V., POGODA W., TOENNES S.W., KOHLER G., *Poor alkaloid sequestration by arrow poison frogs of the genus Phylllobates from Costa Rica*, *Toxicon*, 2014, vol. 80, pp. 73-77.

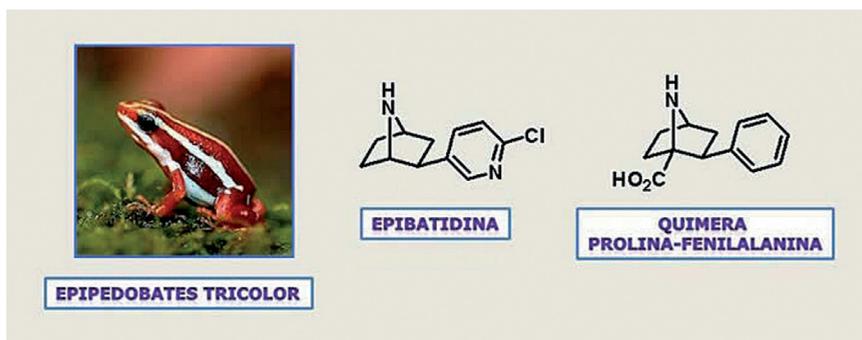


Fig. 5 – Struttura chimica della epibatidina, alcaloide prodotto da *Epipedobates tricolor*.

drobates auratus, introdotte nelle Hawaii, rispetto a quelle originarie di Panama differiscono notevolmente: la popolazione hawaiana è appunto priva di numerosi alcaloidi.

Alcaloidi bioattivi

La principale tossina prodotta dalla *Phyllobates terribilis* è la **batracotossina**⁽¹¹⁾, che è una delle più potenti nel regno animale (Fig. 4). La sua LD₅₀ nei ratti è di circa 2 µg/kg ed è da considerarsi circa quindici volte più potente del curaro. Le batracotossine sono alcaloidi steroidei cardiotoxici e neurotossici, prodotti dall'animale in condizioni di pericolo per difendersi da predatori, parassiti o patogeni; in piccolissime dosi sono in grado di provocare paralisi muscolare, a cui segue collasso cardiorespiratorio ed infine morte. Il meccanismo d'azione è basato su un legame irreversibile con i canali del sodio, la cui sovrastimolazione provoca desensibilizzazione recettoriale.

Anche altre molecole isolate dalla pelle di questi anfibi sono alcaloidi molto tossici: oltre alle batracotossine troviamo infatti le pumiliotossine e le epibatidine.

L'**epibatidina**⁽¹²⁾ è un alcaloide estratto dalla pelle di una rana dell'Ecuador (*Epipedobates tricolor*), facente parte della famiglia delle *Dendrobatidae* (Fig. 5). Questa molecola presenta proprietà analgesiche superiori a quelle della morfina ed esplica la propria attività analgesica fungendo da agonista dei recettori colinergici di tipo nicotinico a livello centrale. A causa dei potenti effetti avversi non viene utilizzata per fini terapeutici, ma può rappresentare un composto di partenza per ottenere farmaci antidolorifici.

La **pumiliotossina**⁽¹³⁾ è un'altra tossina prodotta dalle *Dendrobatidae*, che risulta essere meno tossica rispetto alla batracotossina. Questa molecola interferisce con la contrazio-

⁽¹¹⁾ BOSMANS F., MAERTENS C., VERDONCK F., TYTGAT J., *The poison Dart frog's batrachotoxin modulates Na^v 1.8*, FEBS Letters, 2004, vol. 577, pp. 245-248.

⁽¹²⁾ DALY J.W., GARRAFFO H.M., SPANDE T.F., DECKER M.W., SULLIVAN J.P., WILLIAMS M., *Alkaloids from frog skin: the discovery of epibatidine and the potential for developing novel non-opioid analgesic*, Natural Products Reports, 2000, vol. 17, pp. 131-135.

⁽¹³⁾ WATARU TAKADA, TOMOYO SAKATA, SATOSHI SHIMANO, YOSHINARI ENAMI, NAO-KI MORI, RITSUO NISHIDA, YASUMASA KUWAHARA, *Schelorbitid mites as the source of pumiliotoxins in dendrobatid frogs*, Journal of Chemical Ecology, 2005, vol. 31, pp. 2403-2415.



Fig. 6 – Rospo della famiglia *Bufonidae*.

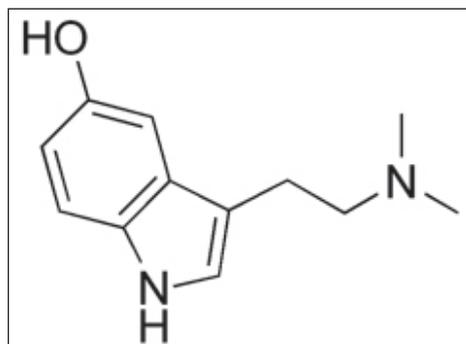


Fig. 7 – Struttura chimica della bufotenina, alcaloide prodotto da rospi del genere *Bufo*.

ne muscolare interagendo con i canali del calcio, provocando il blocco della contrazione e causando difficoltà nel movimento, paralisi parziali e, in dosi sufficienti, morte. Si può inoltre legare ai canali del sodio provocando iperattività, convulsioni e arresto cardiaco.

Rospi della famiglia *Bufonidae*

I Bufonidi sono rospi diffusi generalmente in tutti i continenti eccetto Oceania ed Antartide (Fig. 6). Nella medicina tradizionale cinese il veleno prodotto da questi animali è stato ampiamente utilizzato per il trattamento di scompensi cardiaci, per piaghe, bolle e gonfiori della pelle, per dolori addominali, vomito e diarrea⁽¹⁴⁾. Generalmente i rospi di questa famiglia secernono dalle ghiandole parotidi una miscela di sostanze velenose, quando vengono disturbati o si sentono in condizioni di pericolo; le sostanze che costituiscono questo veleno sono generalmente tossine dagli effetti allucinogeni anche per l'uomo. La tossina principale, isolata dalla cute di rospo del genere *Bufo*, è la **bufotenina**, la cui struttura differisce da quella della serotonina per la presenza di due gruppi metilici legati all'azoto (Fig. 7). Questa molecola sembra avere proprietà psicoattive, ed in particolare sembra provocare allucinazioni, euforia e dissociazione dalla realtà, come la 5-metossi-N,N-dimetiltriptamina⁽¹⁵⁾, una triptamina psichedelica che agisce stimolando i recettori serotoninergici 5HT_{1A} e 5-HT_{2A} e inibendo gli enzimi MAO, responsabili del metabolismo della serotonina. Sull'estratto etanoloico del veleno dei rospi del genere *Bufo*

⁽¹⁴⁾ YING-HUI DAI, BO SHEN, MING-YU XIA, AN-DONG WANG, YU-LIN CHEN, DONG-CHUN LIU, DONG WANG, *A New Indole Alkaloid from the Toad Venom of Bufo bufo gargarizans*, *Molecules*, 2016, vol. 21, pp. 349.

⁽¹⁵⁾ ADAM L. HALBERSTADT, *Behavioral and pharmacokinetic interactions between monoamine oxidase inhibitors and the hallucinogen 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine*, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2016, vol. 143, pp. 1-10.

è stata inoltre testata l'attività anti-osteosarcoma⁽¹⁶⁾ ed è emerso che l'estratto etanolicò presenta la capacità di inibire la proliferazione delle cellule U2OS dell'osteosarcoma, in particolare arrestando le cellule nella fase G₀/G₁ e prevenendo la progressione delle cellule nella fase S.

CONCLUSIONI

Già in passato si era capito che questi esemplari possedevano proprietà curative e potevano dare benefici terapeutici. Eppure a tutt'oggi non è ancora chiaro il meccanismo d'azione e a quali molecole fossero deputati gli effetti; l'aspetto più complesso, nel riesame delle antiche preparazioni, è infatti quello legato alla parte galenica, ovvero alle metodologie preparative che prevedevano passaggi in cui questi prodotti della secrezione di animali velenosi subiscono modificazioni. Non è facilmente comprensibile quale parte dell'attività sia legata alle molecole originali e quanta ai sottoprodotti che si formano. Tuttavia oggi, dalla pelle di rana e rospo, sono stati isolati numerosi alcaloidi in grado di dare attività biologica, dei quali è noto il meccanismo d'azione.

Carlotta Di Cesare

carlotta.dicesare@student.unife.it

Laura Miazzi

laura.miazzi@student.unife.it

Università degli Studi di Ferrara

FROGS AND TOADS: A JOURNEY BETWEEN TRADITION AND INNOVATION

ABSTRACT

This research contains historical and pharmacological investigation involving two animal species: the frog and the toad. It shows that in ancient times the meat of these animals was used to treat various diseases and compares these data with recent scientific studies that reveals the presence of alkaloids in the skin of these amphibians.

⁽¹⁶⁾ GUANGXING CHEN, XUEFENG JIANG, JINGYI LI, GUANGJIE DUAN, LIU YANG, YING ZHANG, FUYOU WANG, *Study on Anti-Osteosarcoma Activity of Ethanol Extract of Venenum Bufonis In Vitro*, African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2014, vol. 1, pp. 73-77.