

# Il valore aggiunto delle piante ‘bioattive’ nella farmaceutica e nella nutraceutica

ENEA ha acquisito nel tempo competenze di punta nella produzione di biofarmaci in sistemi di produzione vegetali. Nella serra a contenimento e nelle camere di crescita, mediante tecnologie di coltivazione ‘indoor’ di ultima generazione, la Divisione Biotecnologie e Agroindustria affronta la sperimentazione di biofarmaci e molecole bioattive derivate da pianta

DOI 10.12910/EAI2020-017

di **Olivia Costantina Demurtas, Silvia Massa, Eugenio Benvenuto**, *Laboratorio Biotecnologie, ENEA*

**L**e piante sono da sempre una sorgente di molecole utili per l'uomo, prodotte semplicemente da acqua e nutrienti di base attraverso le complesse e numerose vie biosintetiche che la cellula vegetale possiede. Nella storia della farmacologia, le piante cosiddette “medicinali” hanno messo in luce il loro fondamentale ruolo come fonte di molecole terapeutiche e oggi giorno, rappresentano ancora una fonte importante e, in alcuni casi insostituibile, nella progettazione di farmaci, per l'identificazione di nuovi composti guida (‘lead-compounds’) farmaceutici. In questa vasta area di ricerca, per definire l'uso delle piante con applicazioni specificamente farmacologiche o nutraceutiche, è stato coniato il termi-

ne ‘Plant Molecular Pharming’ (PMP). **A far data dai primi anni ‘90, Il trasferimento di geni nelle cellule vegetali ha aperto la strada allo sfruttamento del potenziale delle piante come biofabbriche per il ‘design’ di molecole ad elevato valore aggiunto.** Queste molecole possono essere chimicamente riferite alla classe delle grandi molecole o biofarmaci (Peso Molecolare al di sopra di 5000 Dalton) e alla classe delle piccole molecole, quando si tratta di dimensioni inferiori. L'ingegnerizzazione della cellula vegetale per la produzione di molecole di interesse farmacologico, siano esse già naturalmente presenti nella pianta (endogene), oppure di diversa origine (eterologhe o ricombinanti come, ad esempio, anticorpi, proteine tera-

peutiche, enzimi, antigeni vaccinali) attrae ricercatori e tecnologi con diverse competenze per le peculiari caratteristiche vantaggiose delle ‘green biofactories’ rispetto alle ‘conventional cell factories’, ossia i fermentatori industriali basati su cellule batteriche, di lievito, di insetto o di mammifero, attualmente utilizzati per produrre molti farmaci tra cui, ad esempio, l'attuale insulina somministrata ai diabetici.

## Produzione di grandi molecole

Impiegando le opportune metodologie, le cellule vegetali sono in grado di sintetizzare ed assemblare molecole proteiche molto complesse (aprendo alla possibilità di produrre farmaci



Coltivazione idroponica di speciali varietà di pomodoro 'biofortificato' nei laboratori della Divisione Biotecnologie e Agroindustria

biosimilari e/o molecole più performanti definite 'biobetters'), caratterizzate da bassi costi, possibilità di facile scalabilità, sicurezza intrinseca (assenza di patogeni pericolosi per l'uomo) e che hanno ottenuto l'approvazione all'uso clinico (ad es. 'Eleyso' della Protalix/Pfizer, enzima per il trattamento della malattia di Gaucher e il vaccino anti-influenzale di Medicago Inc.). **Le piante dimostrano, quindi, di essere competitive per costi e qualità del prodotto nei confronti dei sistemi tradizionali permettendo una maggiore accessibilità alle cure in contesti generali o particolarmente svantaggiati.**

ENEA ha acquisito nel tempo competenze di punta nella produzione di biofarmaci in sistemi di produzione vegetali. Nella serra a contenimento e nelle camere di crescita, mediante tecnologie di coltivazione 'indoor' di ultima generazione, la Divisione Biotecnologie e Agroindustria affronta la sperimentazione di biofarmaci derivati da pianta.

Gli anticorpi monoclonali rappresen-

tano la principale classe di molecole da utilizzare sia come terapeutici sia come reagenti diagnostici. Utilizzando diverse metodologie e formati di colture vegetali, sono state messe a punto, ad esempio, metodologie per esprimere un anticorpo monoclonale diretto verso un marcatore implicato nella vascolarizzazione dei tumori, anticorpi coniugati a citochine per l'immunoterapia di alcuni tipi di tumore, anticorpi-antimicrobici (contro le patologie fungine), anticorpi diagnostici per le filiere agroalimentari (micotossine).

Utilizzando la pianta come biofabbrica, sono stati anche sviluppati vaccini veterinari sperimentali e metodologie per il potenziamento e la somministrazione di vaccini basate sull'uso di proteine vegetali o di capsidi di virus privi del loro genoma ('Virus-Like Particles') in grado di funzionare da vaccino intrinsecamente sicuro, o per trasportare molecole farmacologicamente attive in siti bersaglio.

In un approccio di immunoterapia per i tumori associati ad infezione da Papillomavirus Umano (HPV, respon-

sabile del carcinoma cervicale e di altri tumori a carico di altri distretti mucosali) in stretta collaborazione con il Laboratorio Tecnologie Biomediche e l'Istituto Nazionale Tumori "Regina Elena" è stato così prodotto un vaccino terapeutico sperimentale con una versione attenuata dell'oncoproteina E7 di HPV che, dopo espressione in pianta, è capace di indurre risposte immunitarie citotossiche efficaci nell'inibire la crescita di tumori sperimentali in modelli animali.

Produzione di 'piccole' molecole

La Divisione Biotecnologie e Agroindustria sviluppa e potenzia attività ricerca anche nel settore dei "nutraceutici", termine coniato per indicare principi nutritivi con funzioni benefiche per la salute dell'uomo che hanno una dimensione molecolare più ridotta e che rappresentano molecole naturali prodotte dal cosiddetto metabolismo secondario. Studiando le vie biosintetiche del metabolismo di queste molecole si cerca di esaltare la

produzione delle molecole di interesse mediante tecnologie di ingegneria metabolica. Tali tecnologie prevedono generalmente l'introduzione in sistemi vegetali e/o microbici di geni che codificano o controllano enzimi responsabili della produzione delle molecole di interesse. Grazie a questo tipo di intervento, le rese di molecole bioattive diventano significative con implicazioni non trascurabili, sulla sostenibilità del prodotto a tutto tondo, soprattutto in termini economici e ambientali.

**Una classe di biomolecole di interesse nutraceutico ampiamente studiata, in cui la Divisione Biotecnologie e Agroindustria ha competenze di primo livello, è rappresentata dai carotenoidi e molecole derivate, denominate apocarotenoidi, importanti pigmenti che variano dal giallo, all'arancio, al rosso, che si trovano in**

**grandi quantità in carote, pomodori, stigmi di zafferano, solo per citarne alcuni.** Oltre alle note proprietà antiossidanti di questa classe di molecole, alcune di esse sono precursori della vitamina A, essenziale per la vista ed altre hanno funzioni più specifiche che le rendono particolarmente attraenti per lo sviluppo di nuovi nutraceutici. Ad esempio, le crocine, apocarotenoidi responsabili del colore rosso degli stigmi di zafferano (*Crocus sativus*), svolgono funzioni di protezione contro danni ossidativi alla retina, proteggendola da malattie degenerative invalidanti.

Mediante approcci di ingegneria metabolica, sono stati isolati e trasferiti geni di zafferano coinvolti nella via biosintetica delle crocine in organismi 'ospite' che contengono i carotenoidi precursori delle crocine, come piante di tabacco (*Nicotiana benthamiana*) e ceppi di



lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) ingegnerizzati, ottenendo in questo modo la produzione di molecole ad altissimo valore aggiunto come le crocine al di fuori delle cellule che compongono i tessuti dello stigma di zafferano.

### Una 'rivoluzione verde' per l'agricoltura in un mercato che vale 100 miliardi di dollari

Nei prossimi due anni il settore delle molecole bioattive dovrebbe superare i 100 miliardi di dollari. Le nuove tecnologie possono infatti fornire versioni nuove o migliorate dei farmaci esistenti, accelerando il tempo di arrivo sul mercato aprendo il settore a nuove soluzioni, finora mai immaginate. La "rivoluzione verde" sta emergendo anche in questo settore e le piante e le cellule vegetali stanno decollando in applicazioni dove i vantaggi rispetto ai sistemi di espressione eucariotici convenzionali rendono le biofabbriche vegetali la scelta preferita. L'idea di produrre proteine eterologhe (esogene, non vegetali) nelle piante per ottenere prodotti farmaceutici derivati da piante nasce circa 30 anni fa ed è rapidamente avanzata con una vasta letteratura che ha messo in luce che la produzione nelle piante di proteine per applicazioni biomediche è un approccio efficace nell'area della produzione di biofarmaci. Parallelamente, grazie alla decifrazione di molti genomi vegetali insieme alla più grande scoperta biotecnologica del secolo, la tecnologia CRISPR per il 'genome editing', si aprono nuove prospettive per la generazione di nuove molecole bioattive di

origine vegetale, con applicazioni che vanno dal settore farmaceutico all'agroindustria. La ricca miniera di molecole che è possibile ottenere dalle piante è ancora largamente inesplorata mentre la richiesta di molecole complesse sintetizzate dalla cellula vegetale troverà nelle biotecnologie avanzate una risposta efficace, sostenibile e possibilmente in tempi molto rapidi. D'altra parte, le esigenze derivate dai numeri di aumento demografico previsti nella metà del secolo, unite alle emergenze di un pianeta in sofferenza per crisi ambientali, alimentari e sanitarie di ogni tipo, impongono alla ricerca un passo veloce e proporzionato alle richieste che le diverse situazioni impongono. In questo scenario, utilizzare l'enorme diversità genetica delle specie vegetali è fondamentale non solo per l'identificazione di nuove molecole bioattive di interesse per l'uomo, ma soprattutto per sviluppare un sistema agronomico sostenibile in grado di far fronte ai mutamenti climatici e all'attacco di nuovi patogeni. La Divisione Biotecnologie e Agroindustria sviluppa e coordina importanti progetti di ricerca nel settore della biodiversità in ambito agronomico. Questo al fine di identificare caratteri fondamentali da utilizzare in programmi di miglioramento genetico mirato alle nuove esigenze della agricoltura sostenibile.

## Uno sguardo al futuro: "agricoltura cellulare"

In futuro l'agricoltura e la produzione alimentare dovranno subire cambiamenti sostanziali per affrontare il problema di produrre cibo sufficiente per una popolazione mondiale in continua crescita e per ridurre la pressione negativa sull'ambiente dell'agricoltura convenzionale. Per questi motivi **inizierà anche ad emergere il concetto di "agricoltura cellulare", per la produzione biotecnologica di prodotti cellulari vegetali a fini alimentari.** Le cellule vegetali in coltura con la loro diversità biochimica, da sempre sfruttata dall'uomo per promuovere la salute attraverso l'alimentazione e la farmacologia e che iniziano ad emergere come ingredienti per la produzione di cosmetici ed integratori, potrebbero ora rappresentare una vera e propria componente alimentare ricca di sostanze bioattive in grado di sostenere esigenze salutistiche. Non sembra lontana quindi l'idea di concentrare in un cibo del futu-

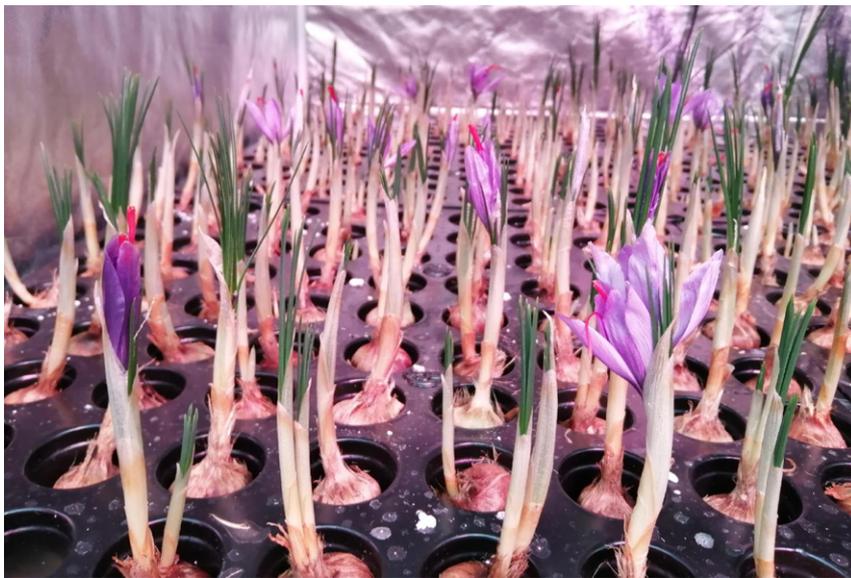


Fig. 1 Coltivazione di zafferano "fuori suolo", con illuminazione artificiale a LED, in ambiente confinato che permette una qualità 'pharma-grade'

ro, modellato ad hoc, per esempio, una classe di molecole ad alto valore nutraceutico come le antocianine, molecole responsabili della colorazione rossa-viola-blu di fragole, uva e

mirtilli, che hanno spiccate proprietà antiossidanti, in grado quindi di contrastare l'invecchiamento cellulare e rappresentare un antidoto agli stress cui siamo perennemente sottoposti.

### BIBLIOGRAFIA

1. Massa S, Presenti O, Benvenuto E., Engineering Plants for the Future: Farming with Value-Added Harvest. In: Progress in Botany, Springer, Berlin, Heidelberg, 2018; pp. 1-44
2. Demurtas OC, Frusciantè S, Ferrante P, Diretto G, Azad NH, Pietrella M, Aprea G, Taddei AR, Romano E, Mi J, Al-Babili S, Frigerio L, Giuliano G., Candidate enzymes for saffron crocin biosynthesis are localized in multiple cellular compartments. Plant Physiology, 2018, 177:990-1006

### PROGETTI

Developing Multipurpose Nicotiana Crops for Molecular Farming using New Plant Breeding Techniques  
Il progetto NEWCOTIANA

PROduzione di Composti BIOattivi di ZAFFerano in Lievito - Il progetto PROBIOZAFF

Produrre zafferano con purezza di grado farmaceutico - Il progetto IDROZAFF

Dalle piante vaccini più efficaci per le malattie virali aviarie - Il progetto AVIAMED

Approccio BIOtecnologico integrato per la messa a punto di farine ad elevate proprietà tecnologiche con proteine del GLUTine celiachia-SAFE - Il progetto BIOGLUSAFE

Molecular Farming, piante come "biofabbrica" di farmaci antitumorali immunoterapici