

Fitocomplessi con potenziale antiossidante estratti da *Gentiana lutea* e *Hypericum perforatum*, piante autoctone del Parco Nazionale del Pollino

Maria Grazia Cipriani¹, Maria Rosaria Perri¹, Antonio Quattieri², Selene De Benedittis², Davide Mainieri¹

¹ CNR-ISAFOM (Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo), Via Cavour 4/6, 87036, Rende (CS), Italia

² CNR-IRIB (Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Ricerca e l'Innovazione Biomedica), c.da Burga, Piano Lago, 87050, Mangone (CS), Italia

INTRODUZIONE

Il persistente stress ossidativo, ovvero lo squilibrio tra sostanze pro- ed anti-ossidanti ai danni di cellule e tessuti, è considerato il principale responsabile del processo di invecchiamento. Il massiccio del Pollino, per la sua origine orografica, è ricco di piante che sono state considerate da moltissimo tempo curative e sintetizzano metaboliti secondari dal riconosciuto potere antiossidante. In questo lavoro sono state analizzate foglie, fiori e frutti di popolazioni di *Gentiana lutea* e *Hypericum perforatum* per evidenziare il loro potere anti ossidante.



Il materiale vegetale, prelevato a diverse altitudini con caratteristiche pedologiche differenti e proveniente sia da piante spontanee che coltivate, è stato lasciato essiccare in condizioni controllate e successivamente estratto mediante macerazione in EtOH 80% per 24 h. Il profilo fitochimico è stato valutato mediante TLC, HPLC ed attraverso il dosaggio dei polifenoli totali. L'attività antiossidante è stata testata mediante saggio ABTS* e bioautografia DPPH*.



MATERIALI E METODI

RISULTATI

Profilo Fitochimico (TLC)

L'analisi TLC mostra che i profili dei tessuti delle singole piante sono sovrapponibili ad eccezione di quelli delle piante di *H. perforatum* (Fig. 1A) prelevati a 790 m s.l.m. (evidenziate) e di *G. lutea* (Fig. 1B) prelevati a 1500 m s.l.m. In *H. perforatum* si osserva un profilo differente sia nei campioni di foglia che nei campioni di frutti, molto probabilmente queste due piante potrebbero appartenere ad un'altra specie. Nei campioni di *G. lutea* prelevati 1500 m s.l.m. è evidente una banda che è presente anche nelle piante coltivate a 1000 m s.l.m., i cui semi sono stati prelevati a 1500 m s.l.m. Sono in corso analisi di identificazione della banda e di genotipizzazione.

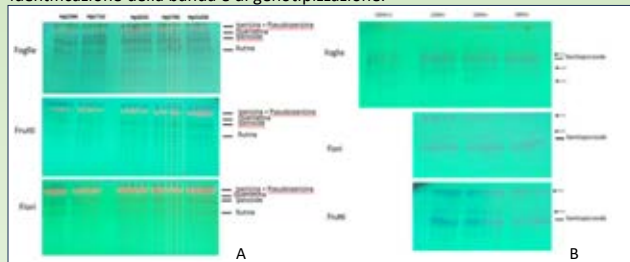


Fig.1: Profili cromatografici ottenuti mediante TLC di *H. perforatum* (1A) e *G. lutea* (1B)

Dosaggio dei polifenoli totali

Il contenuto di polifenoli totali per *H. perforatum* (Fig. 3A) risulta essere maggiore in foglie, le più esposte a stress ambientali, seguito da fiori e frutti ed esistono differenze significative di contenuto di polifenoli alle diverse quote per tutti i campioni prelevati. Si può notare che i campioni prelevati a 790 m s.l.m. presentano un basso contenuto di polifenoli in tutti i tessuti, probabilmente perché il sito di campionamento è sottoposto ad inquinamento persistente. Sono in programma analisi per verificare questa ipotesi. Per *G. lutea* (Fig. 3B) l'andamento del contenuto dei polifenoli appare piatto con qualche eccezione di significatività.

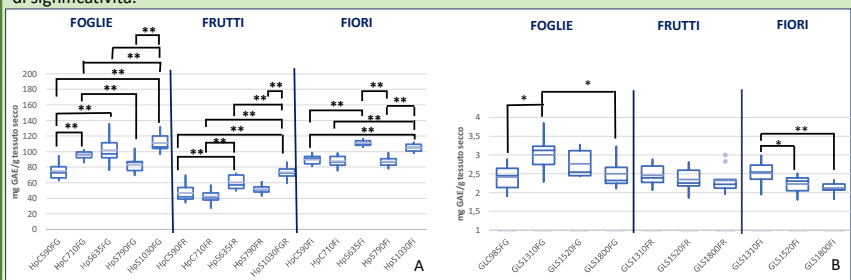


Fig.3: Contenuto di polifenoli in *H. perforatum* (3A) e *G. lutea* (3B) indicato come mg equivalenti di Acido Gallico per g di tessuto secco. Differenze statisticamente significative per ** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$ (Test Fisher, ANOVA).

Profilo Fitochimico (HPLC)

Le analisi in HPLC mostrano un differente profilo cromatografico nei diversi tessuti di *G. lutea* (Fig. 2A) e *H. perforatum* (Fig. 2B). Esistono differenze qualitative tra le diverse quote in tutti i tessuti dovute, molto probabilmente, ai differenti stress biotici e abiotici. Nei cromatogrammi delle foglie di *G. lutea* prelevate a 1500 m s.l.m. e in quelli delle foglie delle piante coltivate a 1000 m s.l.m. sono presenti un picco ed altre piccole differenze non rilevabili nei profili dei campioni prelevati alle altre quote. Questi risultati confermano quelli ottenuti in TLC, pertanto si può ipotizzare che questa popolazione si sia evoluta in quel sito.

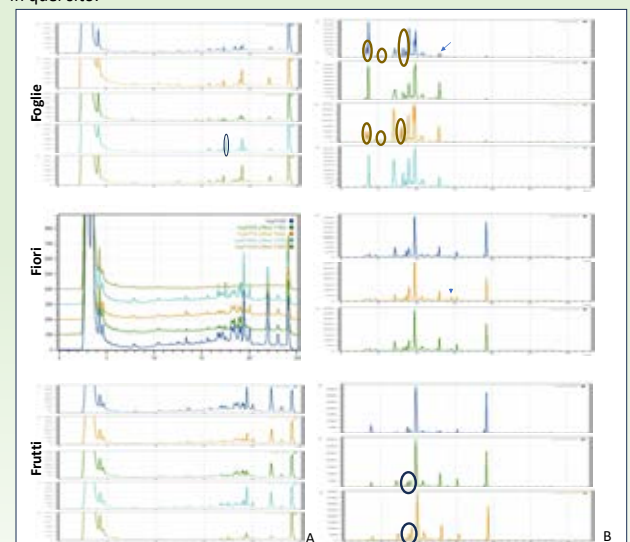


Fig.2: Profili cromatografici ottenuti mediante HPLC di *G. lutea* (2A) e *H. perforatum* (2B)

Attività antiossidante

Nell'analisi di decolorazione di ABTS* gli estratti dei campioni di *H. perforatum* (diluiti 1:200.000) (Fig. 4A) mostrano una significatività statistica alle diverse quote, mentre quelli di *G. lutea* (diluiti 1:200.000) (Fig. 4B) mostrano solo una tendenza rilevabile in foglia. Questo dato è coerente con il contenuto di polifenoli, sostanze notoriamente antiossidanti. L'analisi di bioautografia con DPPH* conferma l'elevato potenziale di queste due piante e un maggior potere antiossidante di *H. perforatum* (Fig. 5A).

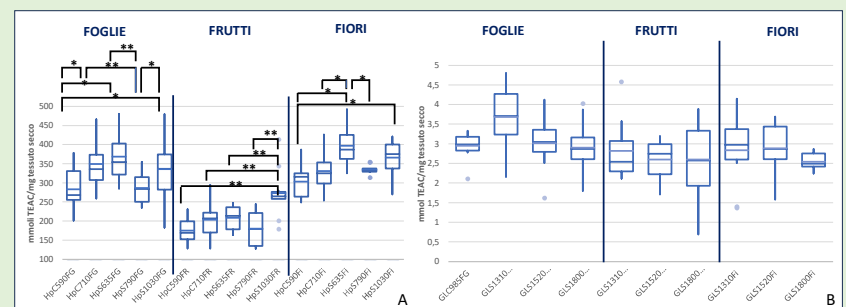


Fig.4: Saggio ABTS* su estratti di *H. perforatum* (0,5 µg/mL) (4A) e *G. lutea* (5 µg/mL) (4B). Differenze statisticamente significative per ** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$ (Test Fisher, ANOVA).

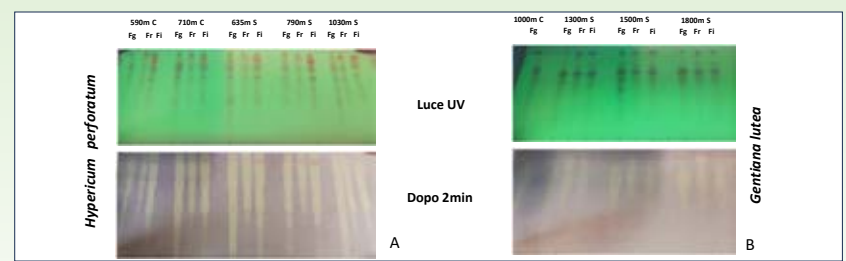


Fig.5: Saggio bioautografico con DPPH*. Dopo soli 2 min dalla colorazione con DPPH* appare uno smear in tutti i campioni analizzati ed è più intenso in *H. perforatum* (5A).

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

G. lutea e *H. perforatum* sono piante ricche di sostanze antiossidanti come è dimostrato dall'altissimo potere riducente su ABTS* e DPPH* e si candidano ad essere considerate agenti protettivi nei confronti di patologie correlate allo stress ossidativo. Inoltre, i risultati ottenuti mediante TLC, confermati dalle analisi in HPLC, hanno permesso di ipotizzare l'identificazione di una varietà di *G. lutea*, e sono in programma nuove sperimentazioni che possano confermare questo risultato. Infine, i risultati del potere antiossidante e del contenuto di polifenoli permettono di candidare *H. perforatum* come indicatore biologico in quanto il suo profilo è più variabile rispetto a quello di *G. lutea* ed è soprattutto in funzione del sito di raccolta.