



THE OTHER SIDE OF THE MOON: IL METABOLISMO SECONDARIO NELLE GEMME

La gemmoterapia basa i presupposti della sua attività biologica sull'impiego di tessuti meristematici vegetali e sul loro contenuto di prodotti del metabolismo primario, ritenuti tradizionalmente responsabili delle proprietà dei gemmoderivati. Sono pochi finora gli studi scientifici volti a fornire una caratterizzazione fitochimica nella sua interezza. Scopo di questo lavoro è stato quello di fornire un protocollo analitico per caratterizzare mediante gas-cromatografia i costituenti del fitocomplesso contenuto nelle gemme, evidenziando come siano presenti anche composti che derivano dal metabolismo secondario, i quali giustificano o supportano le diverse attività biologiche dei gemmoderivati.

* **Fabrizio Gelmini**
* **Jacopo Rota**
* **Giangiaco­mo Beretta**

La Gemmoterapia è la più recente tra le scienze erboristiche: è stata introdotta negli anni Cinquanta del XX secolo dal medico belga Pol Henry (1918-1988) il quale ritenne di poter sfruttare a fini terapeutici

le proprietà di tessuti embrionali vegetali freschi in via d'accrescimento sottoponendoli a macerazione glicero-alcolica (MG) [1], secondo i procedimenti riportati inizialmente nella Farmacopea Francese VIII ed. (1965) e successivamente inseriti nella Eu. Ph. 9. La preparazione dei gemmoderivati prevede una macerazione di 3 settimane dei tessuti embrionali vegetali (gemme, giovani getti, radichette, amenti, xilemi, etc.)

in una miscela di glicerina e alcol anaparti (rapporto droga/solvente 1/20 peso/volume). L'estratto ottenuto deve essere successivamente filtrato, lasciato a riposo per 24 ore e quindi nuovamente filtrato. Il macerato glicerico madre così ottenuto deve infine essere diluito alla prima decimale Hahnemanniana (1 DH) con una miscela costituita da glicerina, alcol e acqua (50/30/20 vol/vol). Il meristema contenuto nei tes-

suti embrionali è costituito da cellule indifferenziate, cellule staminali vegetali capaci di differenziarsi successivamente in cellule specializzate [2], che contengono notevoli quantità di aminoacidi, sali minerali, oligoelementi, acidi nucleici, vitamine, enzimi, fitormoni (auxine e gibberelline) e fattori di crescita. Proprio per questo motivo, a differenza dei preparati fitoterapici tradizionali, la cui attività biologica si riconduce principalmente al metabolismo secondario dei tessuti vegetali adulti, l'approccio gemmoterapico si ritiene sia basato sulle attività del metabolismo primario delle cellule indifferenziate vegetali.

Sulla base del lavoro di Pol Henry questi preparati sono oggi utilizzati come integratori alimentari con il proposito di favorire il riequilibrio del fisiologico rapporto albumina/immunoglobuline, che risulta alterato in condizioni patologiche. A seguito di questa impostazione originaria, la letteratura scientifica sui gemmoderivati ha focalizzato la propria attenzione sulla misurazione dei parametri sierici del profilo proteico di soggetti trattati con gemmoderivati (tecniche di elettroforesi e di tromboelastogramma) e sul controllo quali/quantitativo (mediante HPTLC) del *fingerprint* dei metaboliti primari delle singole gemme e dei prodotti finiti. Scarsi sono invece i dati riguardanti la caratterizzazione fitochimica del metabolismo complessivo dei tessuti meristemati.

Proprio a seguito di questa carenza, scopo del presente lavoro è stato quello di fornire un approccio analitico di caratterizzazione dei tessuti meristemati, al fine di valutarne, nel modo più esaustivo possibile, il profilo fitochimico delle strutture volatili e non volatili rilevabili mediante derivatizzazione dei campioni e analisi gas-cromatografica.

Le specie botaniche utilizzate a

tal fine, e di facile reperibilità nel territorio prealpino del nord Italia, sono state quelle di *Laurus nobilis* (alloro), *Juglans regia* (noce), *Vitis vinifera* (vite), *Pinus mugo* (pino mugò) e *Ficus carica* (fico).

Le specie vegetali selezionate, che nel periodo oggetto dello studio presentavano tessuti meristemati ancora indifferenziati (gemme), sono tradizionalmente impiegate per la preparazione di macerati glicerici utilizzati nel trattamento di affezioni dell'apparato digerente e del sistema neurovegetativo (*F. carica*), infezioni di cute e mucose (*J. regia*), infiammazioni e artrosi dell'apparato osteo-articolare (*V. vinifera* e *P. mugo*) e per il ripristino della funzionalità del connettivo (*L. nobilis*).

MATERIALI E METODI

Materiale vegetale

Le gemme di *Laurus nobilis* L., *Juglans regia* L., *Vitis vinifera* L., *Pinus mugo* Turra e *Ficus carica* L. (ca. 10 gemme per pianta) sono state raccolte manualmente nel mese di maggio 2017 all'interno del "Parco dei Colli di Bergamo" (GPS: latitudine 45.720573°; longitudine: 9.627719°), un'area regionale protetta di 4700 ettari compresi tra i 244 e i 1146 m di altitudine, che si estende sul territorio di 10 comuni della provincia di Bergamo. Il materiale vegetale è stato immediatamente posto sottovuoto e conservato a 4 °C al riparo dalla luce fino al momento dell'analisi.

Analisi GS-MS

Le analisi GS-MS sono state effettuate utilizzando un gascromatografo Bruker Scion SQ (Bruker Daltonics, Macerata, Italia), equipaggiato con una colonna capillare Zebron ZB -5HT Inferno (VF-5 ms, 30 m; 0.25 mm i.d., spessore del film 0.25 µm) e accoppiato con un detector a singolo quadrupolo.

Programmata di temperatura del forno: 60 °C (tempo di mantenimento 3 min); da 60 a 120 °C (8.0 °C/min, mantenimento 1 min); da 120 a 280 °C (4 °C/min, mantenimento 1.5 min); da 280 a 380 °C (10.0 °C/min, mantenimento 2 min). Tempo totale: 65 minuti. Temperatura di iniezione: 250 °C, t= 20 minuti. Flusso nella colonna 1.00 mL/min. Gas carrier: Elio 5.5; energia di ionizzazione -70 eV. Rapporto split/splitless 1:30 dopo 45 secondi. I picchi cromatografici sono stati identificati comparando i loro spettri di massa con quelli di standard commerciali e con gli spettri presenti nel database NIST (vers. 2.0, 2011). Le relative percentuali di composizione dei vari costituenti sono state ottenute normalizzando l'area dei picchi.

Preparazione dei campioni

Al fine di fornire un profilo fitochimico il più esaustivo possibile delle strutture costitutive delle gemme raccolte, il materiale vegetale di ciascuna specie è stato suddiviso in 3 gruppi e sottoposto a estrazione con solventi a polarità crescente (n-esano, diclorometano ed etanolo; n=15 estratti).

In dettaglio, quantità variabili di gemme (15-230 mg, in relazione alla disponibilità del materiale) sono state sottoposte a estrazione non convenzionale con 1 mL di solvente (n=3) mediante sonicazione con ultrasuoni (Branson 2510, 40kHz, Emerson industrial automation) [3] per 3 ore a 30 °C. Gli estratti ottenuti sono stati sottoposti a centrifugazione (rpm: 14000; t= 5 min) e le frazioni di ciascuna fase organica riunite e portate a secchezza mediante l'utilizzo di un evaporatore rotante a pressione ridotta (IKA HB 10 basic, 280 rpm, T= 40 °C), fino a ottenere un peso costante degli estratti.

I 15 estratti secchi ottenuti sono

Specie	EtOH		CH ₂ Cl ₂		n-esano	
	Gemme (mg)	Resa % (w/w) dell'estratto secco	Gemme (mg)	Resa % (w/w) dell'estratto secco	Gemme (mg)	Resa % (w/w) dell'estratto secco
<i>Ficus carica</i>	102	22,84	129.2	0.33	66.7	0.75
<i>Pinus mugo</i>	233,4	7,33	129.9	1.47	168.9	2.40
<i>Juglans regia</i>	145,2	24,52	176.5	0.53	142.3	0.79
<i>Laurus nobilis</i>	85,7	25,90	65.2	1.03	31.9	10.97
<i>Vitis vinifera</i>	39,2	13,27	18.6	1.61	15.3	3.40

Tab. 1
Resa (peso/peso) degli estratti secchi delle gemme analizzate

stati infine sottoposti a derivatizzazione mediante silylazione (70 µL di BSTFA, 30 µL di piridina e 100 µL di etile acetato, t= 3 h, 70 °C) e 1 µL di ciascuna soluzione è stato sottoposto ad analisi GC-MS nelle condizioni descritte.

RISULTATI

Materiale vegetale

Le rese peso/peso delle estrazioni delle gemme selezionate sono riportate in Tab. 1. Complessivamente, gli estratti etanolici hanno fornito le rese maggiori (comprese tra il 7.33% per le gemme di *P. mugo* e il 25.90% per quelle di *L. nobilis*), mentre gli estratti a resa minore sono risultati essere quelli in diclorometano (comprese tra lo 0.33% per le gemme di *F. carica* e l'1.47% per quelle di *P. mugo*).

Analisi GC-MS

Accanto ai metaboliti primari più strettamente collegati allo sviluppo, alla difesa e alla differenziazione del meristema (come aminoacidi, zuccheri, acidi grassi, acido shikimico nelle gemme di pino, gliosima e acido fenilacetico nelle gemme di vite), l'analisi gas-cromatografica degli estratti ottenuti, riassunta per classi di molecole in Tab. 2 (% relativa) ha mostrato per tutte le specie vegetali considerate una non trascurabile, e per certi versi sorprendente, presenza di metaboliti secondari.

Questa prima evidenza sembra suggerire che, accanto alle attività biologiche dei metaboliti primari,

anche il metabolismo secondario possa giocare un ruolo nel determinare (o modulare) le attività salutistiche di questi formulati. Alla luce di questa considerazione preliminare abbiamo ritenuto importante, in questa sede, approfondire le attività biologiche del metabolismo secondario di ciascuna specie, al fine di valutare il possibile coinvolgimento (o supporto) alle attività terapeutiche tradizionalmente attribuite ai gemmoderivati.

A tale scopo, in Fig. 1 sono riportati l'organotropismo e le attività biologiche riportate in letteratura dei gemmoderivati ottenuti dalle specie analizzate. In fitoterapia ogni gemmoderivato ha un'azione elettiva verso un organo o apparato e viene indicato per trattarne le affezioni. Così *F. carica*, con organotropismo rivolto allo stomaco e al sistema neurovegetativo, secondo Piterà *et al.* [2] risulta indicato per il trattamento dell'ansia gastrica, delle dispepsie, delle nevralgie del trigemino, ulcera gastro-duodenale e le atonie gastri-

che in generale. *J. regia* ha invece un organotropismo verso cute e mucose e ne viene indicato l'uso in caso di micosi, dermatosi infette, diarrea post antibiotici e ulcere venose. I gemmoderivati ottenuti da *V. vinifera* e *Pinus spp.* hanno un organotropismo nei confronti dell'apparato osteo-articolare: sono infatti indicati per il trattamento di artrosi [4] e di stati infiammatori di cartilagine e articolazioni. Infine, al gemmoderivato di *L. nobilis* viene attribuito un organotropismo associato ai tessuti connettivi: in particolare viene indicato nel trattamento di sclerosi ghiandolare con infiammazione, edema e progressiva perdita funzionale.

Ficus carica

L'analisi GC-MS dei tre estratti di gemme di *F. carica*, ha evidenziato un'importante presenza di acidi grassi: il 16.11% nell'estratto etanolico (EE), costituito dal 4.60% di strutture insature (*i.e.* acido linoleico e α -linolenico), il 43.18% nell'estratto in diclorometano (ED), di cui il 4.34% di mono- e poli- insaturi (MUFA e PUFA) e il 48.75% nell'estratto esanico (EH), di cui il 12.30% rappresentato da MUFA e PUFA. Accanto al metabolismo primario, sono state identificate consistenti percentuali di metaboliti secondari, come di-, tri-terpeni e steroli (16.39%, 10.00% e 6.60% in EE,

Specie	Acidi grassi			MUFA + PUFA			Mono-sesquiterpeni			Triterpeni e steroli			Acidi fenolici		
	EtOH	CH ₂ Cl ₂	esano	EtOH	CH ₂ Cl ₂	esano	EtOH	CH ₂ Cl ₂	esano	EtOH	CH ₂ Cl ₂	esano	EtOH	CH ₂ Cl ₂	esano
<i>Ficus carica</i>	16,11	43,18	48,75	4,36	4,35	12,31	0,27	0,00	0,06	16,39	10,01	6,61	0,00	0,12	0,00
<i>Juglans regia</i>	8,75	20,71	21,07	2,05	3,65	3,79	31,84	14,39	27,48	5,17	5,64	5,10	0,00	1,08	0,09
<i>Vitis vinifera</i>	15,01	41,58	44,07	5,25	0,72	2,84	0,00	0,00	0,02	3,18	2,76	3,15	0,27	0,51	0,25
<i>Laurus nobilis</i>	11,85	28,86	30,90	4,38	6,92	2,32	11,17	0,59	25,31	2,01	1,26	0,22	0,00	0,00	0,00
<i>Pinus pumillo</i>	9,25	23,64	18,03	6,53	16,61	10,47	0,00	0,01	0,11	3,30	11,69	16,95	3,35	0,49	0,01

Tab. 2
Caratterizzazione GC-MS, suddivisa per classi chimiche, degli estratti delle gemme analizzate (% relativa dell'area dei picchi cromatografici*)
*n=3; S.D. < 10%

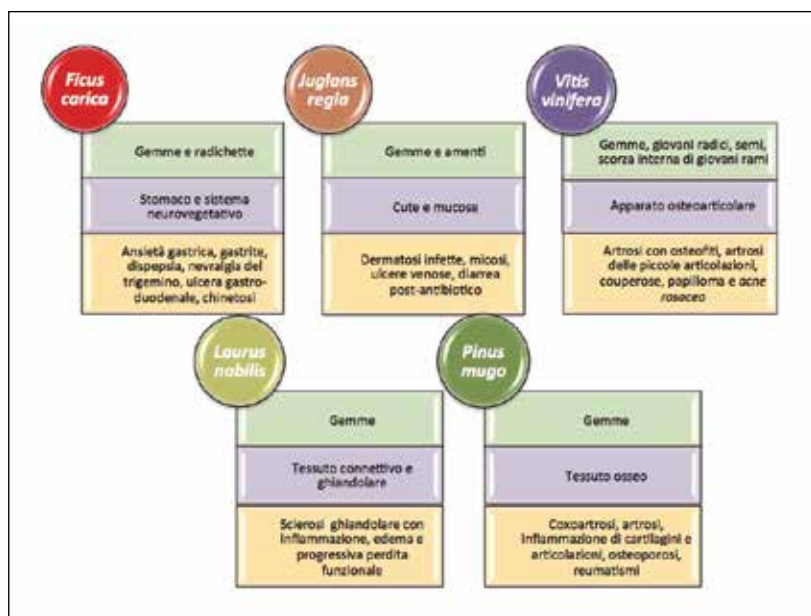


Fig. 1
Parte di pianta utilizzata in gemmoterapia (verde), organotropismo (viola) e indicazioni d'uso (giallo) dei preparati gemmoterapici derivati dalle specie analizzate.

ED, EH). In particolare l'EE contiene il 14.70% di strutture triterpeniche, come lupeolo acetato (3.97%), β -amirina (1.92%) e germanicolo (1.36%). Sempre nell'estratto etanologico, la struttura piú rappresentativa della classe degli steroli è risultata essere quella del β -sitosterolo (5.87%).

In ED sono state caratterizzate percentuali simili di diterpeni, triterpeni e steroli (10.00%), costituiti da lupeolo acetato (3.13%), β -amirina (2.05%) e germanicolo (2.05%). Tra i prodotti del metabolismo secondario è stata inoltre identificata una piccola quantità di acidi fenolici (0.12%, acido gallico e acido benzenpropanoico). In EH infine sono stati identificati triterpeni (5.60%), rappresentati da lupeolo acetato (2.20%), β -amirina (1.29%), germanicolo (0.91%) e cicloartenolo acetato (0.49%).

A questo riguardo vale la pena osservare che molte delle strutture del metabolismo secondario identificate, posseggono una ben nota attività biologica: squalene

(0.51% in EE), β -amirina, lupeolo acetato e β -sitosterolo sono noti antinfiammatori [5, 6]; la ficusina, uno psoralene presente in EE allo 0.65%, ha mostrato un'attività ipolipidemizzante e antidiabetica nel ratto affetto da diabete di tipo II [7].

Queste attività potrebbero quindi avvalorare e supportare l'impiego tradizionale di questo gemmoderivato nel trattamento di patologie a eziologia infiammatoria come le nevralgie del trigemino e le ulcere gastro-duodenali. La presenza di ficusina suggerisce invece un potenziale uso nel trattamento di condizioni diabetiche e di dislipidemie.

Juglans regia

Le analisi delle gemme di noce hanno mostrato una presenza maggioritaria, rispetto a tutte le altre classi di metaboliti, di strutture monoterpeniche e sesquiterpeniche, la cui somma raggiunge il 31.84% in EE, il 14.39% in ED e il 27.48% in EH. La struttura piú rappresentativa identificata è

stata il sesquiterpene β -cariofilene (9.15% in EE, 3.01% in ED e 4.19% in EH) noto per la sua attività antinfiammatoria e anestetica locale in modello animale [8]. Tra gli altri metaboliti secondari identificati vale la pena sottolineare la presenza dell'acido gallico (0.22% in ED), del β -sitosterolo (3.88% in EE), del cicloeucalenile acetato (0.48% in EE, 0.68% in ED e 0.87% in EH) e del cicloartenolo acetato (1.48% in ED e 1.18% in EH). Quest'ultimo triterpene ha dimostrato avere attività antinfiammatoria indometacina-like nel modello di infiammazione dell'orecchio murino [9].

La presenza di acidi grassi è risultata inferiore rispetto a quella nelle gemme di *F. carica*, rispettivamente l'8.74% in EE (di cui MUFA e PUFA il 2.05%), il 20.71% in ED (di cui MUFA e PUFA il 3.65%) e il 21.06% in EH (di cui MUFA e PUFA il 3.79%), soprattutto acido miristico e acido palmitico.

Il profilo fitochimico risultante dalle analisi suggerisce un possibile coinvolgimento delle strutture mono- e sesquiterpeniche nell'attività antimicrobica del gemmoderivato, utilizzato tradizionalmente per trattare micosi cutanee e dermatosi infette. La percentuale elevata di β -cariofilene, β -sitosterolo e cicloartenolo acetato sembra inoltre sostenere l'impiego come antinfiammatorio nelle patologie sopra indicate (*i.e.* ulcera venosa).

Vitis vinifera

I dati risultanti dalle analisi delle gemme di vite mettono in evidenza un'elevata presenza di acidi grassi. Come per le altre gemme analizzate, l'EE ne contiene la percentuale minore (15.01%), tuttavia, all'interno di questo estratto, MUFA e PUFA rappresentano il 5.24% (*i.e.* acido linoleico e α -linolenico), la percentuale piú alta tra i tre estratti



Gemme di alloro

ottenuti. Nell'ED gli acidi grassi totali raggiungono il 41.57% (di cui MUFA e PUFA rappresentano lo 0.71%) e nell'HE raggiungono il 44.07% (di cui MUFA e PUFA il 2.84%); l'acido grasso maggiormente rappresentato in questi ultimi due estratti è l'acido miristico (19.93% in ED e 30.05% in EH). Tra gli altri metaboliti primari identificati, risulta interessante segnalare l'elevata presenza percentuale dell'aminoacido glicina, presente nell'EE al 25.23% e assente nei prodotti del metabolismo primario delle gemme fin qui riportate.

Infine, tra le molecole associate alla regolazione dell'accrescimento della pianta, le gemme di vite contengono acidi fenolici, come l'acido p-idrossi benzoico (0,10% in EE and 0,07% in ED) e l'acido isovanillico (0,11% in EE and 0,37% in ED), la gliosima (un *releaser* di etilene, allo 0,06% in EE) e l'auxina acido fenilacetico (0.06% in EE).

Il metabolismo secondario è rappresentato soprattutto da strutture triterpeniche e steroliche, la

cui somma raggiunge il 3.17% in EE (β -sitosterolo 2.22%; α -amirina 0.22%; β -amirina 0.37%), il 2.75% in ED (β -sitosterolo 1.08%; α -amirina 0.78%; β -amirina 0.61%) e il 3.15% in EH (β -sitosterolo 1.14%; α -amirina 0.85%; β -amirina 0.86%).

Il gemmoderivato di *V. vinifera* ha un organotropismo rivolto verso le affezioni dell'apparato osteo-articolare: tradizionalmente è indicato per il trattamento di stati infiammatori di cartilagini e articolazioni (artrosi con osteofiti e artrosi delle piccole articolazioni). Proprio a supporto di queste indicazioni d'uso rivolte alle patologie degenerative delle cartilagini e del tessuto connettivo, è interessante sottolineare la presenza di un'elevata percentuale di glicina nell'EE. Questo aminoacido ha infatti funzione strutturale all'interno del collagene, di cui rappresenta circa il 33% degli aminoacidi costituenti. La concomitante presenza di timolo (0.10% in HE), un monoterpene fenolico dotato di attività anti-elastasi [10] e delle strutture triterpeniche antin-

fiammatorie riportate, potrebbe fornire quindi un buon supporto razionale all'impiego del gemmoderivato di vite nelle patologie correlate alla degenerazione delle cartilagini.

Infine, risulta interessante sottolineare la presenza in queste gemme di acido azelaico (0.16% nell' ED), un acido bicarbossilico utilizzato come agente anti 5-alfa H-reduttasi nel trattamento dell'acne rosacea [11], un'altra tra le patologie per le quali tradizionalmente viene indicato il macerato glicerico di vite.

Laurus nobilis

Tradizionalmente il gemmoderivato di *L. nobilis* è indicato per il trattamento delle sclerosi ghiandolari con infiammazione, edema e progressiva perdita funzionale: il suo organotropismo risulta inoltre tradizionalmente rivolto ai tessuti connettivi. I risultati ottenuti dall'analisi fitochimica hanno permesso di individuare una serie di molecole a supporto di questo impiego: anche nelle gemme di *Laurus* infatti, come

in quelle di *Vitis*, sono stati identificati glicina (24.89% in EE) e timolo (0.24% in EH). Entrambi i componenti grazie alle loro caratteristiche e attività, favoriscono il mantenimento della struttura e dell'elasticità dei tessuti connettivi. L'impiego tradizionale nelle sclerosi con infiammazione può invece trovare supporto nella presenza di strutture terpeniche, la cui attività antinfiammatoria è già stata riportata in letteratura, come il β -cariofillene (1.69% in EE e 0.18% in EH), l' α -patchoulene (3.81% in EE e 0.55% in EH) [12] e il deidrocostunolide (0.59% in EE e 1.73% in EH) [13]. Altre strutture biologicamente attive rilevate dalle analisi sono l'acido azelaico (0.17% in ED), già descritto nell'analisi delle gemme di *V. vinifera* e il fenilpropanoide metileugenolo (0.37% in EE e 0.32% in EH), un metabolita secondario caratteristico dell'OE di *L. nobilis* ottenuto dalle foglie della pianta adulta, e la cui possibile azione carcinogena sull'uomo è oggi discussa dalla I.A.R.C. [14]. La distribuzione delle strutture

terpeniche nei tre estratti è risultata eterogenea: nell'EH la somma dei sesquiterpeni raggiunge il 23.01% (i.e. deidrossaussurea lattone, saussurea lattone, deidrocostunolide) mentre triterpeni e steroli sono quasi assenti (0.22%); nell'EE i sesquiterpeni rappresentano l'11.10% (i.e. α -patchoulene, β -cariofillene e β -elemene) mentre triterpeni e steroli raggiungono il 2.01% (di cui 1.86% β -sitosterolo); l'ED risulta essere il più povero in strutture terpeniche, sia per quanto riguarda la somma di mono- e sesquiterpeni (0.58%) che triterpeni e steroli (1.26% completamente rappresentati dal β -sitosterolo).

Per quanto riguarda il metabolismo primario, le gemme di *L. nobilis* contengono una quantità moderata di acidi grassi. In EE rappresentano l'11.84% (MUFA e PUFA 4.38%), in ED il 28.86% (MUFA e PUFA 6.92%), mentre la percentuale più alta è stata registrata in EH (30.90%, di cui MUFA e PUFA 2.31%). Anche in questo caso in ED e EH l'acido miristico è risultato essere l'acido

grassio maggiormente rappresentato (rispettivamente il 10.59% e il 18.03%).

Pinus mugo

L'organotropismo dei gemmoderivati di *Pinus spp.* è rivolto principalmente alle affezioni del tessuto osseo, con indicazioni d'uso tradizionali in caso di coxoartrosi, artrosi, infiammazione di articolazioni e cartilagini, osteoporosi e reumatismi. A supporto di questo impiego, il profilo fitochimico ottenuto dalle analisi ha rilevato diverse strutture ad azione antinfiammatoria, come i triterpeni acido deidroabietico (3.42% in EE; 7.30% in ED; 10.35% in EH) [15] e acido abietico (0.74% in EE; 0.57% in ED; 2.49% in EH) [16] e cis- e trans-catechina (0.21% in EE). In considerazione dell'impiego di questo gemmoderivato, potrebbe risultare di particolare importanza la presenza del pinitolo nell'estratto etanolicco (7.08%); questo poliolo è studiato come agente anti-artritico in quanto inibitore della protein-tirosin-fosfatasi non recettoriale 22



Gemme di *Vitis vinifera*



Gemme di pino mugo

(PTPN22) [17] e possiede inoltre un'interessante azione antidiabetica *in vivo*, con attività sugli enzimi esochinasi, piruvato chinasi, glucosio-6-fosfato deidrogenasi, glicogeno sintetasi e altri enzimi coinvolti nel metabolismo dei carboidrati in un modello di diabete indotto da streptozotocina nel ratto [18]. Nelle gemme di *P. mugo* è stata inoltre identificata un'altra struttura, il floroglucinololo (0.34% in EE), un fenolo la cui attività di inibizione della gluconeogenesi epatica è stata recentemente evidenziata in modello murino [19]. Queste ultime due strutture, identificate nell'estratto etanologico di *P. mugo*, evidenziano l'importanza della caratterizzazione fitochimica delle materie prime dei preparati fitoterapici, non solo nel fornire un supporto razionale alle attività terapeutiche tradizionalmente vantate, ma anche nella definizione di nuove eventuali indicazioni d'impiego basate sul contenuto di molecole biologicamente attive. Come nel caso delle gemme di *F. carica* e *V. vinifera*, anche in quelle di *P. mugo* la presenza di mono- e sesquiterpeni è risultata trascurabile negli estratti in esano e in diclorometano (rispettivamente 0.11% e 0.01%), mentre non sono stati rilevati negli estratti etanologici.

Per quanto riguarda il metabolismo primario, la principale classe di molecole identificata è quella degli acidi grassi, rappresentata per la maggior parte da strutture insature: in dettaglio, la somma di acidi grassi raggiunge il 9.25% in EE (MUFA e PUFA 6.53%), il 23.64% in ED (MUFA e PUFA 16.61%) e il 16.03% in EH (MUFA e PUFA 10.46%).

Conclusioni

Contrariamente ai preparati fitoterapici classici, ottenuti utilizzando come materia prima



Ficus carica

Foto di R. Longo

Gemme di *Juglans regia*



i tessuti adulti delle piante, la gemmoterapia basa i presupposti della sua attività biologica sull'impiego di tessuti embrionali vegetali (meristematici) e sul loro contenuto di prodotti del metabolismo primario (enzimi, proteine, aminoacidi, acidi nucleici e fattori di crescita). Questi ultimi sono tradizionalmente ritenuti responsabili delle attività biologiche dei gemmoderivati, ma, anche a causa della giovane età della gemmoterapia, pochi sono stati finora gli studi scientifici volti a fornire una caratterizzazione fitochimica del complesso dei metaboliti nella loro interezza.

Proprio a seguito di tale carenza di dati, scopo di questo lavoro è stato quello di fornire un protocollo analitico per la caratterizzazione fitochimica mediante gas-cromatografia dei costituenti del fitocomplesso contenuto nelle gemme. A questo scopo abbiamo selezionato gemme di specie vegetali facilmente reperibili nel territorio prealpino del nord Ita-

lia, valutando poi conseguentemente *se e quali*, tra le strutture individuate, potessero supportare le attività biologiche tradizionalmente attribuite ai rispettivi gemmoderivati.

Degna di nota è l'evidenza che, accanto alle strutture caratteristiche del metabolismo primario (amminoacidi, acidi grassi, etc.), le gemme di *Ficus carica*, *Juglans regia*, *Vitis vinifera*, *Laurus nobilis* e *Pinus mugo* da noi considerate esprimono una quantità significativa di prodotti del metabolismo secondario, in un range compreso tra il 2.37% e il 37.48%. Molte di queste strutture sono note per le loro attività biologiche e, conseguentemente, la loro presenza potrebbe giustificare, o supportare, le indicazioni d'uso tradizionali di questi preparati, generalmente ascritte al solo metabolismo primario.

Tra le classi di molecole da noi individuate particolare rilevanza rivestono le strutture antimicrobiche (mono- e sesquiterpeniche)

e le strutture ad attività antinfiammatoria (triterpeni, fitosteroli), che potrebbero concorrere nel giustificare l'impiego dei gemmoderivati di fico (*Ficus carica*) nel trattamento di patologie a eziologia infiammatoria come nevralgie e ulcere gastro-duodenali, di noce (*Juglans regia*), nel trattamento delle affezioni cutanee e delle mucose e di pino (*Pinus mugo*) nel trattamento degli stati artrosici. Sulla base delle nostre analisi, altre possibili sinergie tra metabolismo primario e secondario si evidenziano nelle gemme di alloro (*Laurus nobilis*) e vite (*Vitis vinifera*), nelle quali l'elevata presenza di glicina (metabolita primario e costituente principale del collagene) e di timolo (metabolita secondario con attività anti-elastica) potrebbe supportare l'organotropismo elettivo di questi preparati verso il tessuto connettivo e l'apparato osteo-articolare.

Le analisi condotte hanno inoltre permesso di identificare nelle



Ricostruzione di un laboratorio chimico presso il Museo della Scienza e della Tecnica di Milano

Antichi campioni di droghe vegetali presso il Museo del Giardino della Minerva di Salerno



gemme anche strutture dotate di attività biologica non immediatamente correlabile agli usi convenzionali dei gemmoderivati.

È questo il caso del polialcol pinitolo e del fenolo floroglucinolo identificati nelle gemme di pino mugò, il primo portatore di attività anti-artritica e il secondo antispastico gastrointestinale, entrambi dotati di attività ipoglicemizzante *in vivo*; oppure dello psoralene ficusina identificato nelle gemme di fico, noto in letteratura per l'attività antidiabetica (diabete di tipo II) e ipoglicemizzante.

I risultati qui riportati, senz'altro suscettibili di ulteriore approfondimento analitico e necessaria verifica clinica, sembrano mettere in luce per la prima volta, al meglio delle nostre conoscenze, non solo la presenza di elementi del metabolismo secondario

nei meristemi, ma anche il loro possibile ruolo nel sostenere le attività biologiche dei preparati gemmoterapici, di cui, convenzionalmente, si ritiene responsabile il solo metabolismo primario.

* UNIVERSITÀ DI MILANO
Dipartimento di Scienze e Politiche Ambientali (Environmental Science and Policy – ESP)

Bibliografia

- 1 - Henry, Phytoembrioterapie Ed. Similia, 1963
- 2 - Piterà *et al.*, Gemmoterapia. Fondamenti scientifici della nuova meristemoterapia; Nuova Ipsa Editore, 2018.
- 3 - Herrera *et al.*, Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection; *Journal of Chromatography A*, 1100, 1, 2005.
- 4 - Campanini, Manuale pratico di gemmoterapia, Ed. Tecniche Nuove, 1996
- 5 - Saleem *et al.*, Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene; *Cancer Letters*, 285, 2, 2009.
- 6 - Gupta *et al.*, Anti-inflammatory and antipyretic activities of β -sitosterol; *Planta Medica*, 39, 6, 1980.
- 7 - Irudayaraj *et al.*, Antioxidant, antilipidemic and antidiabetic effects of ficusin with their effects on GLUT4 translocation and PPAR γ expression in type2 diabetic rats; *Chemico-biological interactions*, 256, 2016.
- 8 - Ghelardini *et al.*, Local anaesthetic activity of β -caryophyllene; *Il Farmaco*, 56, 5-7, 2001.
- 9 - Akihisa *et al.*, Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects; *Phytochemistry*, 43, 6, 1996.
- 10 - Braga *et al.*, Anti-inflammatory activity of thymol: inhibitory effect on the release of human neutrophil elastase; *Pharmacology*, 77, 2006.
- 11 - Wirth *et al.*, Real-World Efficacy of Azelaic Acid 15% Gel for the Reduction of Inflammatory Lesions of Rosacea; *Skin Therapy Lett.*, 22, 6, 2017.
- 12 - Zhang *et al.*, Anti-inflammatory activity of β -patchoulene isolated from patchouli oil in mice; *European Journal of Pharmacology*, 781, 2016.
- 13 - De Marino *et al.*, New sesquiterpene lactones from *Laurus nobilis* leaves as inhibitors of nitric oxide production; *Planta medica*, 71, 8, 2005.
- 14 - Methyleugenol IARC monograph, <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono101-013.pdf>.
- 15 - Kang *et al.*, Dehydroabietic acid, a phytochemical, acts as ligand for PPARs in macrophages and adipocytes to regulate inflammation; *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 369, 2, 2008.
- 16 - Sáenz *et al.*, Anti-inflammatory activity of abietic acid, a diterpene isolated from *Pimenta racemosa* var. *grisea*; *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; 53, 6, 2001.
- 17 - Zheng *et al.*, Protective Effect of Pinitol Against Inflammatory Mediators of Rheumatoid Arthritis via Inhibition of Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 22 (PTPN22); *Medical Science Monitor*, 23, 2017.
- 18 - Subramanian *et al.*, D-pinitol attenuates the impaired activities of hepatic key enzymes in carbohydrate metabolism of streptozotocin-induced diabetic rats; *General Physiology and Biophysics*, 28, 2009.
- 19 - Yoon *et al.*, The Effect of Phloroglucinol, A Component of *Ecklonia cava* Extract, on Hepatic Glucose Production; *Marine Drugs*, 15, 4, 2017.