



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
Scienze Biologiche

Berry leaves: una fonte alternativa di prodotti naturali bioattivi di valore nutrizionale e medicinale

Berry leaves: an alternative source of bioactive natural products of nutritional and medicinal value

Candidato
Dania Capponi

Relatore
Dott. Stefano Accoroni

Sessione autunnale
Anno accademico: 2018/19

INTRODUZIONE

❖ Cosa s'intende per alimenti "NUTRACEUTICI"?

Non esiste ancora una chiara definizione internazionale

Il termine "nutraceutico" è stato coniato nel 1989 da Stephen De Felice

"Un alimento o parte di un alimento, come un integratore alimentare, che ha un beneficio medico o sanitario, compresi la prevenzione e il trattamento delle malattie." (De Felice)

"Un prodotto alimentare, un additivo alimentare o un integratore alimentare, che ha effetti fisiologici benefici, ma non è essenziale per la dieta. Chiamato anche cibo funzionale." (Oxford English Dictionary)

Aumenta la richiesta di alimenti sani da parte del consumatore

Nutraceutici, prodotti biologici vegetali e integratori alimentari dietetici sono in rapida crescita nell'industria alimentare

Le proprietà funzionali degli estratti vegetali sono sotto continuo studio per valutare più dettagliatamente la loro efficacia



INTRODUZIONE

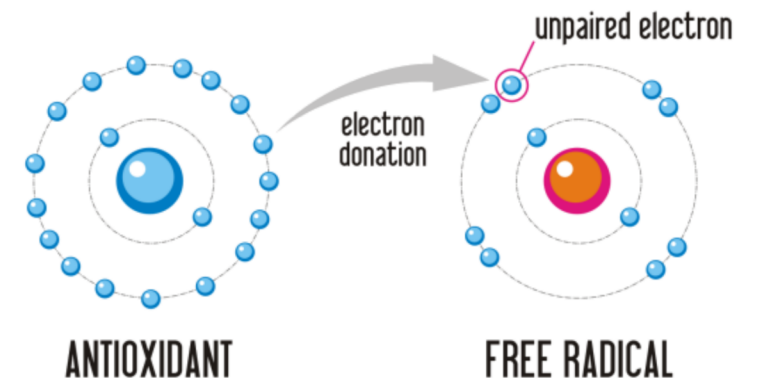
❖ I frutti di bosco come alimenti funzionali o “superfood”

Le “bacche” appartenenti alle famiglie Rosaceae (fragola, lampone, mora) ed Ericaceae (varie specie di mirtillo nero e mirtillo rosso) sono le miglior fonti di **COMPOSTI BIOATTIVI (BAC)**

I composti bioattivi sono sostanze assunte con la dieta che modulano le funzioni fisiologiche apportando benefici all'organismo

L'elevato potere **ANTIOSSIDANTE** dei composti bioattivi:

- ① riduce la quantità dei radicali liberi (ROS)
- ② riduce il danno ossidativo indotto dallo stress
- ③ contribuisce alla prevenzione del carcinoma e di altre patologie, anche cardiovascolari e neurovegetative



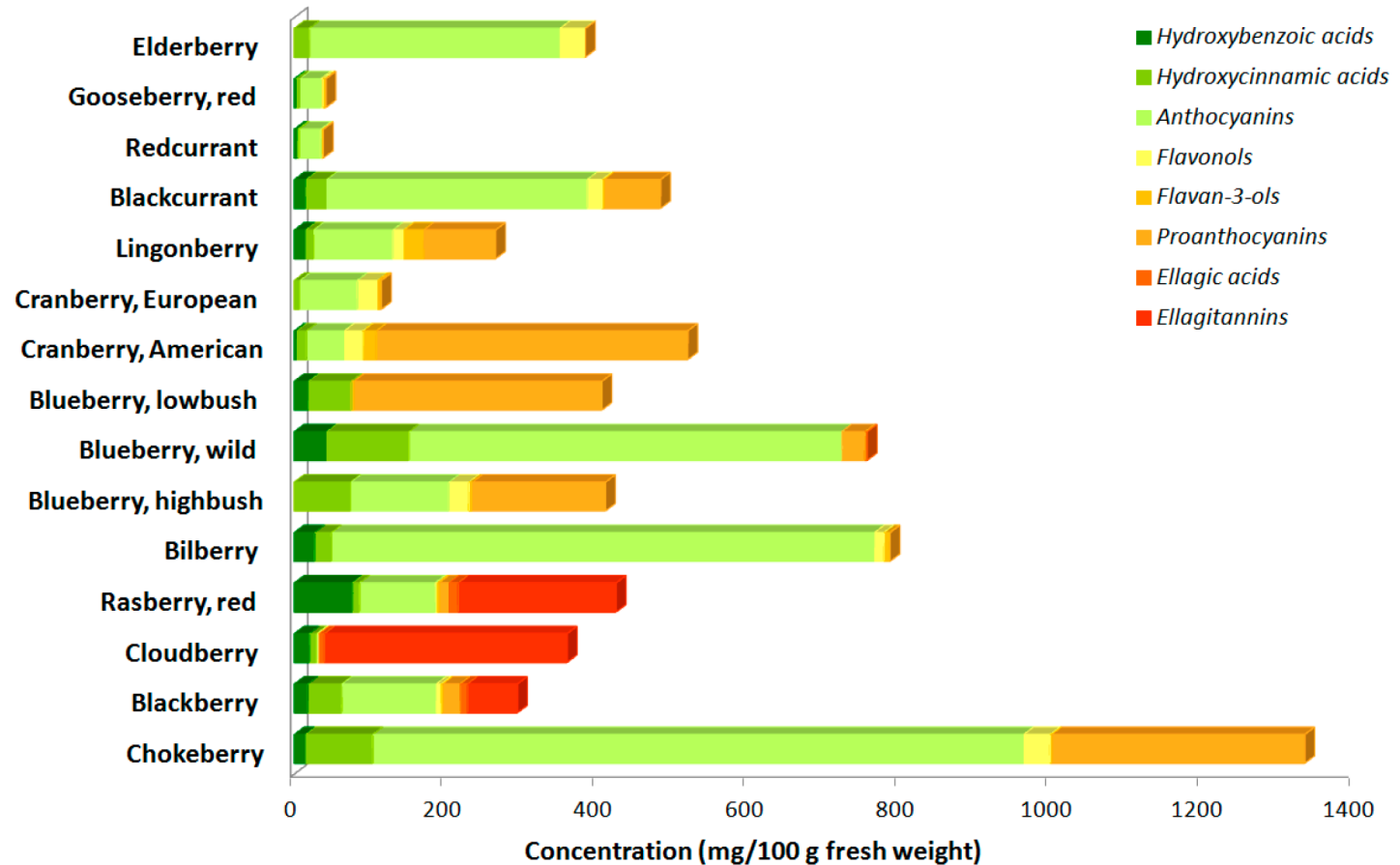
I FRUTTI DI BOSCO

I composti bioattivi contenuti principalmente e nelle “bacche”:

- ✓ acidi fenolici (acidi idrossibenzoici e idrossicinnamici)
- ✓ flavonoidi (flavonoli e antociani)
- ✓ tannini condensati (proantocianidine) e idrolizzabili (gallotannini ed ellagitannini)
- ✓ vitamina C o acido ascorbico
- ✓ minerali

Il contenuto fitochimico delle “bacche” varia a seconda della modalità di raccolta e di lavorazione/conservazione

L'acido ascorbico è considerato un indicatore di qualità dei nutrienti fitochimici dei frutti di bosco



- ❖ La composizione fenolica delle foglie è simile a quella dei frutti o anche più ricca e superiore e quindi possono essere utilizzate per lo sviluppo di nuovi nutraceutici

1. FOGLIE DI RIBES NERO (*RIBES NIGRUM*)

Popolare in Europa e in Asia; in inglese “Blackcurrant”

La lamina si presenta palmata e leggermente rugosa con ghiandole di color giallastro e una venatura reticolata

La raccolta delle foglie avviene durante o subito dopo la fioritura

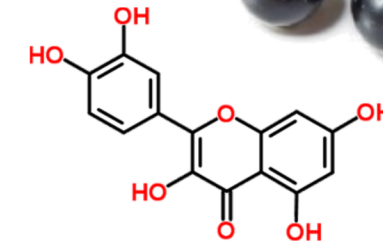
Analisi cromatografica e spettroscopica a infrarossi:

- 25% di composti fenolici, di cui il 90% sono PROANTOCIANIDINE
- flavonoli quercetina e kaempferol
- diversi tannini
- acidi alfa-linolenico (capostipite degli omega-3) e ascorbico

La quercetina non è presente in forma isolata, ma come aglicone di vari glicosidi, come la rutina e la quercitrina.

A differenza del frutto, le foglie hanno una bassa concentrazione di antociani e non contengono acidi idrossibenzoici

Le foglie di *Ribes nigrum* possono essere utilizzate per estrazioni su larga scala di molecole antiossidanti



Quercetin
C₁₅H₁₀O₇

Usi medicinali:

- ✓ dolori articolari lievi
- ✓ disturbi urinari minori
- ✓ diuretico
- ✓ agente diaforetico
- ✓ diarrea
- ✓ tosse spasmodica
- ✓ dolori reumatici
- ✓ attività antiossidante, antinfiammatoria e analgesica

2. FOGLIE DI MORA (*RUBUS FRUTICOSUS*)

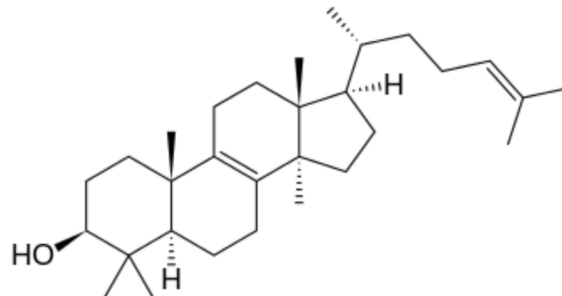
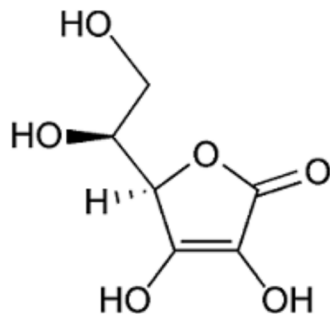
In inglese “Blackberry”

La lamina si presenta palmata e acuminata con nervature reticolate

Analisi fitochimica:

- tannini
- flavonoli come quercetina e kaempferol
- acidi fenolici come acido ellagico e acido idrossicinnamico
- triterpeni
- sali minerali (cromo e zinco)
- vitamina C
- ELLAGITANNINE (gruppo più abbondante, come nel frutto!)

Gli effetti benefici erano già noti molto tempo fa, quando Ippocrate raccolse e mandò gambi e foglie di mora imbevuti di vino bianco per facilitare il parto



Usi medicinali:

- ✓ mughetto, infiammazioni gengivali, ulcere della bocca e mal di gola
- ✓ attività astringente su ascessi e ulcere della pelle
- ✓ anemia, diarrea, dissenteria, cistite, emorroidi, problemi respiratori
- ✓ attività antimicrobica (maggiore rispetto al frutto) contro numerosi ceppi batterici (es: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*)
- ✓ attività antidiabetica/ipoglicemizzante
- ✓ attività analgesica, antinfiammatoria e angiogenica (cicatizzazione)

3. FOGLIE DI LAMPONE (*RUBUS IDAEUS*)

In inglese “Raspberry”

La foglia è imparipennata e apiculata

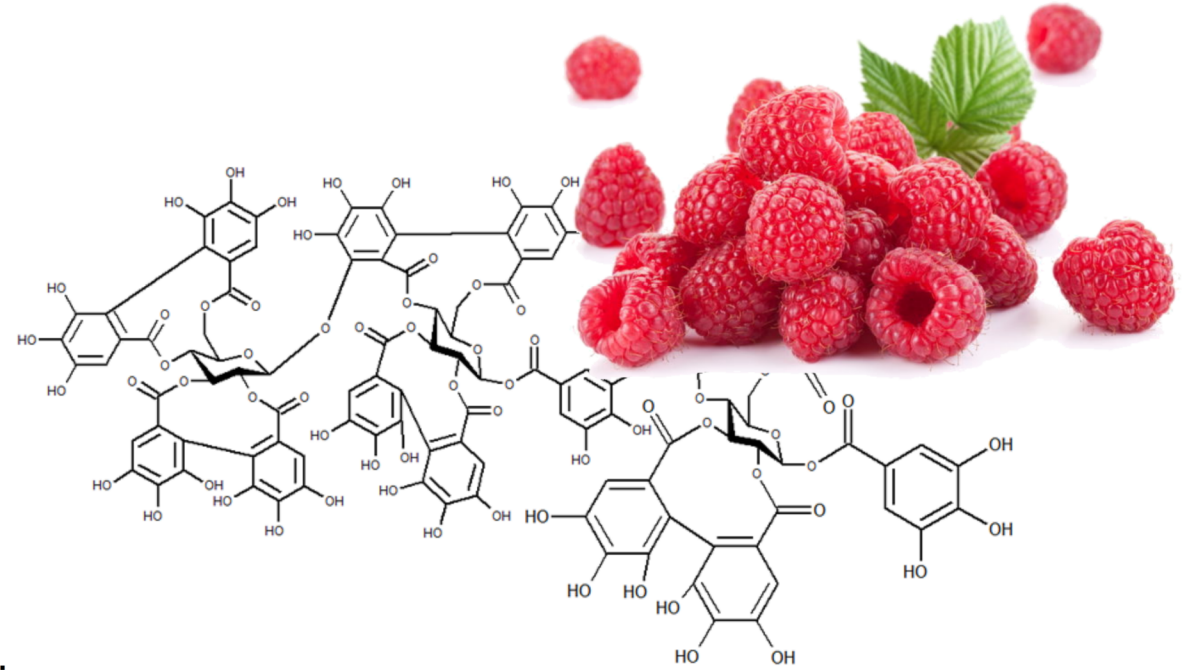
Composizione fitochimica:

- tannini, principalmente acidi ellagici
- FLAVONOIDI (quantità superiore rispetto ai frutti!)
- acido caffeico e acido clorogenico in piccole quantità
- terpenoidi

I ricercatori hanno trovato il più alto contenuto di flavonoidi nelle foglie di mora e lampone rispetto agli altri membri del genere *Rubus*

Le foglie di lampone hanno una minor quantità di tannini (3,25%) e di acidi ellagici (2,53%) rispetto alle foglie di mora (6,50%; 4,32%)

E' un'erba comunemente usata durante la gravidanza, ma non sono state dimostrate differenze clinicamente significative per quanto riguarda la durata della gestazione, la pressione arteriosa diastolica materna prima del travaglio, l'intensità del dolore durante il travaglio, la perdita di sangue materno



Usi medicinali:

- ✓ spasmi minori associati a periodi mestruali
- ✓ lievi infiammazioni nella bocca o nella gola
- ✓ lieve diarrea
- ✓ agente astringente
- ✓ congiuntivite
- ✓ elevata attività antiossidante

4. FOGLIE DI MIRTILLO NERO (*VACCINIUM MYRTILLUS*)

E' il comune mirtillo europeo selvatico che cresce nelle montagne e nelle foreste d'Europa; in inglese "Bilberry"

La foglia si presenta ellittica con margini seghettati e nervature reticolate

Contenuto di composti bioattivi:

- ANTOCIANI
- proantocianidine
- acidi idrossicinnamici (superiori rispetto al frutto!), in particolare acido clorogenico
- flavonoidi
- quercetina
- triterpeni

Variabilità della composizione fitochimica durante lo sviluppo:

con la maturazione diminuisce il contenuto di acido idrossicinnamico

foglie **rosse** (in autunno) → antociani, più flavonoli



Usi medicinali:

- ✓ attività diuretica, astringente, antibatterica e antisettica del tratto urinario
- ✓ infiammazioni della cavità orale
- ✓ attività antidiabetica (non ci sono prove cliniche)
- ✓ attività anti-stafilococcica verso *S. aureus* (vancomicina e linezolid)
- ✓ attività ipolipidemica (39% in meno di trigliceridi e 26% in meno di glucosio nel sangue)

Phenolic Compounds		Content in the Red Leaves (µg/g)	Content in the Green Leaves (µg/g)
Flavonols	Quercetin	10,369	3369
	kaempferol	244	171
Hidroxicinnamic Acids	p-coumaric	6007	2989
	caffeic or ferulic	16,249	7808
Proanthocyanidins	prodelphinidins	36	25
	procyanidins	402	962

5. FOGLIE DI MIRTILLO NERO (*VACCINIUM* SPP.)

Specie americane del genere *Vaccinium*:

mirtillo meridionale Highbush (*V. formosum*)

mirtillo meridionale Lowbush (*V. angustifolium*)

mirtillo settentrionale o mirtillo gigante americano (*V. corymbosum*)

Vaccinium corymbosum, anche noto come mirtillo blu ("Blueberry"), è quello più comune e vanta di una maggior quantità di ANTOCIANI rispetto alle altre specie



Le foglie del mirtillo gigante americano sono lanceolate

Caratteristiche simili a *Vaccinium myrtillus*

Phenolic Compounds		Content in the Red Leaves (µg/g)	Content in the Green Leaves (µg/g)
Flavonols	Quercetin	3530	1784
	Kaempferol	505	191
Hidroxicinnamic acids	p-coumaric	3060	490
	caffeic or ferulic acid	19,870	7537
Proanthocyanidins	Prodelphinidins	485	468
	Procyanidins	272	364

Variabilità del contenuto fitochimico a seconda della stagione:

foglie **rosse** → antociani, più flavonoli e più acidi idrossicinnamici (acidi cumarico e caffeico)

foglie **verdi** → assenza di antociani, più proantocianidine

➤ contenuto fenolico totale simile in entrambe le colorazioni, ma diversa quantità per ogni composto

Variabilità della composizione fitochimica a seconda del tempo di raccolta (maggio, luglio, settembre, ottobre):

due varietà di *V. corymbosum* → Nelson ed Elliot

3 parametri → contenuto fenolico totale, contenuto monomero di antociani e attività antiossidante

➤ valori più alti ad ottobre (mese ottimale di raccolta)

Mese del raccolto	Contenuto fenolico totale (mg GAE */g materia secca)		Antocianina monomerica totale (mg M3GE */g sostanza secca)		% Inibizione DPPH*	
	Varietà Nelson	Varietà Elliot	Varietà Nelson	Varietà Elliot	Varietà Nelson	Varietà Elliot
mag	106.901 ± 2.765	123.749 ± 2.473	0,548 ± 0,018	0,221 ± 0,042	81,55 ± 0,94	85,91 ± 0,86
lug	86.457 ± 0.741	106.133 ± 0.962	0,366 ± 0,179	0,245 ± 0,075	73,54 ± 1,94	84,32 ± 0,30
set	105,204 ± 3,826	120,962 ± 1,420	0,742 ± 0,015	0,135 ± 0,106	82,94 ± 0,11	85,43 ± 0,37
ott	152.356 ± 3.369	155.830 ± 2.103	1,202 ± 0,080	0,714 ± 0,115	89,17 ± 0,24	88,09 ± 0,23

*Equivalente di acido gallico GAE; Equivalente al 3-glucoside M3GE-malvidina, DPPH-2,2-difenil-1-picrylhydrazyl.

Usi medicinali:

- ✓ attività antimicrobica verso *S. aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Enterococcus faecium*, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus* (metodo di diffusione in agar)
- ✓ attività neuroprotettiva (estratti concentrati di acidi idrossicinnamici e glicosidi della quercetina)
- ✓ catarattogenesi



I principali distributori di mirtilli neri sono USA, Cile, Canada, Spagna, Cina e Marocco

6. FOGLIE DI MIRTILLO ROSSO AMERICANO O RIBES ROSSO (VACCINIUM MACROCARPON)

Arbusto sempreverde che cresce in Nord America; in inglese "Cranberry"

Composti fenolici predominanti:

- PROANTOCIANIDINE (quantità maggiore rispetto alle altre specie di bacche)
- flavonoli

Usi medicinali:

- ✓ elevata attività antiossidante
- ✓ infezioni del tratto urinario (glutazione perossidasi → *E. coli*)



7. FOGLIE DI MIRTILLO ROSSO (VACCINIUM VITIS-IDAEA)

Arbusto sempreverde, originario dell'Europa e dell'Asia; in inglese "Lingonberry"

Il frutto è analogo al mirtillo rosso americano

Le foglie sono piccole e ovali

Composizione fitochimica simile a quella del mirtillo nero europeo

Composti fenolici predominanti:

- acidi idrossicinnamici (CAFFEOILARBUTINA, assente nelle altre foglie di bacche)
- flavonoli (QUERCETINA)
- tannini (ARBUTINA e derivati)

Usi medicinali:

- ✓ attività diuretica e antisetica del tratto urinario
- ✓ tosse, catarro e infiammazioni

CONCLUSIONI

- ❖ Le foglie delle piante da “bacca” sono state “riscoperte” come potenziale fonte alternativa di composti bioattivi
- ❖ Hanno valore medicinale: la loro composizione fenolica è simile a quella dei frutti, se non superiore, e sono quindi ricche fonti di preziosi composti bioattivi a favore di una buona alimentazione
- ❖ Le foglie, pertanto, hanno un elevato potere antiossidante, antinfiammatorio e antimicrobico
- ❖ Quercetina e kaempferol sono i principali composti fenolici con attività antinfiammatoria e antidiabetica (cellule β , metabolismo energetico, sensibilità all'insulina)
- ❖ Le “bacche” selvatiche hanno un contenuto fitochimico più ricco rispetto alle bacche coltivate
- ❖ La biodisponibilità dei composti fenolici delle bacche varia a seconda del peso molecolare: quelli a basso PM vengono rapidamente assorbiti, i grandi polifenoli ad alto PM sono scarsamente assorbiti e le forme coniugate vengono prima metabolizzate e poi assorbite
- ❖ La letteratura scientifica è ancora estremamente limitata per quanto riguarda il nutraceutico: *in vitro* ci sono molti risultati positivi, ma *in vivo* servono ulteriori studi per valutare più accuratamente l'impatto sulla prevenzione di malattie croniche e la tossicità

BIBLIOGRAFIA

- Aronson J.K., 2017. Defining 'nutraceuticals': neither nutritious nor pharmaceutical. *British journal of clinical pharmacology*, 83(1), 8–19.
- Cortez R.E., Gonzalez de Mejia, E., 2019. Blackcurrants (*Ribes nigrum*): A Review on Chemistry, Processing, and Health Benefits. *Journal of Food Science*, 84: 2387-2401
- Daliu P., Santini A., Novellino E, 2019. From pharmaceuticals to nutraceuticals: bridging disease prevention and management. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 12(1): 1-7.
- Ferlemi A.V., Lamari F.N., 2016. Berry leaves: an alternative source of bioactive natural products of nutritional and medicinal value. *Antioxidants*, 5(2): 17.
- Gul K. Singh A.K, Jabeen R., 2016. Nutraceuticals and functional foods: the foods for the future world. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(16): 2617-2627.
- Nicoletti M., 2012. Nutraceuticals and botanicals: overview and perspectives. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(1): 2-6.
- Santini A., Cammarata S.M., Capone G., Ianaro A., Tenore G.C., Pani L., Novellino, E., 2018. Nutraceuticals: opening the debate for a regulatory framework. *British journal of clinical pharmacology*, 84(4): 659–672.
- Skrovankova S., Sumczynski D., Mlcek J., Jurikova T., Sochor, J., 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International journal of molecular sciences*, 16(10): 24673–24706.
- Ștefănescu B.E., Szabo K., Mocan A., Crișan G., 2019. Phenolic compounds from five Ericaceae species leaves and their related bioavailability and health benefits. *Molecules*, 24: 2046.