

ABSTRACT

Lo scopo di questo progetto di ricerca è stato lo studio chimico e biologico di quattro specie del genere *Hypericum*: *H. perforatum* L., *H. connatum* Lam, *H. hircinum* L., *H. perforatum* L.

Nella prima fase, è stato identificato l'isoflavone genisteina, purificato dall'estratto etanolicco di *H. connatum* con tecniche cromatografiche e caratterizzato con spettroscopia NMR.

Inoltre, è stata analizzata la composizione polifenolica degli estratti etanolicco e in acetato di etile di *H. connatum*. Nonostante gli estratti abbiano esibito un profilo polifenolico simile, l'analisi UPLC ha rivelato la presenza selettiva di rutina e apigenina, nell'estratto etanolicco, e di acido caffeico, epicatechina e acido p-cumarico, nell'estratto in acetato di etile.

L'attività antiossidante degli estratti di *H. connatum* è stata valutata attraverso il metodo del radicale DPPH. I risultati hanno mostrato per l'estratto etanolicco un'attività antiossidante doppia rispetto a quella dell'estratto in acetato di etile, probabilmente per effetto del flavonoide rutina.

Mediante metodiche GC e GC/MS sono state studiate le composizioni chimiche degli oli essenziali di *H. perforatum*, *H. perforatum* e *H. hircinum*, spontanei nell'Italia meridionale. Nei tre oli sono stati identificati complessivamente 111 composti: 53 per l'olio essenziale di *H. hircinum* (93,7% dell'olio totale), 55 per *H. perforatum* (96,5% dell'olio totale) e 63 per *H. perforatum* (98,7% dell'olio totale). La frazione maggiormente rappresentata negli oli essenziali di *H. hircinum* e *H. perforatum* è stata quella sesquiterpenica, mentre, il monoterpene α -pinene e il fenolo timolo sono stati i composti più abbondanti nell'olio essenziale di *H. perforatum*.

Gli oli essenziali sono stati valutati *in vitro* anche per la loro potenziale attività fitotossica contro la germinazione e l'iniziale allungamento della radichetta di semi di *Raphanus sativus* e *Lepidium sativum*. Per quanto riguarda il crescione, la germinazione è stata significativamente inibita dall'olio essenziale di *H. hircinum*, ai dosaggi più alti testati, mentre l'allungamento iniziale della radichetta è stato significativamente inibito dagli oli essenziali di *H. perforatum* e *H. hircinum*. Per il ravenello, invece, nessuno degli oli testati ha mostrato attività significativa sulla germinazione, mentre, l'allungamento iniziale della radichetta è stato inibito dall'olio essenziale di *H. hircinum*, in misura maggiore, e dagli oli di *H. perforatum* e di *H. perforatum*, in misura minore.

Un altro studio, condotto con il test di fuga, è stato svolto in due diversi periodi: nel primo periodo è stato valutato l'effetto protettivo della somministrazione acuta e cronica delle piante in esame sulle conseguenze comportamentali indotte nei ratti dallo stress inevitabile; nel secondo periodo è stato valutato l'effetto protettivo di due frazioni cromatografiche ottenute dall'estratto etanolicco dell'*H. connatum*. I ratti sono stati pre-testati e testati dopo trattamento acuto o cronico. In particolare, dai dati elaborati dopo trattamento acuto, l'estratto etanolicco di *H. connatum* è risultato significativamente attivo ad entrambe le dosi testate (0,5 g/kg p.v. per os, 1 g/kg p.v. per os), rispetto ai controlli. Inoltre, l'estratto di *H. perforatum* è risultato attivo solo alla dose di 0,5 g/kg p.v. per os; mentre l'estratto di *H. perforatum* è risultato attivo solo alla dose di 1 g/kg p.v. per os. L'estratto di *H. hircinum* è risultato, invece, privo di effetti significativi. Dai dati ottenuti per trattamento ripetuto, alla dose di 1 g/kg p.v. somministrata per os due volte al giorno per 14 giorni, tutti gli estratti testati sono

risultati significativamente attivi, rispetto ai controlli. Dai dati elaborati nel secondo periodo, dopo trattamento acuto, entrambe le frazioni cromatografiche B e C di *H. connatum* somministrate per os, alla dose di 0,250 g/kg p.v., sono risultate significativamente attive. Successivamente, dalla frazione cromatografica C sono stati purificati con HPLC tre composti che sono stati identificati con analisi NMR come isoquercetina, rutina e quercetina.

Inoltre, è stata verificata l'attività antimicrobica di tre specie di *Hypericum* (*H. connatum*, *H. hircinum*, *H. perforiatum*) contro due microrganismi patogeni emergenti (*Chromobacterium violaceum* e *Cronobacter sakazakii*). In particolare, gli estratti etanoliche di *H. connatum* e in etere di petrolio di *H. hircinum* sono risultati significativamente attivi nei confronti di *C. violaceum*, mentre gli estratti in etere di petrolio, cloroformio e miscela di cloroformio: metanolo (9:1) di *H. perforiatum*, e gli estratti in etere di petrolio e cloroformico di *H. hircinum* sono risultati significativamente attivi contro *C. sakazakii*.

Per la prima volta, è stata studiata l'attività anti-quorum sensing degli estratti di *H. connatum* nei confronti di ceppi di *C. violaceum*. In particolare, l'estratto etanoliche, alla dose di 25 µg, ha inibito la produzione di pigmenti violacei (violaceina) prodotti dal *C. violaceum* e responsabili dell'attività quorum sensing, senza interferire con la crescita batterica.

Infine, con saggi farmacognostici è stata confermata la presenza di cardenolidi nell'estratto etanoliche di *H. connatum*, e mediante uno studio *in vivo* è stata verificata l'attività cardiotonica dell'estratto etanoliche *H. connatum*.