

Brambilla Andreina

Isolamento e caratterizzazione di principi attivi polifenolici di origine vegetale mediante tecniche cromatografiche di spettrometria di massa e valutazione della loro attività preservante e antiossidante in formulati cosmetici

Riassunto

Nell'ambito della cosmesi funzionale è continua la ricerca di nuovi principi attivi naturali con proprietà conservante dotati di minore tossicità e/o tollerabilità cutanea rispetto a derivati di sintesi.

Tra i principi attivi vegetali che posseggono queste due importanti caratteristiche, si annoverano i polifenoli a struttura semplice o polimerica.

La ratania (*Krameria Triandra*, Leguminosae) è una pianta largamente diffusa in Perù e nelle aree dell'America meridionale ed è stata introdotta in Europa solo alla fine del 1700. Gli estratti di ratania trovano ampio impiego in medicina popolare nelle infezioni del cavo orale, ed in particolare nelle gengiviti, grazie alle loro proprietà antiinfiammatorie ed antimicrobiche, queste ultime non ancora sufficientemente chiarite.

Nel settore cosmetico gli estratti di ratania vengono utilizzati come co-antiossidanti, anche se a tutt'oggi non è ancora stato fornito un razionale uso.

L'attività di ricerca si è pertanto articolata nei seguenti punti:

1. Caratterizzazione strutturale dei derivati fenolici della *Krameria Triandra*
2. Determinazione della loro attività antimicrobica
3. Determinazione della loro attività antiossidante

A) La caratterizzazione strutturale dei principi attivi contenuti nelle diverse frazioni della droga ottenute estraendo le radici con solventi a crescente polarità, è stata effettuata mediante analisi LC-MS e mediante analisi in spettrometria di massa FAB-MS/MS.

L'indagine LC-MS offre un profilo completo dei costituenti lipofili contenuti nelle radici di ratania consentendo la rapida caratterizzazione di rataniafenoli e di lignani.

L'analisi FAB-MS/MS delle frazioni più polari della droga (Butilacetato ed Etilacetato) ha consentito la caratterizzazione dei componenti polifenolici idrofili.

In particolare l'indagine in spettrometria FAB-MS/MS (parent scan) dello ione m/z 289 (nucleo catechico), sia della frazione Butilacetato che Etilacetato, evidenzia la presenza di numerose specie ioniche con valori di m/z compresi tra 400 e 800.

Tali ioni, sottoposti a collisione, hanno fornito spettri daughter caratteristici che hanno consentito di identificare sia derivati glucosidici della Catechina che prodotti di condensazione della catechina: proantocianidine dimeriche (Catechina-Afzelechina) ed i corrispondenti fenilpropanoidi sostituiti. Gli spettri FAB-MS/MS (parent scan) dello ione m/z 179, hanno invece permesso di individuare la "famiglia" dei Caffeoil derivati.

B) Dal momento che per le frazioni lipofile (etere di petrolio, cloroformio, cloroformio a pH acido) è già stata dimostrata da altri autori una discreta attività antimicrobica nei confronti di diversi ceppi (Staph. Aureus, Staph. Faecalis, Str. Faecalis, E. coli, Proteus vulgaris, Pseud. Aeruginosa, candida albicans), le ricerche sono proseguite con una valutazione di tale attività anche sugli estratti idrofili (etilacetato, butilacetato e n-butanolo).

Dai dati ottenuti si evidenzia che l'estratto Etilacetato determina un grado di inibizione della crescita microbica (range degli aloni di inibizione 12 mm) superiore a quello del Butilacetato (range 9 mm).

In particolare la frazione Etilacetato dimostra una discreta attività anche nei confronti di Streptococcus faecalis e Pseudomonas aeruginosa, ceppi sui quali risulta del tutto inefficace l'estratto Butilacetato. A qualsiasi concentrazione testata, Candida albicans e Proteus vulgaris risultano resistenti.

L'estratto n-butanolo risulta inefficace a tutte le concentrazioni testate.

L'attività microbiologica delle frazioni idrofile è nettamente inferiore rispetto a quella riscontrata in quelle lipofile in cui l'azione inibente della crescita microbica è in alcuni ceppi comparabile a quella dell'Ampicillina.

C) Data l'esigenza di nuove molecole in grado di prevenire e contrastare l'invecchiamento cutaneo precoce dovuto alla formazione di radicali liberi, nell'ultima parte di questo studio è stata valutata l'attività antiossidante.

Per questa indagine sono state considerate le frazioni etilacetato e butilacetato applicando un modello di lipoperossidazione ormai consolidato che utilizza liposomi di Fosfatidilcolina di soya. In particolare è stata considerata la capacità di inibire la formazione dei dieni coniugati in fase di propagazione del processo perossidativo.

La formazione dei dieni coniugati viene inibita da entrambe le frazioni (etilacetato e butilacetato) in maniera dose-dipendente a partire da una concentrazione 0,5 g/ml

(rispettivamente 76% e 83% di inibizione della formazione di dieni coniugati calcolata dopo 18 ore dall'inizio della fase di propagazione).

E' importante sottolineare che, mentre nei controlli il plateau dei dieni coniugati (77,37 nmoli/ml) si raggiunge dopo circa 18 ore dall'inizio del processo perossidativo, in presenza dei due estratti si osserva un tempo di latenza nella formazione dei dieni coniugati, di circa 30 ore (Lag Phase), già alla concentrazione di 0,5 g/ml e di conseguenza un significativo ritardo nel raggiungimento del plateau (70 ore).

L'effetto è dose-risposta: infatti alla concentrazione 1,5 g/ml il plateau viene raggiunto solo dopo 160 ore.

A tutte le concentrazioni testate: 0,5 (g/ml), 1 (g/ml), 1,5 (g/ml) l'estratto butilacetato ha manifestato un grado di inibizione leggermente superiore a quello dell'estratto etilacetato.

La spiccata attività anti lipoperossidante manifestata dagli estratti di ratania considerati, spiegherebbe e razionalizzerebbe da un lato il loro impiego in medicina popolare come antiinfiammatori del cavo orale, e dall'altro aprirebbe interessanti prospettive di impiego nel settore della cosmesi funzionale nei prodotti destinati alla prevenzione dell'invecchiamento cutaneo.