

Valutazione degli effetti benefici gastrointestinali del castagno (*Castanea sativa* Mill.)

Enrico Sangiovanni

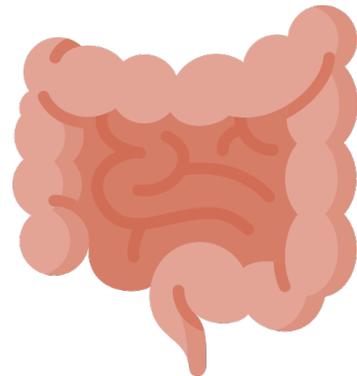
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari
"Rodolfo Paoletti", Università degli Studi di Milano



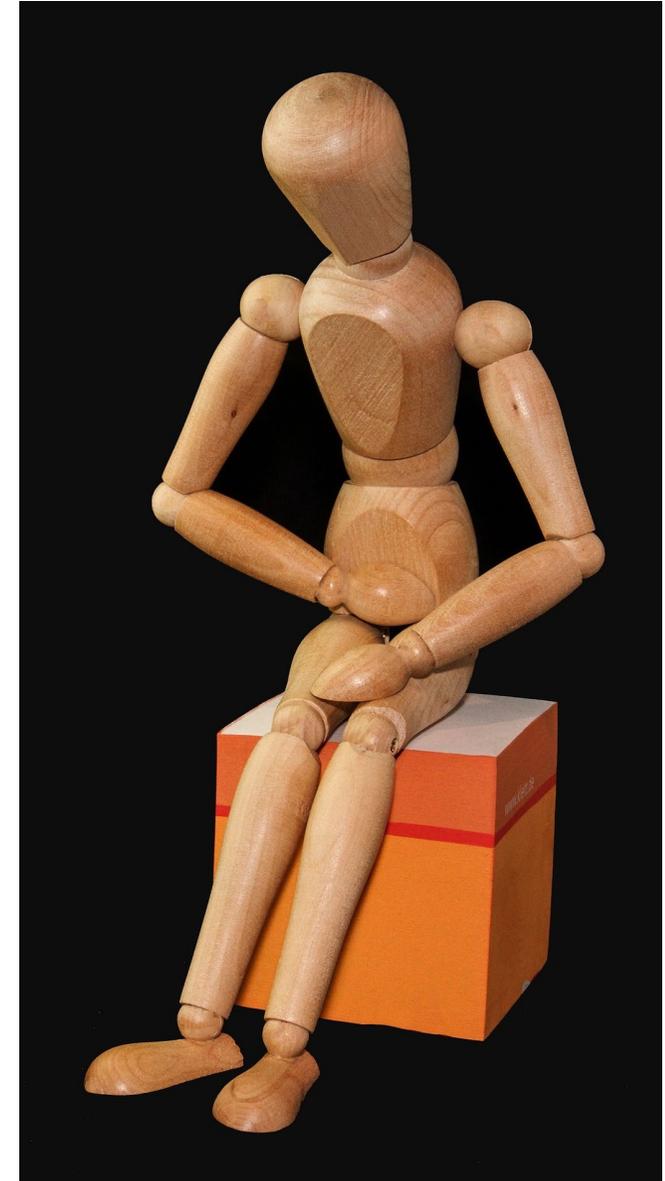
Malattie infiammatorie croniche intestinali

- Colpiscono quasi 7 milioni di persone nel mondo
- Circa 250.000 solo in Italia
- Si stima che nei prossimi 10 anni possa verificarsi una crescita della prevalenza di oltre il 30-40%

COLITE



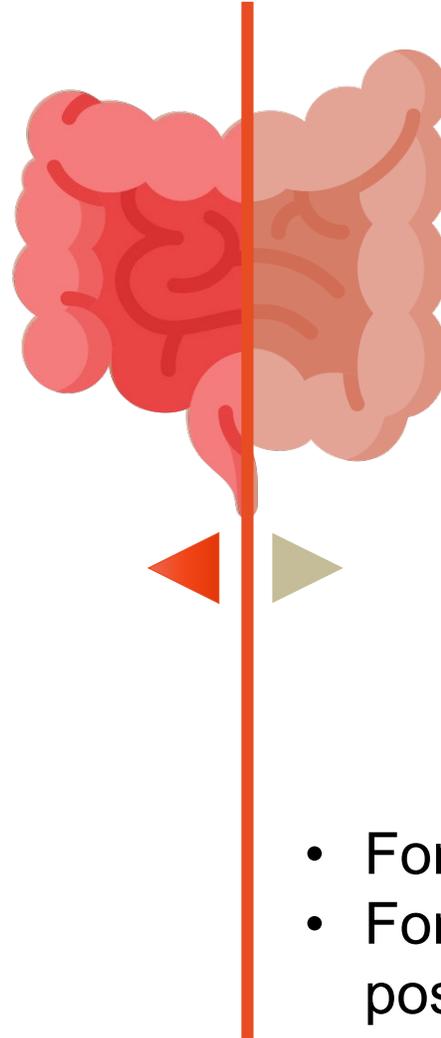
CHRON



Ruolo della dieta



- **Danno diretto** alla mucosa
- **Radicali liberi**



- Fonti di **anti-ossidanti**
- Fonti di **composti secondari** con possibile effetto **anti-infiammatorio**

Castanea sativa Mill.

- Famiglia delle Fagaceae.
- Impiego tradizionale:
 - corteccia per il trattamento della dissenteria
 - foglie nelle affezioni delle vie respiratorie.



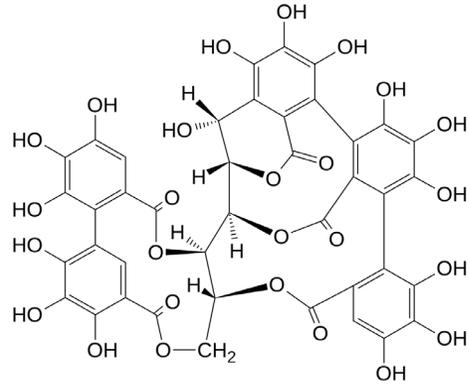
Tannini



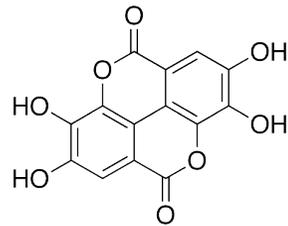
Corteccia e foglie: contengono tannini idrolizzabili e in misura minore anche condensati

Metabolismo dei tannini

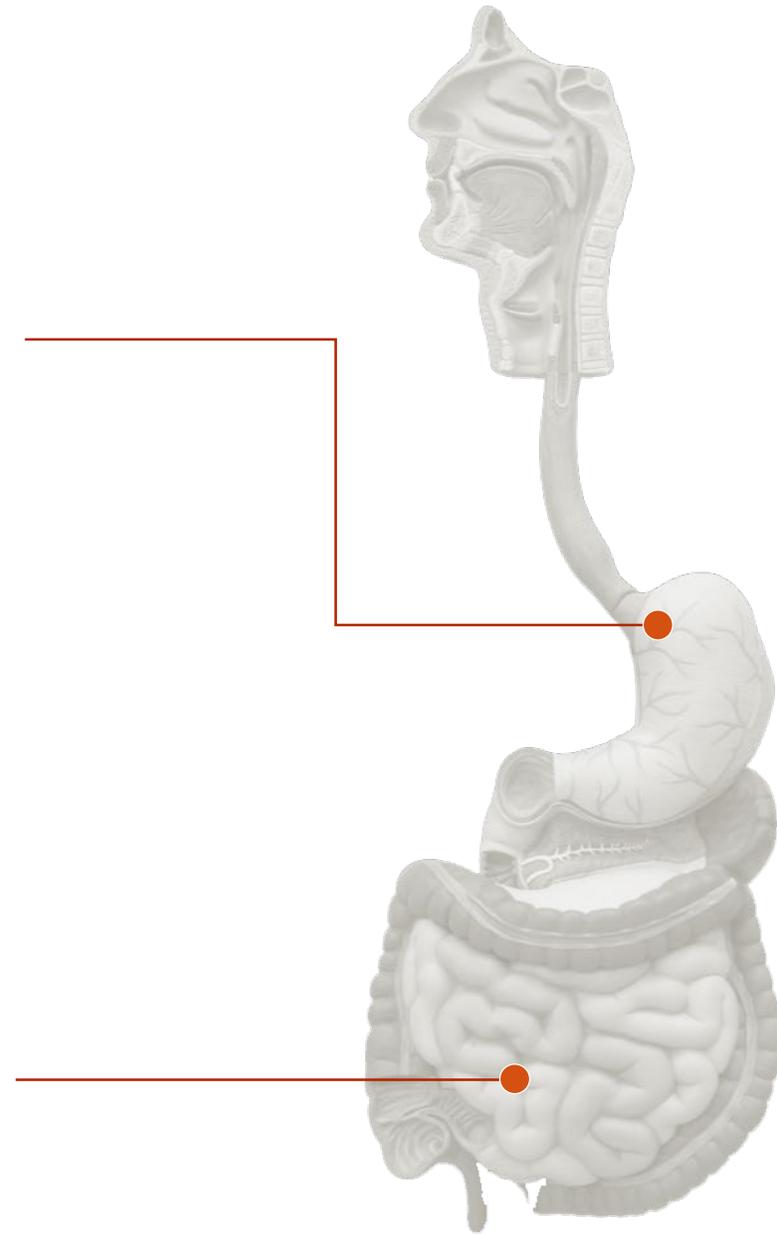
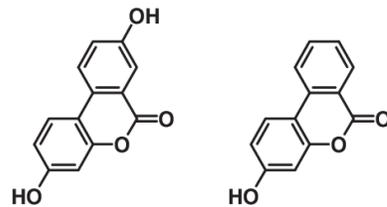
Ellagitannini



Acido ellagico



Urolitine



Comparative Study

> Pharmacol Res. 2018 Aug;134:145-155. doi: 10.1016/j.phrs.2018.06.016.

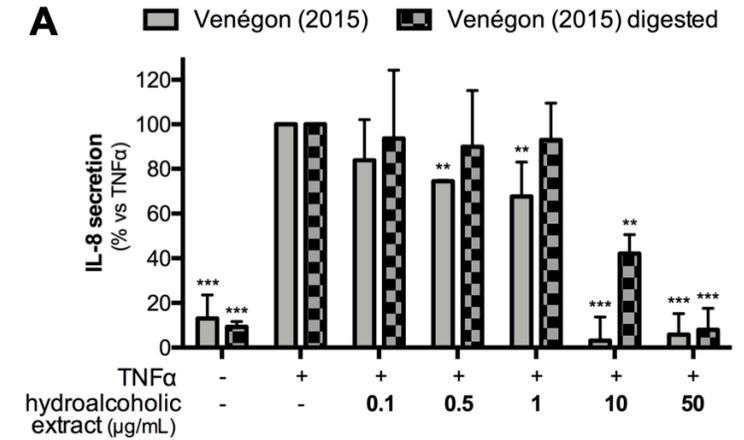
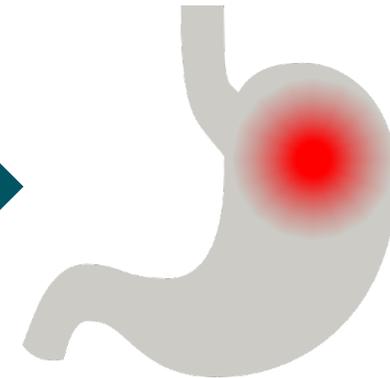
Epub 2018 Jun 18.

A bio-guided approach for the development of a chestnut-based proanthocyanidin-enriched nutraceutical with potential anti-gastritis properties

[Erico Sangiovanni](#)¹, [Stefano Piazza](#)¹, [Urska Vrhovsek](#)², [Marco Fumagalli](#)¹, [Saba Khalilpour](#)¹,
[Domenico Masuero](#)², [Chiara Di Lorenzo](#)¹, [Luca Colombo](#)³, [Fulvio Mattivi](#)², [Emma De Fabiani](#)⁴,
[Mario Dell'Agli](#)⁵

Affiliations + expand

PMID: 29928974 DOI: [10.1016/j.phrs.2018.06.016](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.06.016)



B

IC ₅₀ µg/mL ± s.d.	2015	2015 digested
Venégon	1.5 ± 0.52	4.13 ± 1.83

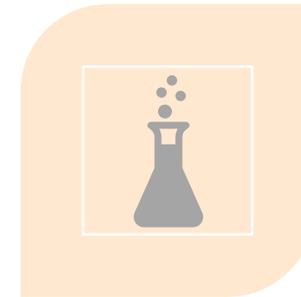
Valutazione dei prodotti di scarto della castanicoltura di ***Castanea sativa* Mill.** in ambito intestinale per:



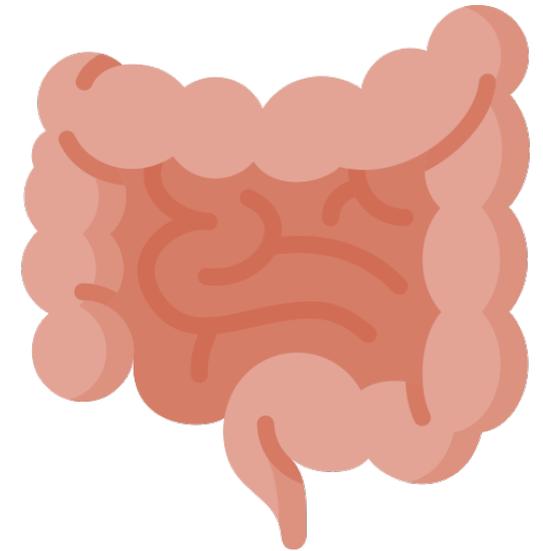
**CARATTERIZZAZIONE
FITOCHIMICA**



**POTENZIALI
PROPRIETÀ
ANTISSIDANTI E
ANTINFIAMMATORIE IN
CELLULE INTESTINALI**



**STABILITÀ PRIMA E
DOPO DIGESTIONE
GASTROINTESTINALE**





SCARTI OTTENUTI DA:

POTATURA PERIODICA



LEGNO



GEMME
QUIESCENTI

LAVORAZIONE DELLA CASTAGNA



RICCI



PERICARPO



EPISPERMA

Procedura di estrazione del materiale vegetale



MACINAZIONE
IN AZOTO
LIQUIDO



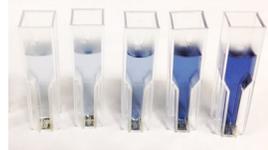
ESTRAZIONE
IDROALCOLICA
con sonicazione
2g in 20 mL



EVAPORAZIONE
SOLVENTE E
LIOFILIZZAZIONE

Caratterizzazione degli estratti

Contenuto in polifenoli totali



Folin–Ciocalteu

Profilo polifenolico



HPLC coupled to mass spectrometry (LTQ ion trap)

Quantificazione degli ellagitannini



Exion LCTM AC System (AB Sciex) and a Triple QuadTM 3500 system (AB Sciex) in ESI negative ionization

Capacità di scavenging:

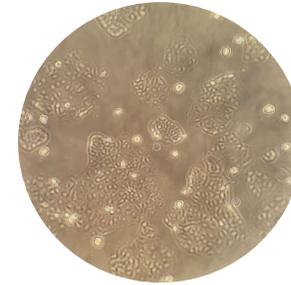


DPPH assay



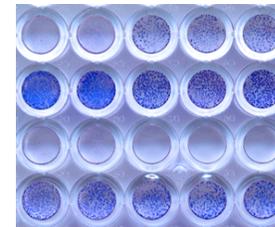
ORAC assay

Saggi biologici



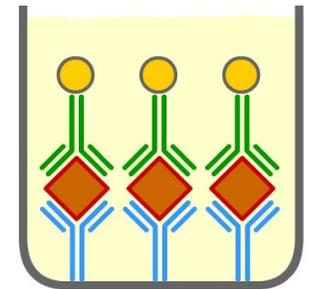
CaCo-2
stimulate con IL-1 β e IFN- γ

Saggio MTT

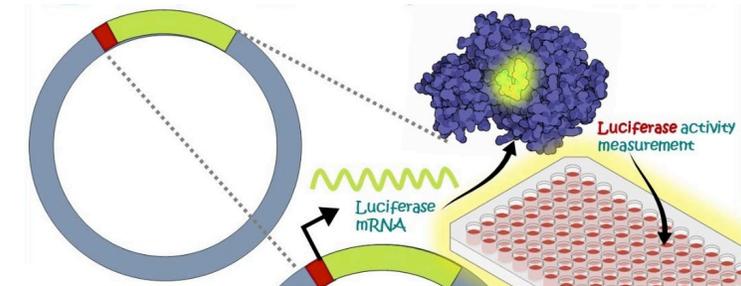


Saggi ELISA

CXCL-10, IL-8, MCP-1, ICAM-1



Plasmidi
reporter per
NF- κ B e HIF-1



PROTOCOLLO PER DIGESTIONE GASTROINTESTINALE SIMULATA *IN VITRO*

Saliva (pH 6.5 ± 0.1)

896 mg KCl	145 mg amylase
200 mg KSCN	15 mg uric acid
570 mg Na ₂ SO ₄	50 mg mucin
298 mg NaCl	nano pure H ₂ O
1.8 ml 1M NaOH	
200 mg urea	
1021 mg NaH ₂ PO ₄ ·xH ₂ O	

5
min

Succo Gastrico (pH 1.1 ± 0.1)

2752 mg NaCl	85 mg urea
824 mg KCl	1 g BSA
302 mg CaCl ₂	1 g pepsin
306 mg NH ₄ Cl	3 g mucin
8.3 ml HCl (37%)	nano pure H ₂ O
650 mg glucose	20 mg glucuronic acid
306 mg NaH ₂ PO ₄ ·xH ₂ O	
330 mg glucosaminehydrochloride	

2
ore

Succo Duodenale (pH 7.8 ± 0.1)

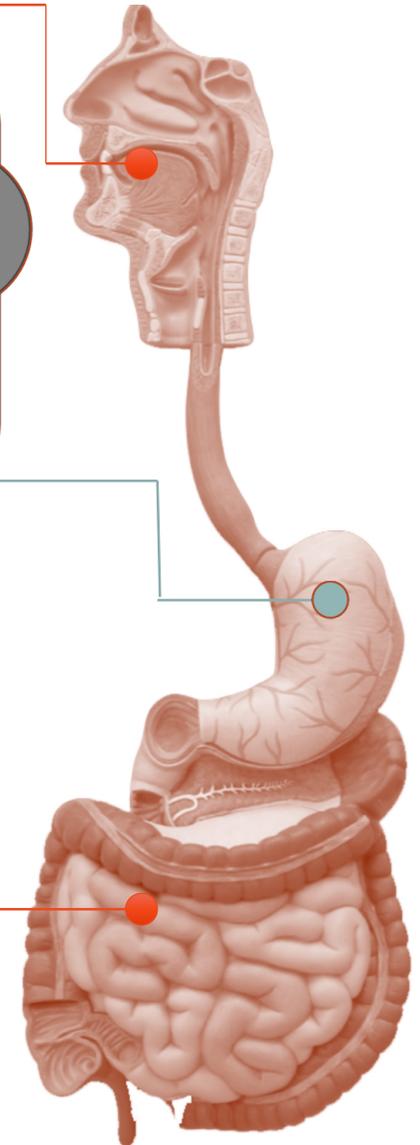
7012 mg NaCl
3388 mg NaHCO ₃
80 mg KH ₂ PO ₄
564 mg KCl
50 mg MgCl ₂ ·6H ₂ O
180 µl HCl (37%)
100 mg urea
151 mg CaCl ₂
1 g BSA
3 g pancreatin
0.5 g lipase
nano pure H ₂ O

+

Succo Biliare (pH 8.0 ± 0.1)

5259 mg NaCl
5785 mg NaHCO ₃
376 mg KCl
200 µl HCl (37%)
250 mg urea
167.5 mg CaCl ₂
1.8 g BSA
6 g bile
nano pure H ₂ O

2
ore



RISULTATI



POTENZIALI
PROPRIETÀ
ANTISSIDANTI



CARATTERIZZAZIONE
FITOCHIMICA

	Polifenoli totali ¹ (mg GAE ² /g ± SEM ³)	Saggio ORAC (mmol Trolox equivalent/g ± SEM)	Saggio DPPH (mmol Trolox equivalent/g ± SEM)	Vescalagina (µg/g ± SEM)	Castalagina (µg/g ± SEM)
Gemma	428.4 ± 3.3 <i>a</i>	51 ± 1.8 <i>c</i>	7.2 ± 0 <i>f</i>	19.2 ± 0.1 <i>b</i>	20.5 ± 0.0 <i>d</i>
Legno fresco	391.2 ± 1.3 <i>b</i>	46 ± 1.7 <i>b</i>	7.3 ± 0.1 <i>f</i>	21.4 ± 0.2 <i>a</i>	41.3 ± 0.2 <i>a</i>
Legno secco	365.6 ± 11.4 <i>c</i>	47 ± 1.0 <i>b</i>	6.6 ± 0.2 <i>e</i>	12.7 ± 0.0 <i>c</i>	39.4 ± 0.1 <i>b</i>
Pericarpo secco	287.2 ± 8.4 <i>e</i>	17.8 ± 0.0 <i>a</i>	2.77 ± 0.07 <i>c</i>	0.4 ± 0.0 <i>e</i>	6.9 ± 0.1 <i>e</i>
Pericarpo fresco	54.9 ± 7.3 <i>g</i>	16.4 ± 10.1 <i>a</i>	0.17 ± 0.03 <i>a</i>	0.29 ± 0.0 <i>e</i>	2.11 ± 0.0 <i>g</i>
Episperma	314.3 ± 12.1 <i>d</i>	17.3 ± 0.1 <i>a</i>	3.11 ± 0.14 <i>d</i>	0.34 ± 0.0 <i>e</i>	3.55 ± 0.0 <i>f</i>
Riccio	117.5 ± 7.0 <i>f</i>	17.1 ± 0.1 <i>a</i>	1.39 ± 0.14 <i>b</i>	7.4 ± 0.7 <i>d</i>	32.4 ± 0.5 <i>c</i>

Lettere diverse indicano
differenze significative
($p < 0,05$)

¹ Valutati con il metodo di
Folin-Ciocalteu

² GAE: Equivalenti di acido
gallico

³ SEM: Errore standard di tre
esperimenti indipendenti

RISULTATI



**CARATTERIZZAZIONE
FITOCHIMICA**

Dati HPLC/LTQ ion trap/MS/MS dei composti rilevati negli estratti dei sottoprodotti di castagno.



Compound	(M - H) ⁻	Product ion (m/z)
Gallic acid	169	125
Catechin	289	245, 203, 125, 123, 109
Ellagic acid	301	284, 257, 229, 185
Gallocatechin	305	261, 219, 179, 167, 137, 125
Phenol glucoside (crenatin)	317	299, 155
Monogalloyl-glucose	331	313, 295, 271, 241, 211, 169, 125
Trimethylellagic acid	343	328, 313, 299, 297, 284, 275
Chebulic acid isomer	355	169, 203
Quercetin pentoside	433	301, 300, 273, 255, 179
Isorhamnetin-O-pentoside	447	315, 301, 284
Dimethylellagic acid pentoside	461	446, 328, 313, 299, 285, 284
Taxifolin-O-hexoside	465	447, 437, 303, 285, 275, 259, 217, 179, 151, 125
Galloyl phenol glucoside (cretanin)	469	317, 307, 169
Dimethylellagic acid deoxyhexoside	475	460, 328, 313, 299, 275, 217, 193
Methylellagic acid hexoside	477	329, 328, 330, 314
Quercetin hexuronoside	477	301
Isorhamnetin 3-O-β-D-glucoopyranoside	477	357, 315, 314, 285, 300
Digalloyl glucose	483	465, 331, 313, 169
Lignan hexoside	519	357
Ellagic acid 3,30,4-trimethoxy 4-O-α-L-rhamnopyranoside	535	343
Kaempferol coumaroyl hexoside	593	447, 285
Quercetin coumaroyl hexoside	609	463, 301
Galloyl phenol glucoside gallate (galloyl-cretanin)	621	469, 451, 313, 271, 169, 125
Trigalloyl glucose	635	483, 465, 331, 313, 271, 211
Kaempferol acetyl coumaroyl hexoside	635	575, 285
Digallyl phenol glucoside (chesnatin)	637	593, 467, 305
Kaempferol deoxyhexosyl coumaroyl hexoside	739	593, 575, 453, 285
Quercetin dicoumaroyl hexoside	755	609, 301
Kaempferol acetyl dicoumaroyl hexoside	781	635, 495, 285
Castalagin	933	425, 301, 441,
Vescalagin	933	425, 301, 441,
Digalloyl-valoneic dilactone-glucose isomer	935	917, 783, 633, 631, 469, 451, 425, 301
Galloyl phenol glucoside dimer (chestanin)	937	637, 467, 301
HHDP-Valoneoyl-glucose isomer (praecoxin A/platycariin isomer)	951	907, 783, 465, 453
Galloyl-chebuloyl-HHDP-glucose (chebulagic acid)	953	909, 785
Castavalonic acid	1101	1057

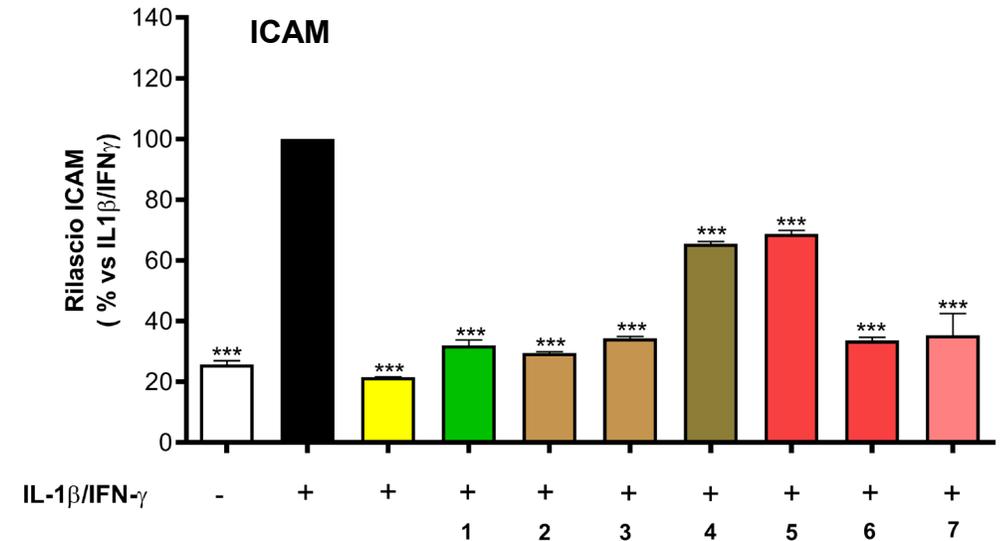
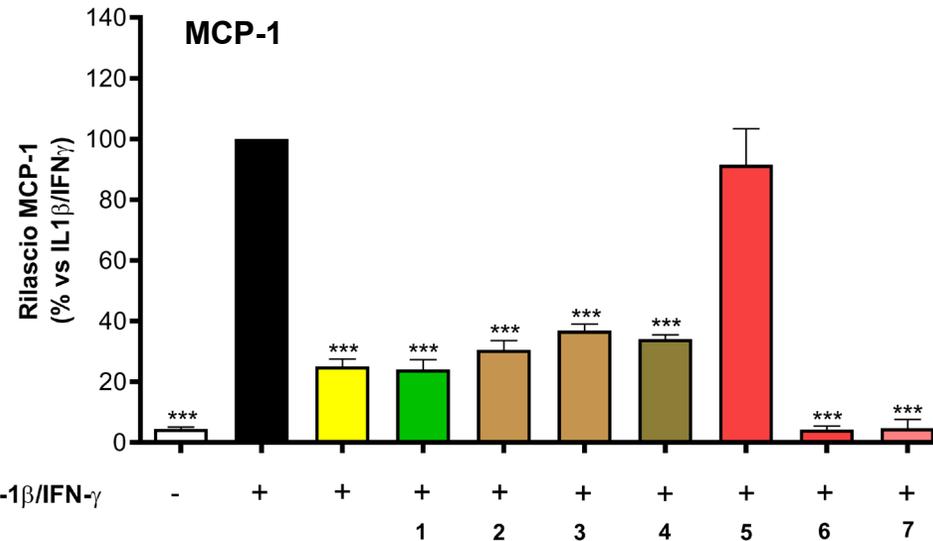
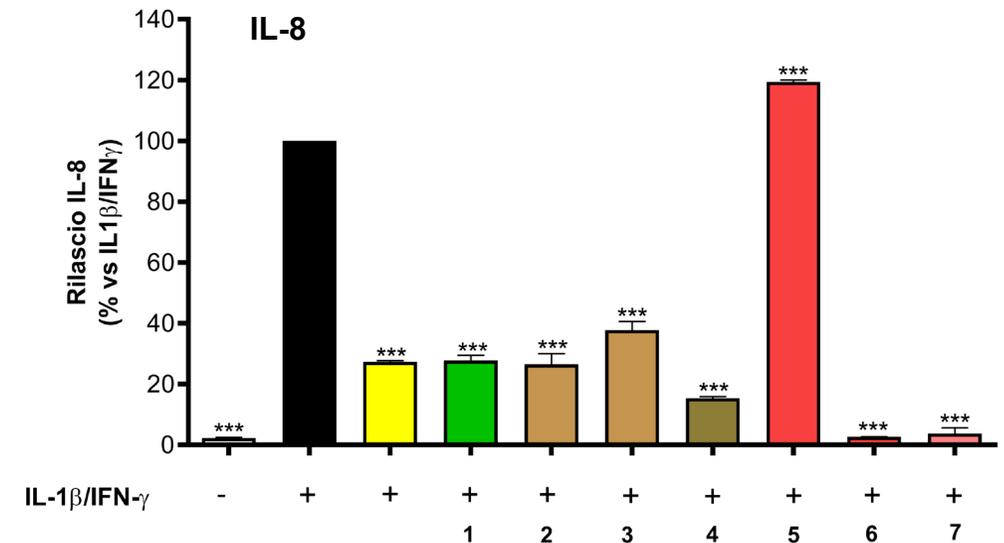
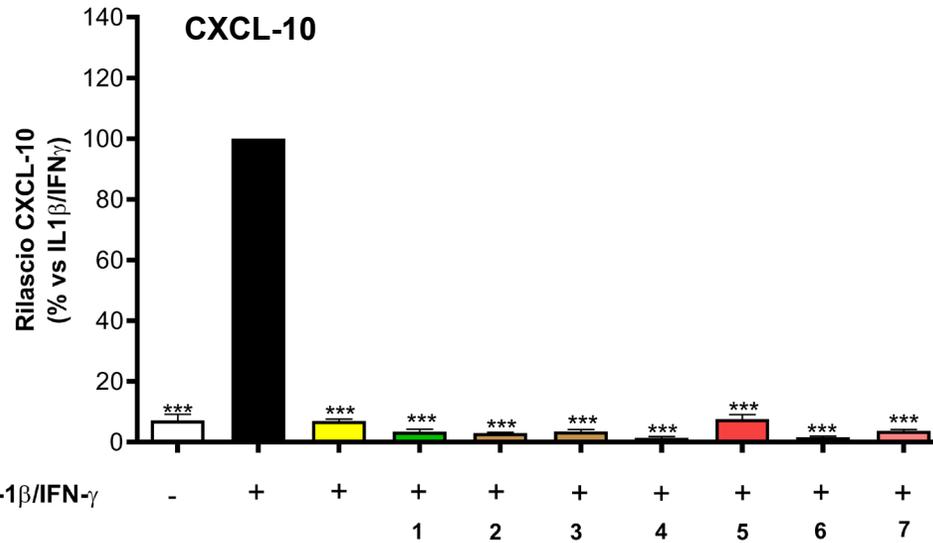
Attività antinfiammatoria a 50 µg/mL



POTENZIALI
PROPRIETÀ
ANTINFIAMMATORIE

EGCG 20 µM

- 1. Gemma
- 2. Legno fresco
- 3. Legno secco
- 4. Riccio
- 5. Pericarpo fresco
- 6. Pericarpo secco
- 7. Episperma



*p<0.05, **p<0.01,
***p<0.001 vs IL-1β-IFN-γ

Attività antinfiammatoria



POTENZIALI
PROPRIETÀ
ANTINFIAMMATORIE



	CXCL-10		IL-8		MCP-1		NF-κB	
	IC ₅₀ (μg/mL)	CI (95%)	IC ₅₀ (μg/mL)	CI (95%)	IC ₅₀ (μg/mL)	CI (95%)	IC ₅₀ (μg/mL)	CI (95%)
Gemma	2.13	1.68 a 2.70	10.10	7.26 a 14.05	8.01	5.55 a 11.55	14.65	13.71 a 15.67
Riccio	4.50	3.58 a 5.66	3.67	2.68 a 5.01	25.37	18.17 a 35.43	n.d.	
Legno fresco	1.43	0.99 a 2.06	7.58	5.12 a 11.21	13.08	8.63 a 19.82	17.49	12.36 a 24.74
Legno secco	1.28	0.78 a 2.09	21.26	14.65 a 30.86	23.81	18.08 a 31.35	31.96	27.93 a 36.58
Pericarpo fresco	7.34	6.03 a 8.94	n.d.		n.d.		n.d.	
Pericarpo secco	1.82	1.14 a 2.91	8.01	6.69 a 9.59	3.15	2.07 a 4.77	2.36	1.12 a 5.02
Episperma	1.64	0.95 a 2.82	3.91	2.83 a 6.42	6.42	4.50 a 9.15	2.27	1.65 a 3.10

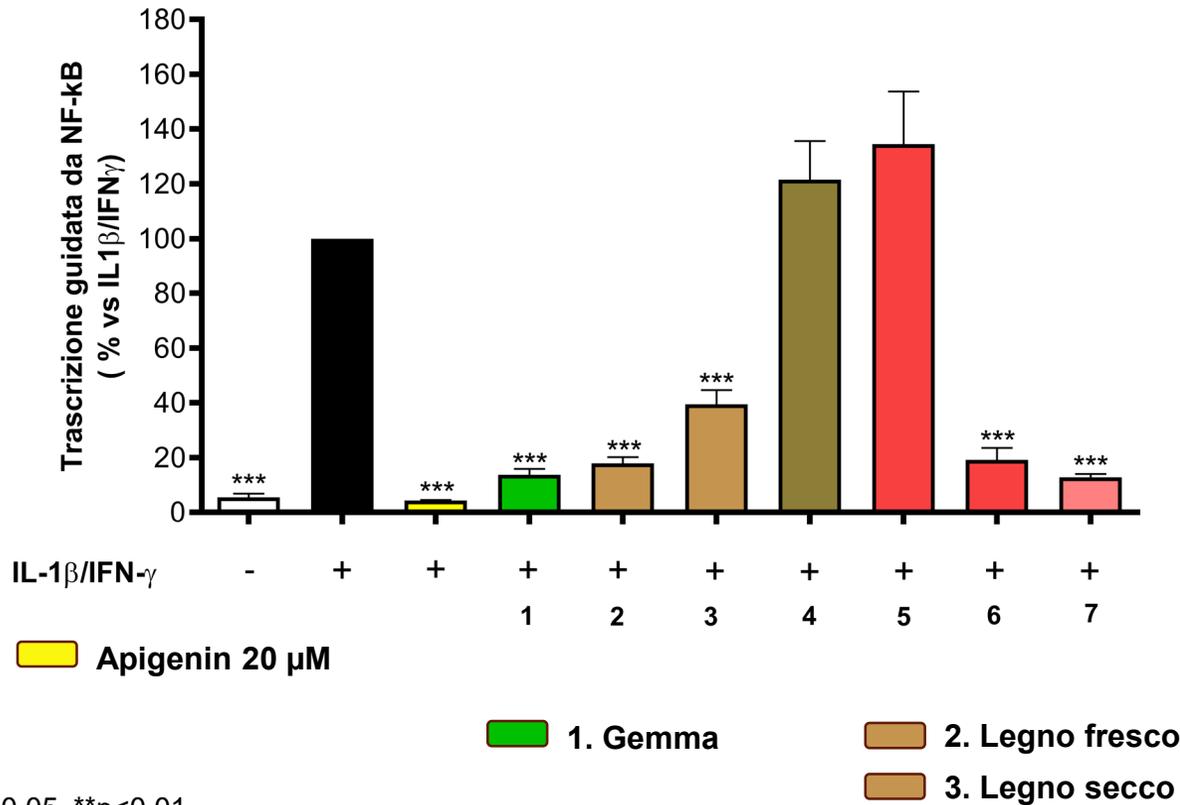
*p<0.05, **p<0.01,
***p<0.001 vs IL-1β-IFN-γ

Attività antinfiammatoria a 50 µg/mL

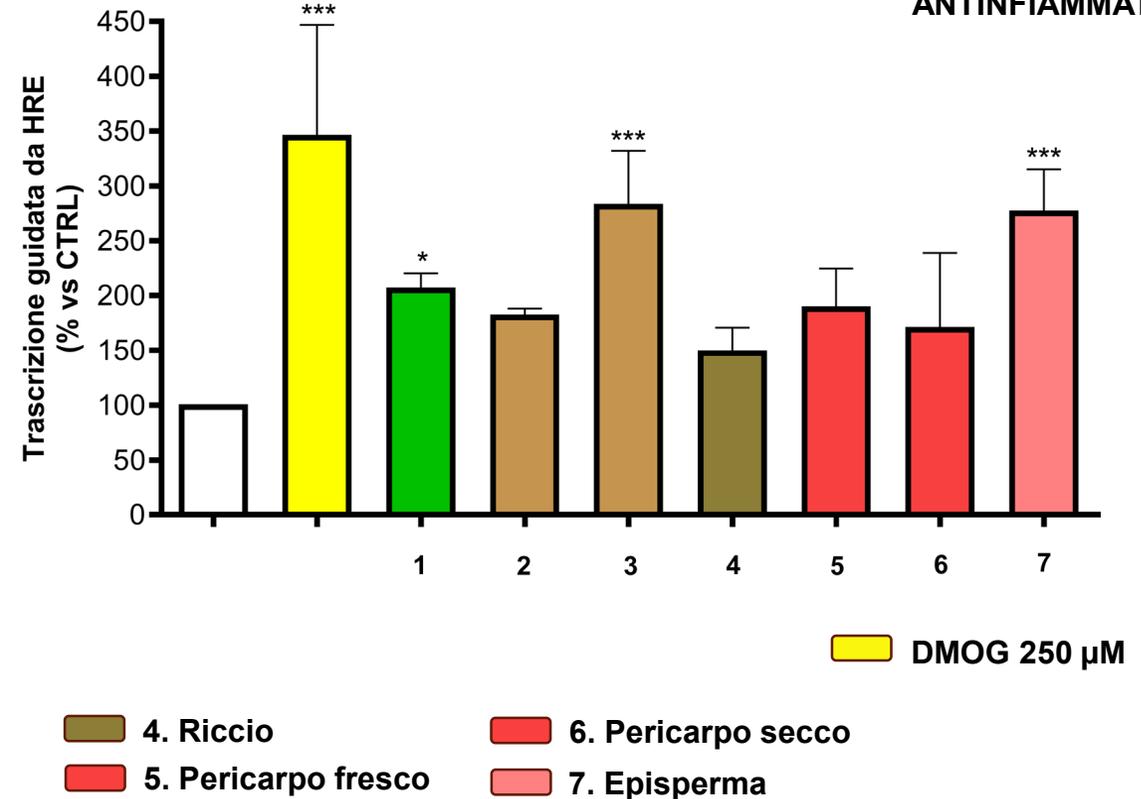


POTENZIALI
PROPRIETÀ
ANTINFIAMMATORIE

Trascrizione guidata da NF-κB



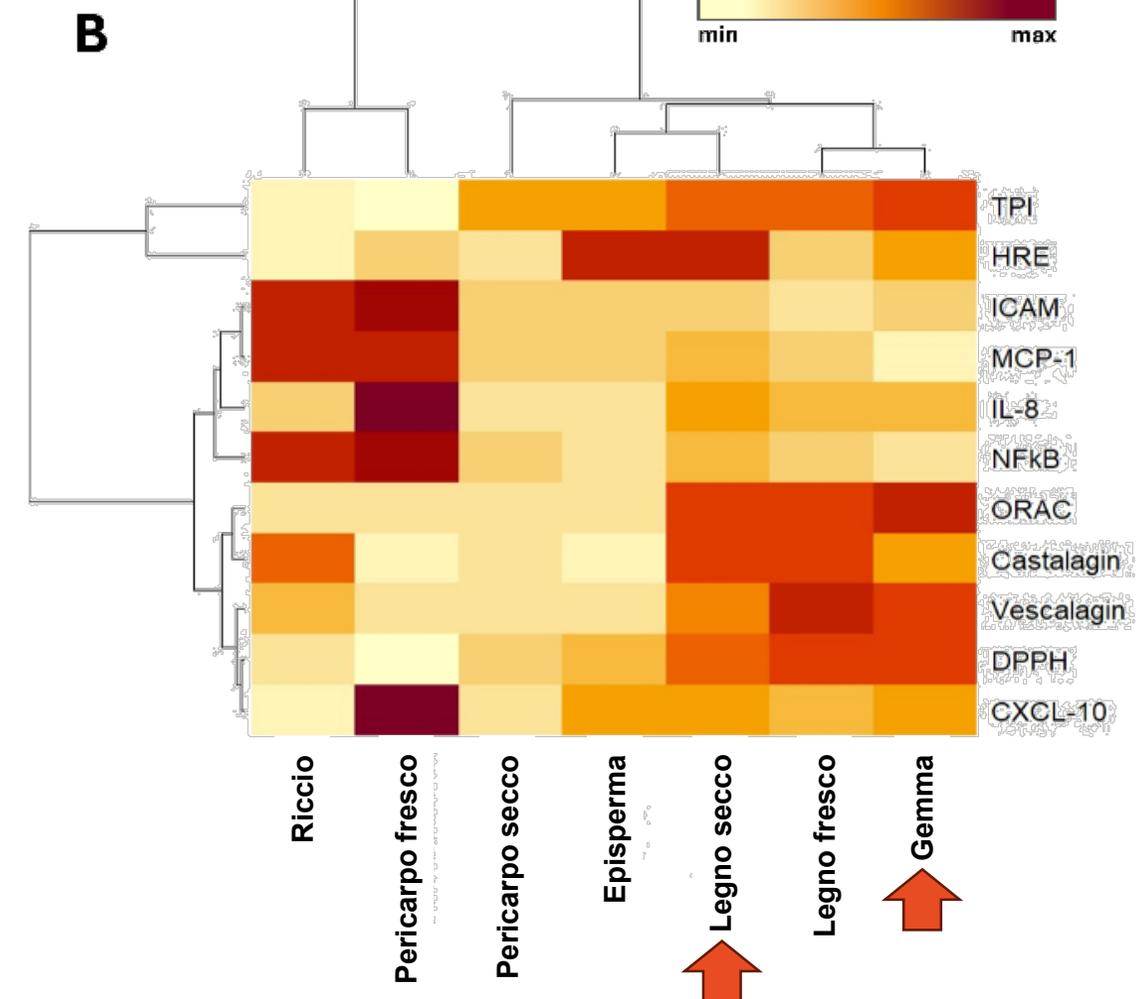
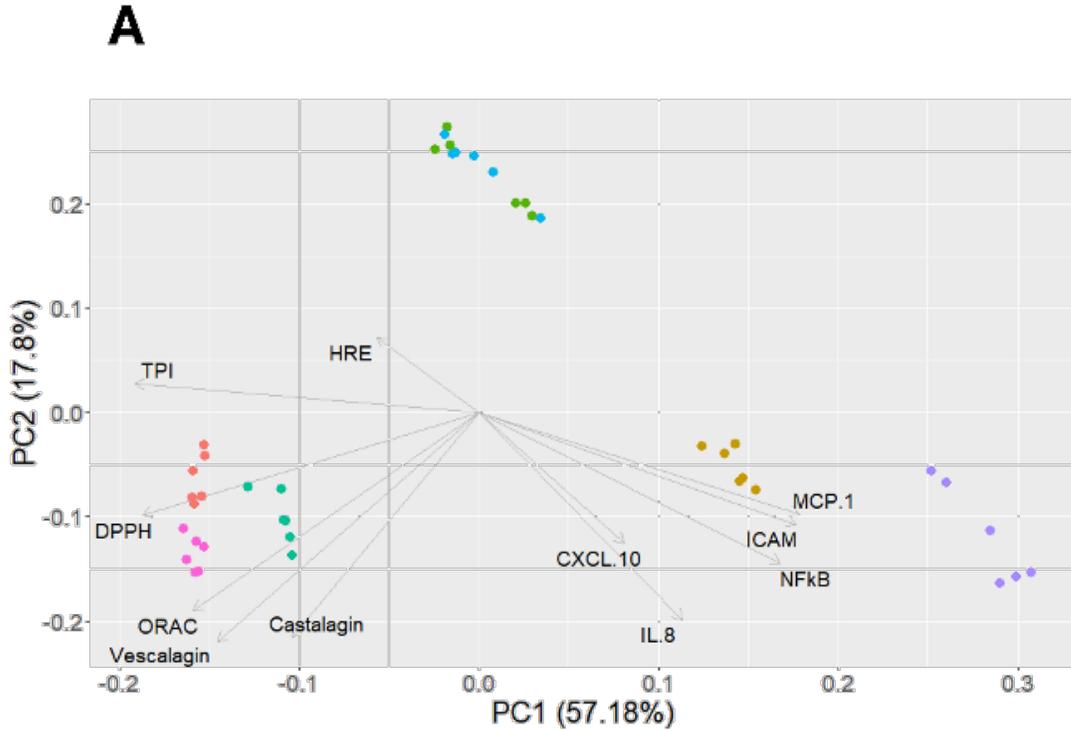
Trascrizione guidata da HIF-1



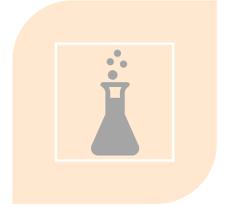
*p<0.05, **p<0.01,
***p<0.001 vs IL-1β-IFN-γ

Analisi delle Componenti Principali (PCA)

Analisi dei cluster



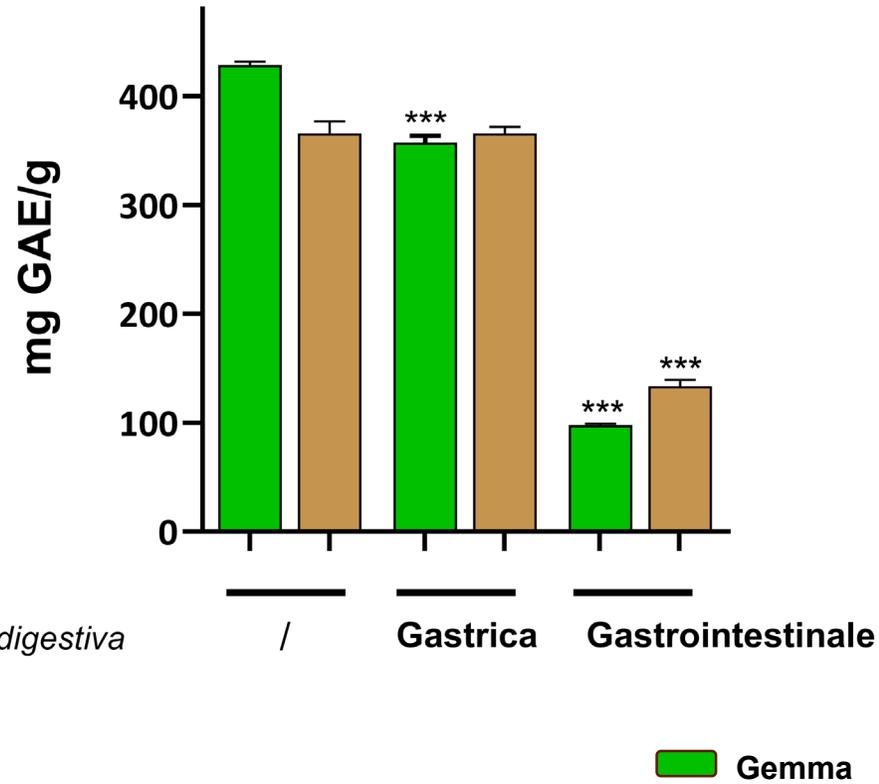
Caratterizzazione pre e post digestione



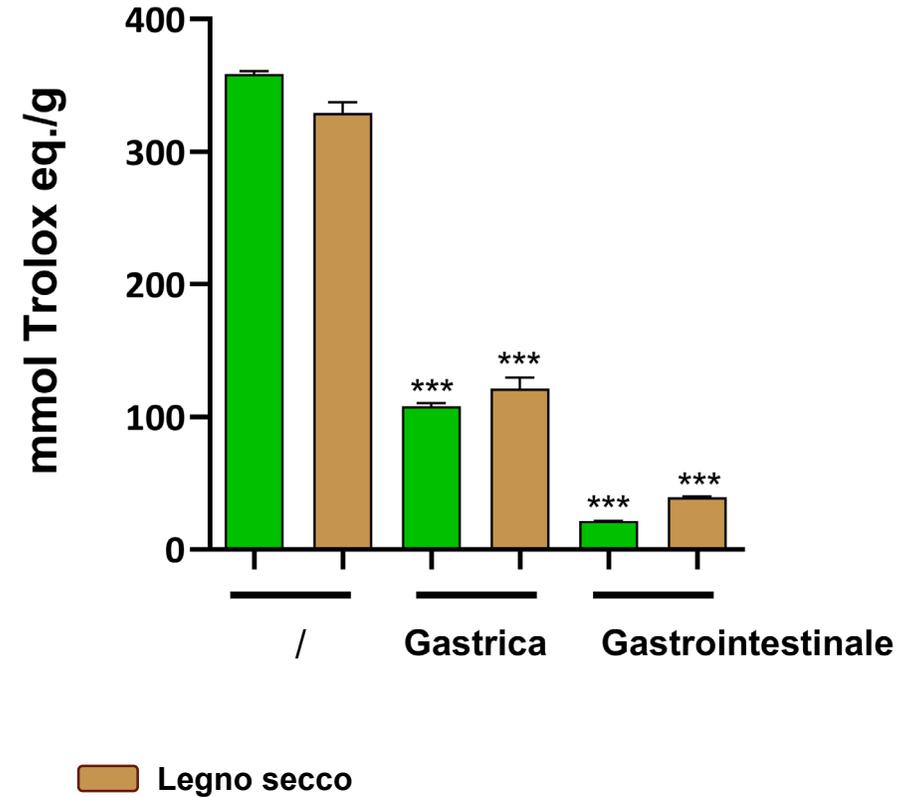
STABILITÀ PRIMA E DOPO DIGESTIONE GASTROINTESTINALE



Polifenoli totali

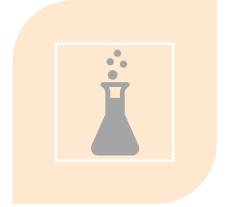


Saggio DPPH



*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs Non digerito

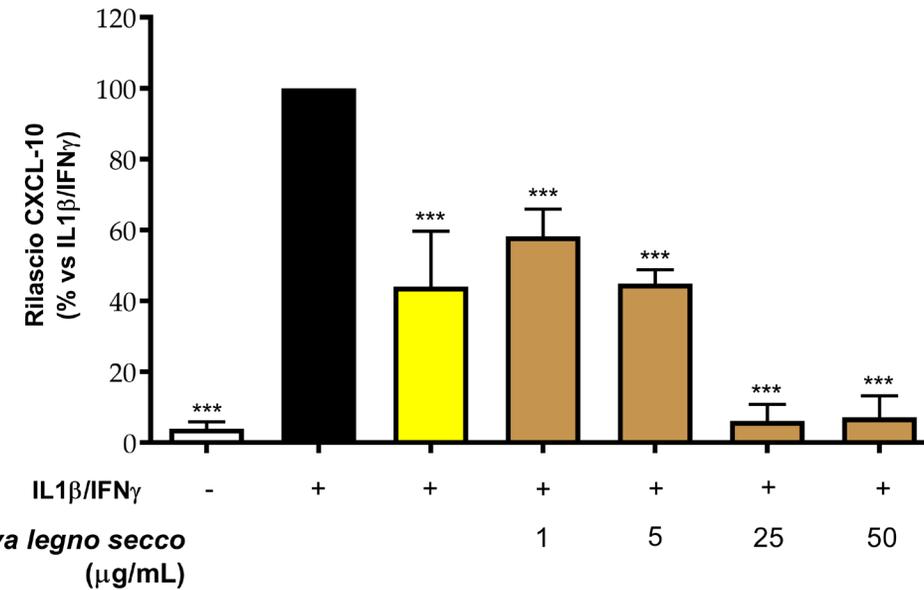
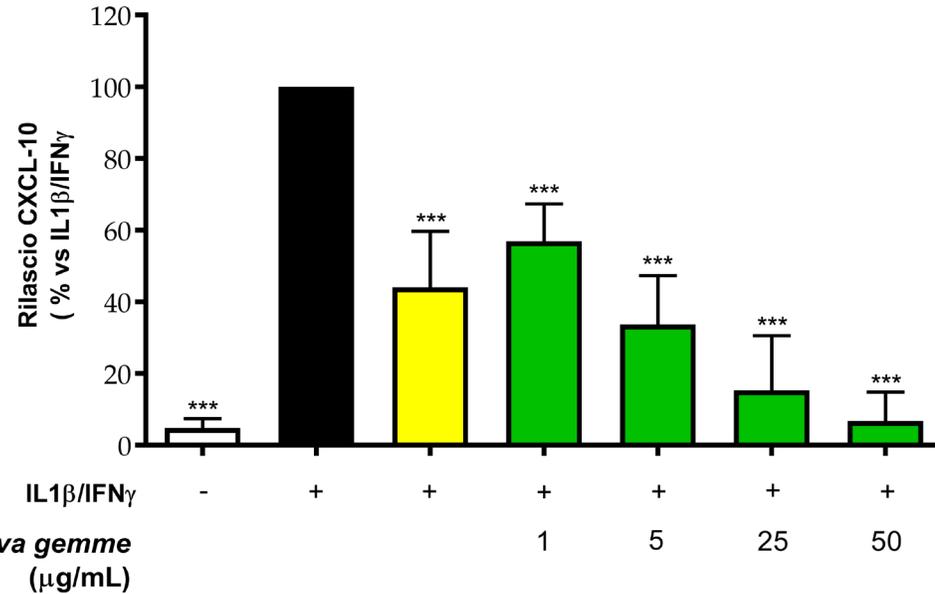
Caratterizzazione pre e post digestione



STABILITÀ PRIMA E DOPO DIGESTIONE GASTROINTESTINALE



Rilascio CXCL-10



CXCL-10	Prima della digestione		Dopo la digestione	
	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	CI (95%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	CI (95%)
Gemma	2.13	1.68 a 2.70	3.42	1.89 a 6.21
Legno secco	1.28	0.78 a 2.09	4.01	2.44 a 6.63

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs Non digerito

In conclusione

I prodotti di scarto della coltura di *Castanea sativa* L.:

- sono ricchi di composti bioattivi
- hanno attività di scavenging e antinfiammatorie in cellule intestinali.

Questo lavoro contribuisce alla valorizzazione dei sottoprodotti del castagno e allo sfruttamento delle loro potenziali proprietà antinfiammatorie nel contesto delle malattie intestinali (per es. colite, morbo di Crohn).

Le analisi future si concentreranno sull'approfondimento dei meccanismi molecolari correlati all'attività biologica e sull'identificazione dei composti o delle classi di composti responsabili delle attività biologiche osservate.



RINGRAZIAMENTI – LABORATORIO DI FARMACOGNOSIA

DOCENTI

Mario Dell'Agli



DOCENTI

Enrico Sangiovanni



DOTTORANDI

Giulia Martinelli



DOTTORANDI

Carola Pozzoli



TECNICI

Marco Fumagalli



ASSEGNISTI

Stefano Piazza



DOTTORANDI

Nicole Maranta



DOTTORANDI

Vincenzo Nicolaci



COLLABORATORI

Marco Angarano



ASSEGNISTI

Elisa Sonzogni



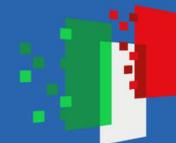
<https://farmacognosia.unimi.it>



Finanziato
dall'Unione europea
NextGenerationEU



Ministero
dell'Università
e della Ricerca



Italiadomani
PIANO NAZIONALE
DI RIPRESA E RESILIENZA



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI MILANO
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE FARMACOLOGICHE
E BIOMOLECOLARI

I risultati presenti in questo lavoro sono stati ottenuti grazie al supporto finanziario del Progetto di Ricerca di Interesse Nazionale (PRIN) 2022Z3RN9X, finanziato dall'Unione europea – Next Generation EU e dal Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MUR).

> [Molecules](#). 2024 Aug 21;29(16):3951. doi: 10.3390/molecules29163951.

***Castanea sativa* Mill. By-Products: Investigation of Potential Anti-Inflammatory Effects in Human Intestinal Epithelial Cells**

Carola Pozzoli ¹, Giulia Martinelli ¹, Marco Fumagalli ¹, Chiara Di Lorenzo ¹, Nicole Maranta ¹, Luca Colombo ², Stefano Piazza ¹, Mario Dell'Agli ¹, Enrico Sangiovanni ¹

Affiliations + expand

PMID: 39203029 PMCID: [PMC11357300](#) DOI: [10.3390/molecules29163951](#)



GRAZIE A VOI PER L'ATTENZIONE