

Dott. VANNA QUILICI

IL CONTENUTO IN ATROPINA DI *ATROPA BELLADONNA* DI VARIE PROVENIENZE ITALIANE NELL'INTENTO DI UNA SELEZIONE DI CEPPI FISIOLOGICAMENTE PIÙ ATTIVI (*)

presentato il 20 marzo 1958

La grande importanza farmacologica dell'*Atropa belladonna* e la conseguente forte richiesta della droga hanno favorito gli studi e le ricerche su questa pianta, soprattutto per quanto riguarda la possibilità della sua coltivazione e le condizioni ecologiche ottimali per una buona resa in alcaloidi.

L'ambiente esterno influisce però sull'attività fisiologica delle piante in gran parte indirettamente, in quanto, come ha chiaramente messo in evidenza CHIARUGI (1954), un ambiente favorevole permette la più completa estrinsecazione fenotipica del patrimonio genetico posseduto dagli organismi stessi, ma non può assolutamente far acquisire capacità fisiologiche nuove, come potrebbe essere una maggiore possibilità di sintesi nei riguardi degli alcaloidi.

Per una buona riuscita quindi della coltura su scala industriale dell'*A. belladonna* occorre partire da biotipi geneticamente più ricchi e aventi perciò una maggiore capacità di sintesi alcaloidea.

Già da tempo erano note le alte percentuali in alcaloidi totali presenti nelle foglie di *A. belladonna* var. *lutea* (LODI, 1937 e altri), recentemente confermate da SIESTO (1957). KOSTOFF (1943) inoltre ha messo in luce come in Bulgaria esista un biotipo tetraploide avente una percentuale in atropina pari allo 0,58%, mentre il diplonte, nelle stesse condizioni di coltura, presenta un contenuto minore, uguale allo 0,49%.

(*) Dall'Istituto Botanico dell'Università di Firenze. Laboratorio di Fisiologia Vegetale, diretto dal Prof. Alberto CHIARUGI. Pubblicazione n. 2: Ricerche eseguite sotto gli auspici della Fondazione CARLO e GIULIO MARCHI.

Oltre alle mutazioni genetiche che portano a modificazioni sensibili nella morfologia delle piante, esistono poi varietà che non presentano differenze sensibili, ma che contengono principi attivi di composizione differente o in diversa percentuale relativa. Sono le cosiddette « forme fisiologiche » di PENFOLD e MORRISON.

Allo scopo di individuare qualcuna di queste forme fisiologiche più attive nella sintesi alcaloidea è stata compiuta la presente ricerca che ha come oggetto principale un esame comprensivo del contenuto in atropina dell'*A. belladonna*, utilizzando per l'analisi esemplari provenienti da tutta la penisola.

Sarebbe stato interessante infatti individuare qualche biotipo, nell'ambito dell'*A. belladonna* italiana, che si differenziasse per un contenuto in alcaloidi totali diverso da quello dato come normale in media.

A questo scopo sono stati raccolti campioni di foglie di *A. belladonna* dalle varie regioni italiane. Per forza di cose ci si è dovuti accontentare di un maggior numero di campioni provenienti dall'Italia centrale, sebbene non manchino campioni di *A. belladonna* dell'Italia meridionale, dell'Italia settentrionale e della Sardegna. Per quanto sia stata ricercata in numerose località, la sporadicità dell'*A. belladonna* in Piemonte, in Lombardia e nel Veneto non ha permesso di raccoglierne alcun campione.

L'elenco dei campioni ottenuti e le relative località di raccolta sono riassunti nella tabella I.

TABELLA I.

- SASSARI — Orto Botanico dell'Università — proveniente da Nuraghe Silvanis sul M. Ferro (Cagliari) — m. 860 s. l. m.
 GAMBARIE — Aspromonte (Reggio Calabria) — m. 1500 s. l. m.
 MONTAGNA GRANDE (Cosenza) — m. 900 s. l. m.
 FORESTA TABURNO (Benevento) — m. 1000 s. l. m.
 LA DIFESA — Parco Nazionale d'Abruzzo (Pescasseroli) — m. 1450 s. l. m.
 VAL BOLOGNOLA (Macerata) — esposizione N W. — m. 960 s. l. m.
 MONTE CHIAVELLARA - Fabriano (Ancona) — esposizione N. E. — m. 1050 s. l. m.
 MONTE NERONE (Loc. Foresta) - Piobbico (Pesaro) — esposizione N — m. 1350 s. l. m.
 RANCO - Apecchio (Pesaro) — esposizione S — m. 1050 s. l. m.
 COLLE LUNGO - Apecchio (Pesaro) — esposizione S — m. 1150 s. l. m.
 FONTE ABETI (Alto Metauro) - Borgopace (Pesaro) — raccolto nel sottobosco dell'abetina, in terreno argilloso-calcareo — m. 900 s. l. m.
 MONTE SUBASIO - Centro Studio Piante Officinali (Perugia) — Parcella P.O. m. 400 s. l. m.
 MONTE SUBASIO - Centro Studio Piante Officinali (Perugia) — Parcella P. S. — m. 700 s. l. m.
 SECCHIETA - Foresta di Campigna (Arezzo) - m. 1265 s. l. m.

- TESA DEL PRETE - Foresta di Campigna (Arezzo) — m. 1041 s. l. m.
 DOCCIOLA - Vittrignesi (Arezzo) — m. 970 s. l. m.
 COTOLAIO - Vittrignesi (Arezzo) — m. 1180 s. l. m.
 CAMALDOLI - Vittrignesi (Arezzo) — m. 900 s. l. m.
 PRATO ALTARI - Vittrignesi (Arezzo) — m. 1100 s. l. m.
 FEMMINA MORTA - Vittrignesi (Arezzo) — m. 1200 s. l. m.
 MONTE MAIORI (Abetone) — m. 1400 s. l. m.
 PASSO DELLA CALLA (Forlì) — m. 1200 s. l. m.
 PASSO DEL LUPO - Centro Erboristico Appenninico Sperimentale (Sestola) — m. 1500 s. l. m. (i campioni sono comprensivi di *A. belladonna* normale e *A. belladonna* var. *lutea*).
 BOSCO DI REZZO (Imperia) — m. 1000 s. l. m.
 FAVOGNA DI SOTTO (Bolzano) — m. 1050 s. l. m.

Per ogni campione furono sempre effettuate più analisi in modo da poter fare una media fra le varie determinazioni, e una prova in bianco.

Il metodo impiegato è stato quello indicato dalla F. U. VI perchè più sicuro del metodo colorimetrico (RAIMONDI, 1948). Sono state però apportate le seguenti modificazioni: di CARLASSARRE (1949) per la miscela di estrazione e di MASCRÈ per l'allontanamento delle basi volatili (in SIESTO, 1957). Gli alcaloidi totali estratti sono stati espressi in atropina e i risultati sono riportati nella Tabella II.

TABELLA II.

Località di provenienza dei campioni di: <i>A. belladonna</i>	% atropina sulla sost. secca
SARDEGNA:	
Orto Botanico (Sassari)	0,25-0,27
CALABRIA:	
Aspromonte	0,58
Montagna Grande (Cosenza)	0,23
CAMPANIA:	
Foresta Taburno (Benevento)	0,095
ABRUZZO:	
Parco Nazionale	0,65
MARCHE:	
Val Bolognola (Macerata)	0,29
M. Chiavellara (Ancona)	0,38
M. Nerone (Pesaro)	0,24
Ranco (Pesaro)	0,22
Colle Lungo (Pesaro)	0,37
Alto Metauro (Pesaro)	0,62

Per il campione proveniente dal Parco Nazionale d'Abruzzo la cosa non sorprende, perchè è noto da tempo che la *A. belladonna* di questa regione ha un ottimo tenore in alcaloidi, tanto che l'Abruzzo è considerato una delle migliori località per la raccolta della droga.

Per quanto riguarda invece i campioni dell'Aspromonte e dell'Alto Metauro ci si trova di fronte ad una concentrazione dell'ordine di grandezza della precedente, cosa che non era ancora nota.

A questo proposito va rilevato che se condizioni particolarmente favorevoli allo sviluppo di *A. belladonna* (terreno argilloso-calcareo) potrebbero spiegare l'alta percentuale in alcaloidi del campione dell'Alto Metauro, lo stesso non può dirsi per l'Aspromonte, geologicamente completamente diverso e assolutamente privo di terreni calcarei. Inoltre in questo caso l'influenza del terreno supererebbe tutti i dati finora noti e si dovrebbe comunque supporre che la pianta avesse di per sè un alto tenore di atropina.

Ci si trova quindi di fronte a tre valori percentuali di atropina che contrastano nettamente con i rimanenti e questo farebbe supporre che i campioni del Parco Nazionale d'Abruzzo, dell'Aspromonte e dell'Alto Metauro facciano parte di tre ceppi di *A. belladonna* differenziatisi geneticamente e particolarmente ricchi di alcaloidi.

Naturalmente non si può escludere che le condizioni geografiche, pedologiche, ecc. abbiano esercitato la loro influenza, ma il fattore ecologico è d'importanza di gran lunga subordinata al fattore genetico. A questo proposito si deve ancora osservare che le piante raccolte ad es. nell'alta valle del Metauro crescevano nel sottosuolo dell'abetina e non erano quindi nelle condizioni di illuminazione indicate dalla maggior parte dei ricercatori come ottimali (SCHNEIDER, 1916; LODI, 1937; DE CONNO, 1941; FRYDMAN, 1955, etc.).

Per quanto riguarda l'altitudine, si deve osservare che i risultati delle analisi non sembrano essere legati a un fattore altimetrico.

Consideriamo infatti i tre campioni a forte percentuale di alcaloidi: di essi due provenivano da altezze piuttosto elevate e precisamente metri 1450 s. l. m. per il campione del parco Nazionale d'Abruzzo e metri 1500 s. l. m. per il campione dell'Aspromonte, mentre il terzo e cioè quello dell'alta valle del Metauro fu raccolto a soli m. 900 s. l. m.

Se consideriamo le altitudini di provenienza di tutti gli altri esemplari di piante spontanee che hanno un tenore medio in atropina, la maggior altitudine si verifica per il campione di M. Maiori (m. 1400) e di M. Nerone (m. 1330 s. l. m.) ma per entrambi la percentuale alcaloidea è dello 0,24% e quindi piuttosto bassa. I campioni provenienti dalle minori altitudini sono quelli di Montagna Grande e di Camaldoli, ambe-

due raccolti a m. 900 s. l. m. e contenenti rispettivamente 0,23 e 0,32% di alcaloidi totali. Fra questi valori estremi di altitudine si ha tutta una gamma di altezze intermedie a cui corrisponde un tenore alcaloideo oscillante senza alcuna regola fissa sempre intorno alla media già indicata.

Questo confermerebbe quanto altri hanno già osservato (SCHNEIDER, 1916; LODI, 1937; NANNIZZI, 1938, etc.) e cioè che non esiste una marcata influenza del fattore altitudine sulla percentuale in alcaloidi totali di *A. belladonna*.

Le osservazioni precedentemente fatte porterebbero quindi a identificare tre possibili nuovi ceppi di *A. belladonna*, cioè uno nell'Abruzzo, uno nell'Aspromonte e infine un terzo nell'Alto Metauro.

Naturalmente conferma di questa ipotesi non potrà ottenersi che analizzando profondamente le ragioni che hanno esaltato la capacità di sintesi alcaloidea dei tre ceppi. Questo potrà essere fatto trasportando esemplari di queste piante su terreni diversi e coltivandoli sperimentalmente. Se la percentuale elevata di atropina si manterrà anche in queste condizioni non ci sarà dubbio che ci si trovi in presenza di particolari genotipi fisiologici che potrebbero essere sfruttati eventualmente per selezionare razze pregiate per la coltivazione su larga scala.

BIBLIOGRAFIA

- BORGHESANI G. A. R., 1916. — *Istruzioni pratiche per la coltivazione e la raccolta della Belladonna*. Archivio di Farmacognosia, V, 157.
- CARLASSARRE M., 1949. — *Sulla titolazione alcalimetrica dell'aconito e delle solanacee e dei relativi preparati galenici*. Fitoterapia, 20, 2, 21.
- CHIARUGI A., 1954. — *I giardini alpini e la sperimentazione sul miglioramento genetico delle piante officinali*. Riv. It. Ess. e Profumi E.P.P.O.S., 12, 626.
- DE CONNO E., 1941. — *Azione dei concimi chimici sulla concentrazione dei principi attivi (alcaloidi totali) nella radice di Atropa belladonna*. Bull. Orto Bot. R. Univ. di Napoli, P. II, XV, 73.
- FRYDMAN J., 1955. — *Atropine contents and mycotrophy of Atropa Belladonna L. growing on natural habitats and in culture*. Acta Soc. Bot. Pol. 24, 109.
- KOSTOFF D., 1943. — *Polyploidy and plant production. — Spizanie Zemedielskitie Opitni Instituti*. Zeischr. Landw. Versuchsta Bulgarien 13 1/2: 71-93, (in B.A. 21, n. 7997, 1947).
- LODI G., 1937. — *La Belladonna Gialla*. La Fitoterapia, XIII, 1.
- NANNIZZI A., 1938. — *La Belladonna (A. b. L.) nella cura del parkinsonismo postencefalico*. Siena.
- RAIMONDI A., 1948. — *Sui metodi di dosaggio degli alcaloidi della Belladonna*. La Fitoterapia, XIX, N. 2.
- SCHNEIDER A., 1916. — *The cultivation of Belladonna in California*. Univ. of Cal. Public. College of Agric., 275, 135.
- SIESTO I., 1957. — *Contenuto e distribuzione degli alcaloidi nelle foglie di Atropa belladonna spontanea e coltivata*. Riv. It. Ess. e Prof. E.P.P.O.S., 1, 26.

Ringraziamento: Un particolare ringraziamento deve essere rivolto a tutti coloro che col sollecito invio di numerosi campioni hanno reso possibile il presente lavoro; in particolare agli Ispettorati del Corpo Forestale dello Stato di: Benevento, Cosenza, Genova, Imperia, Napoli, Pesaro e Reggio Calabria; all'Azienda di Stato per le Foreste demaniali di Pratovecchio (Arezzo); al Direttore dell'Ente Autonomo del Parco Nazionale d'Abruzzo; al Direttore del Centro Erboristico Appenninico Sperimentale di Modena (C.E.A.S.); al Direttore del Centro di Studio per le Piante Officinali del M. Subasio del C.N.R.; ai Direttori degli Istituti Botanici di Camerino e di Sassari; ai Proff. ZANGHERI di Forlì e DALLA FIOR di Trento; al Dott. KIEM di Bolzano.

SUMMARY

The atropine content of *A. belladonna* from several Italian regions has been estimated and found similar to the average F. U. content, with the exception of three samples of spontaneous plants having remarkably high percentages of total alkaloids. These samples have been gathered in the following areas: 1) Upper Metauro Valley (Marche, 900 m.), 2) National Park of Abruzzo (1450 m.), Aspromonte (Calabria, 1500 m.) Their atropine contents are respectively: 0,62%, 0,65% and 0,58%. Suggestions are made on the possible genetic nature of this particular alkaloid concentration.

RIASSUNTO

Sono stati raccolti campioni di *A. belladonna* dalle varie regioni italiane allo scopo di esaminare il contenuto in alcaloidi totali delle foglie, espresso in atropina; questo è risultato molto simile alla percentuale prescritta dalla F. U. (0,3% di atropina) ad eccezione di tre esemplari che presentano un titolo alcaloideo assai elevato. Essi provengono dall'alta valle del Metauro, del Parco Nazionale d'Abruzzo e dall'Aspromonte e presentano rispettivamente le seguenti percentuali di atropina: 0,62%, 0,65% e 0,58%. Molto probabilmente la causa di questo elevato contenuto in alcaloidi deve essere ricercata in una differenziazione genetica che ha portato ad un arricchimento delle capacità fisiologiche di sintesi alcaloidea delle piante in esame. Ulteriori studi sono in corso per controllare la veridicità di questa affermazione.