

**Relazione finale sulle attività di studio e ricerche del dott. Gianfranco Fontana,
redatta ai sensi dell'Art. 8, c. 1 del REGOLAMENTO SULLA CONCESSIONE AI
DOCENTI, AGLI ASSISTENTI ORDINARI
ED AI RICERCATORI UNIVERSITARI DELL'AUTORIZZAZIONE A DEDICARSI AD
ESCLUSIVA ATTIVITÀ DI RICERCA SCIENTIFICA AI SENSI DELL'ART.17 DEL D.P.R.
11/07/1980 N.382 E DELL'ART. 8 (3° - 6° COMMA) DELLA LEGGE 18/03/1958 N.349**

Premessa.

Il dott. Gianfranco Fontana ha fruito del congedo straordinario per motivi di studio e ricerca, ai sensi dell'art. 1, c. 3 del regolamento citato sopra, dal 1/10/25 al 31/3/2026. Codesto dipartimento, ai sensi dell'art. 3, c. 2 del detto regolamento, ha approvato un progetto di attività che prevedeva l'avvio di un nuovo programma di ricerca concernente lo studio fitochimico di piante di origine marina endemiche mediterranee.

Descrizione dell'attività svolta inerente il progetto presentato.

Una prima fase delle attività ha fatto fronte alla necessità di approfondimenti euristici sullo stato dell'arte relativo alle attività di ricerca previste. È stata effettuata un'approfondita ricerca bibliografica sui principali repertori on line (Scopus, Medline, Sci finder) vertente sul profilo fitochimico delle specie target individuate per il progetto: *Poseidonya oceanica*, *Cymodocea nodosa*, *Zostera noltei*, *Ruppia maritima*; sono state rilevate le principali classi molecolari e l'attività biologica delle molecole note. Ciò anche allo scopo di individuare idonee metodologie di campionamento, isolamento e investigazione strutturale di eventuali nuove entità chimiche che nell'ambito di questo progetto ci si propone di individuare.

In questa fase preparatoria si è provveduto inoltre alla costituzione di una rete di collaborazioni scientifiche necessarie a integrare opportunamente il profilo di competenze necessarie all'avanzamento del progetto; l'unità di ricerca gestita dall'estensore di questo documento è impegnata da anni in ricerche sulla chimica delle sostanze naturali di origine vegetale terrestre. Sono stati quindi intrapresi accordi di massima di collaborazione scientifica con il laboratorio del prof. Domenico Schillaci, microbiologo afferente a questo dipartimento STEBICEF e con il laboratorio di biologia marina del prof. Massimiliano De Felice dell'Università della Tuscia allo scopo di estendere l'attività di ricerca verso l'isolamento e la caratterizzazione chimica e biologica di nuove entità

chimica derivanti dall'interazione tra specie microbiche e piante marine ospiti. Inoltre, sono stati individuati due laboratori esperti nelle investigazioni proteomiche e metabolomiche presso l'Università di Lisbona (prof. Hugo Santos) e l'università di Baurdeaux (prof. Pierre Petriacq). Nella fase successiva di ricerca sperimentale sono stati valutati alcuni estratti ottenuti da colture di microfunghi isolati da *P. oceanica* e coltivati *in vitro*:

Penicillium rubens

Penicillium citrinum

Trichoderma afroharzianum

Trichoderma sp.

Talaromyces austrocalifornicus

Pheosperiaceae sp.

Tamaricicola sp.

Clonostachys rosea

Fusarium claus

Gli estratti sono stati ottenuti con solventi a polarità variabile: cloroformio, butanolo, acqua, etanolo,

Alcune indagini preliminari metabolomiche hanno rilevato la possibilità di presenza di metaboliti secondari potenzialmente interessanti all'interno degli estratti in butanolo e cloroformio di *Talaromyces austrocalifornicus*.

Sono state pertanto effettuate presso il laboratorio dello scrivente una serie di analisi cromatografiche che hanno confermato le citate risultanze. Si è deciso pertanto di procedere allo scale-up della procedura cromatografica di isolamento procedendo con cromatografie liquide sequenziale a gradiente di eluizione, effettuando nel contempo indagini microbiologiche per la valutazione dell'attività antimicrobica delle frazioni ottenute, ciò allo scopo di favorire la procedura di isolamento di composti individuali con una logica di tipo "bio-guided". A tale scopo si rende tuttavia necessario poter disporre di quantità maggiori di estratto grezzo, al momento non ancora disponibili; si è comunque programmata un'attività di campionamento, di coltivazione e di estrazione in collaborazione con il laboratorio dell'Università della Tuscia. Tale attività, allo stato della redazione del presente documento, non è stata completata per problemi di stagionalità. È infatti necessario procedere ai campionamenti in una fase stagionale di massimo sviluppo vegetale

che si avrà nei mesi di Aprile – Giugno. Lo scopo delle attività qui descritte è comunque quello di implementare il nuovo ampio programma di ricerca qui brevemente delineato per un suo sviluppo futuro anche di medio e lungo termine.

Un'ulteriore parte di attività di ricerca svolta ha avuto lo scopo di valutare preliminarmente il profilo fitochimico degli estratti apolari di campioni di piante marine (*P. oceanica*) provenienti dalla costa siciliana. Queste informazioni sono necessarie per poter disporre di una base comparativa necessaria e prodromica alle successive indagini sulle interazioni tra la suddetta specie ospite e specie microfungine infestanti che possono modulare significativamente il profilo metabolico secondario della specie ospite. In altri termini saranno effettuate indagini comparative tra gli estratti ottenuti da campioni sterili e da campioni contaminati. I risultati preliminari attualmente ottenuti evidenziano un profilo metabolico secondario del tutto analogo a quello di campioni dello stesso taxon provenienti da altre zone geografiche. È stata infatti rilevata la presenza di quantità variabili di composti a carattere prevalentemente fenolico: Floroglucinolo, Acido gallico, acido p-idrossibenzoico, Acido vanillico, acido caffeico, Acido p-cumarico, Acido ferulico, Quercetina.

Anche per l'ulteriore prosecuzione questa parte del lavoro di ricerca, sarà necessario realizzare una campagna di campionamento atta al reperimento di adeguate quantità di campione, e dei conseguenti estratti, che potrà essere portata a termine nei prossimi mesi in considerazione delle citate esigenze di stagionalità.

Descrizione di attività di ricerca collaterali rispetto all'attività principale del progetto.

In considerazione di quanto già esposto sulle limitazioni strutturali che hanno richiesto una inevitabile rimodulazione di attività e tempi legati al progetto principale, si è ritenuto di utilizzare utilmente il “tempo-uomo” a disposizione nell'ambito del congedo autorizzato, si è ritenuto di perseguire ulteriori ricerche inerenti la potenziale attività biologica di derivati semisintetici triterpenici ottenuti a partire da acidi triterpenici naturali, in particolare si è proseguita la linea di ricerca sui derivati dell'acido ursolico, triterpene ubiquitario dalle svariate attività biologiche (figura 1).

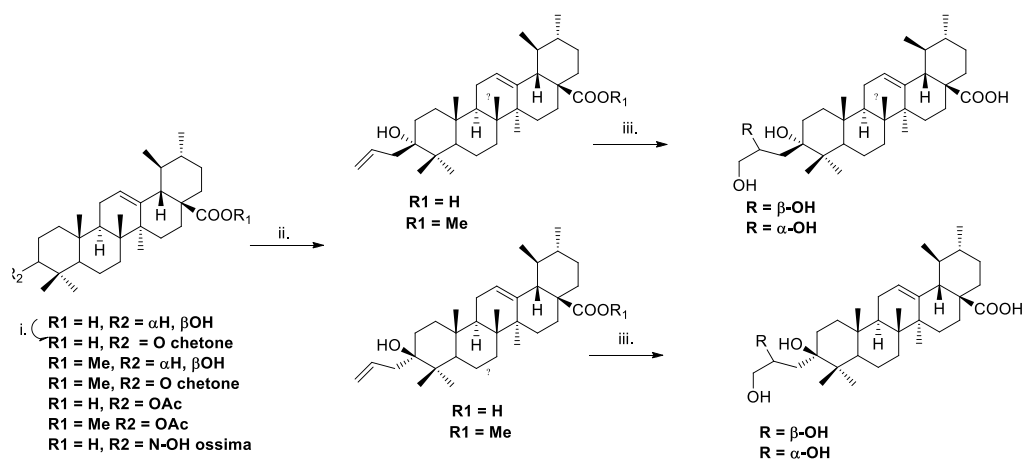


Figura 1. Acido Ursolico e suoi derivati semisintetici.

Nell'ambito di questa attività è stato preparato un panel di molecole, alcune delle quali già precedentemente ottenute nel laboratorio di chi scrive e altre non ancora note in letteratura, che sono attualmente in corso di valutazione preliminare sull'attività citotossica antitumorale ed antiinfiammatoria in collaborazione con il laboratorio del prof. Mario Allegra presso codesto dipartimento. Particolarmente rilevante è l'ottenimento della serie stereochimica completa dei nuovi derivati portanti una catena 2',3'-diidrossipeopilica con due nuovi stereocentri al C-3 dello scheletro ursanico e al C-2' della catena laterale.

Descrizione delle attività successive previste.

Si ritiene utile fornire in conclusione, in un'ottica di completezza e trasparenza informativa, un prospetto schematico delle attività previste nell'ambito di questo progetto che sono attualmente in corso di realizzazione e di programmazione e per le quali la conclusione formale del periodo di congedo straordinario non costituirà in alcun modo una condizione ostativa al loro proseguimento.

- Campionamento di specie endemiche di piante marine;
- Individuazione dei campioni caratterizzati da eventuale contaminazione fungina;
- Coltivazione dei microorganismi contaminanti;
- Ottenimento degli estratti;
- Valutazione "omica" degli estratti;
- Frazionamento bioguidato e isolamento di eventuali nuove specie chimiche.

Si precisa che allo stato attuale non sono ancora state prodotte pubblicazioni scientifiche direttamente pertinenti alle attività del progetto.