

Fattori che influenzano l'accumulo di antiossidanti in piante aromatiche

Szilvia Sárosi* e Jenő Bernáth

Department of Medicinal and Aromatic Plants, Faculty of Horticultural Sciences, Corvinus University of Budapest (Ungheria)

Ricezione: 05 ottobre 2011; Accettazione: 16 febbraio 2012

Factors that influence the accumulation of antioxidant compounds in aromatic plants

Abstract. The use of plant producing secondary metabolites as food preservatives is not a new invention but a rediscovered possibility, therefore in the last few years, besides medicinal and aromatic plants, vegetables, fruits and nuts were also analysed testing their possible advantageous effect on human health. The accumulation of phenolic compounds in aromatic plant species is affected by several factors. In accordance with literature data, the climatic conditions (mainly the temperature, the radiation and the amount of the precipitation) and the agrotechnology (time and the phenological phase of the harvesting) can be regarded as main influencing parameters. Based on these findings, the production parameters of a good quality plant material containing high amounts of antioxidant compounds have to be established especially for the pharmaceutical and food industry. In this review, the factors that can influence the production of secondary metabolites in a species recently introduced in the aromatic plant market (*Prunella vulgaris* L, self-heal), are reported in comparison with garden thyme (*Thymus vulgaris* L.), a popular and well-known medicinal plant. Self-heal, from the *Lamiaceae* plant family, is a plant species accumulating phenolic compounds. It is native to Eurasia and traditionally used in the Chinese and Indian medicine. In the plant extract several active compounds are found possessing antioxidant effect: ursolic acid, oleanolic acid, rosmarinic acid, flavonoids, and antocyanins. The summary of the literature data referring to the main compounds and their possible pharmacological effect is discussed in the article. As the extract of this plant is almost taste and odourless, its usage in the food industry seems to have interesting perspectives as natural food preservative; in some commercial products (Rosmol and Rosmol-P) this plant species has already been used as main ingredient. However, the main factors influencing the amount of its active compounds are under-evaluated. The chemical character-

istics of self-heal could be compared to a well-known medicinal and aromatic plant, garden thyme, which is proved to have strong antioxidant properties. Garden thyme, also from the *Lamiaceae* family, shows one of the strongest antioxidant activity among medicinal plants. Its essential oil (mainly the components thymol and carvacrol) and the non volatile compounds (rosmarinic acid, carnosol, carnosic acid, flavonoids) are both responsible for the radical chain reaction inhibitor and the free radical scavenging effect. Several studies confirmed its strong antioxidant activity. However, similar to other plant species in the *Lamiaceae* family, it has a characteristic smell and taste, which are less desirable traits for an antioxidant food additive, on the contrary of self-heal.

Key words: self-heal (*Prunella vulgaris* L.), garden thyme (*Thymus vulgaris* L.), phenolic compounds, climatic conditions, secondary metabolites.

Introduzione

I radicali liberi sono i responsabili della perossidazione dei lipidi. Nella fase di alterazione biologica dell'alimento, questo processo si traduce nella comparsa di rancidità, mentre nel corpo umano esso provoca necrosi o cellule tumorali. Perciò l'eliminazione di radicali liberi è molto importante sia dal punto di vista farmacologico che da quello dei processi industriali alimentari.

I composti che mostrano un'attività antiradicalica, così come quelli che riescono ad inibire i processi dannosi di perossidazione lipidica, sono chiamati antiossidanti (Halliwell *et al.*, 1995). Questi agenti possono essere catalogati come sintetici (BHA, BHT, Trolox) o naturali (vitamine presenti nella frutta o nella verdura, composti fenolici come quelli presenti nell'estratto di tè, oppure l'acido rosmarinico trovato in timo e in rosmarino) (Karpinska *et al.*, 2000; Buetler *et al.*, 2002; Zulueta *et al.*, 2007). Negli ultimi anni, numerosi lavori sono stati messi a punto in modo da classificare le specie vegetali in base al loro contenuto in fenoli totali (TPC) ed alla loro attività

* szilvia.sarosi@uni-corvinus.hu

antiossidante (due parametri di solito fortemente correlati). Tali risultati hanno rivelato che le specie da frutto con bacche colorate - more, mirtillo, lamponi, cinorrodi delle rose - sono di solito caratterizzati da un contenuto in TPC relativamente alto (0,36-1,46 mg di acido gallico equivalente/ml) (Guerro *et al.*, 2010). Tra le piante aromatico-medicinali utilizzate anche in ambito culinario, la melissa, il timo e la santoreggia possono essere menzionate come le specie più importanti per il loro alto contenuto in TPC (2,22 mg di catechina equivalente/ml in melissa; 420 o 480 mg di acido gallico equivalente/ml per timo e santoreggia rispettivamente) (Katalinic *et al.*, 2004; Kosar *et al.*, 2005). Riguardo all'estratto di tè, è stato possibile riscontrare risultati esorbitanti nel contenuto fenolico (125-363 mg di acido gallico equivalente/g di peso secco) (Chan *et al.*, 2011). Come si può notare, i risultati sono espressi con unità di misure diverse, rendendo difficile una comparazione delle misure effettuate.

Nell'industria alimentare, gli additivi con attività antiossidante sono utilizzati nei vari prodotti per prevenire l'irrancidimento. Essendo dimostrato che l'utilizzo prolungato di additivi sintetici quali BHA o BHT può causare problemi epatici (Burns e Levy, 1994), come loro sostituti vengono solitamente utilizzati gli estratti di rosmarino, salvia e timo (Karpinska *et al.*, 2000).

I radicali liberi sono responsabili di numerose patologie in ambito umano, quali arteriosclerosi, comparsa di tumore, morbo di Parkinson e morbo di Alzheimer, malattie epatiche (Halliwell e Gutteridge, 1990; Harman, 1993). Se utilizzati come additivi nella dieta, i composti antiossidanti di origine naturale sono in grado di eliminare queste specie reattive dell'ossigeno: per questo motivo giocano un ruolo molto importante nella prevenzione delle malattie degenerative e tumorali.

D'altro canto, la reale biodisponibilità e bioefficienza di questi composti non è stata ancora completamente dimostrata. La presenza nella pianta ed il livello di tali composti riscontrabile nell'estratto finale sono influenzate da numerosi fattori fisici, ecologici, chimici, nonché dalla modalità di estrazione e conservazione. Ad esempio, nel caso di composti fenolici volatili come il timolo e il carvacrolo, le condizioni di luce solare e le alte temperature possono condizionare significativamente la loro presenza all'interno del timo (Hudaib *et al.*, 2002). Per quanto riguarda il tempo di raccolta, le migliori condizioni si riscontrano all'inizio della maturazione dei frutti (Jordán *et al.*, 2006). Nel caso di composti non volatili (come i composti fenolici, i flavonoidi, l'acido carnosico e l'acido rosmarinico precedentemente descritti), le più

alte concentrazioni sono di solito riscontrate nelle parti più giovani della pianta (Del Baño *et al.*, 2003) ed un ulteriore aumento delle stesse si riscontra spesso come risposta ad infezioni batteriche o fungine (Szabo *et al.*, 1999). Non è sbagliato concludere quindi che, con molta probabilità, il livello di tali composti fenolici nella pianta sia in relazione ai meccanismi adottati come protezione della stessa (Petersen e Simmond, 2003).

Considerando queste premesse, risulta fondamentale pervenire all'ottimizzazione di parametri produttivi e qualitativi ispirati dall'industria farmaceutico-alimentare, che dedica molta attenzione alle piante aromatiche come fonte di antiossidanti. I principali parametri che influenzano la produzione di metaboliti nelle specie aromatiche (le condizioni climatiche, principalmente temperature, radiazione luminosa e precipitazioni, e i protocolli agronomici, come il tempo e la fase fenologica della raccolta) verranno discussi in questa review. In particolare, verrà trattata una pianta di recente introduzione nel settore delle piante medicinali ed aromatiche, la prunella (*Prunella vulgaris* L.) (fig. 1). Lo studio fitochimico è stato impostato come confronto con un'altra pianta che accumula composti fenolici, il timo (*Thymus vulgaris* L.) (fig. 2), molto più conosciuta e studiata.

Le specie principali della famiglia delle *Lamiaceae* (rosmarino, timo, salvia, santoreggia, melissa) sono ampiamente utilizzate nell'industria alimentare come antiossidanti naturali (Lacroix *et al.*, 1997). La prunella, appartenente a questa famiglia, è originaria dell'Eurasia ma è stata naturalizzata anche in zone temperate dell'America e dell'Australia (Kirtikar *et al.*, 1935; Keville, 1991). È una pianta perenne erbacea, leggermente pubescente. In Ungheria, è molto comune in prati, pascoli e boschi aperti. Il processo di fioritura (colorazione lilla delle corolle) inizia a giugno e prosegue fino ad ottobre (Culpeper, 1640; Keville, 1991; Laurent, 1996; Simon, 2000). Il nome latino della pianta (*Prunella*) sembra avere origine dal Tedesco antico '*Brunella*'. L'espressione '*die Braüne*' significa mal di gola, indicando l'effetto primario della pianta che veniva usata per curare le infiammazioni della gola (Keville, 1991). Secondo altri Autori, il nome della pianta deriva dal colore bruno (*Braun*) delle spighe che portano i frutti. Nel nome latino possiamo anche trovare '*prunun*', con il significato di lilla che è relativo al colore delle spighe fiorite (Rogers, 2000).

La droga della pianta (*Spica prunellae*) non è ufficialmente presente né nella farmacopea europea né in quella ungherese (Pharmacopoea Europea, 2005; Pharmacopoea Hungarica, 2004). Probabilmente, dal



Fig. 1 - Pianta di prunella (*Prunella vulgaris* L.).
Fig. 1 - Plant of self-heal (*Prunella vulgaris* L.)



Fig. 2 - Pianta in fioritura di timo (*Thymus vulgaris* L.).
Fig. 2 - Flowering plant of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.)

momento che manca spesso la descrizione della droga, la letteratura relativa è piuttosto contraddittoria sulla parte della pianta da raccogliere. Per esempio in Cina sono raccomandate per la raccolta le spighe portanti i frutti (Tien, 1979), mentre in Giappone sono considerate droga solo le spighe fiorite (Pharmacopoeia Japonica, 1981; Tabba *et al.*, 1989). In Europa, sono comunemente usate le parti aeree fiorite (Grieve, 1992; Psotová *et al.*, 2005; Bomme *et al.*, 2006). In alcuni casi le analisi sono state fatte su foglie raccolte prima della fioritura (Laurent, 1986; Kojima *et al.*, 1990). In molti lavori non viene riportata l'origine della pianta ed è molto frequente che i ricercatori non prestino attenzione alla descrizione della qualità della droga (Collins *et al.*, 2006; Psotová *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007).

Dalla fine del 20° secolo, una crescente evidenza scientifica nel settore fitochimico ha suscitato maggiore interesse per lo studio dei costituenti chimici della *P. vulgaris* (tab. 1). *P. vulgaris* contiene molti tipi di sostanze attive aventi importanti effetti biologici sull'organismo umano, tra cui l'acido rosmarinico. L'acido rosmarinico è uno dei più importanti componenti fenolici nei tessuti vegetali (Lamaison *et al.*, 1991; Psotová *et al.*, 2006; Jirovsky *et al.*, 2007). Negli estratti spesso si ritrova anche il suo precursore, l'acido caffeico, oltre ad altri tipi di composti fenolici, come flavonoidi (rutina, iperoside) e antocianidine (delphinidina, cianidina).

La forte azione astringente dell'estratto di prunella è invece legata all'alto contenuto di tannini (Sendra, 1963a). Dmitruk e collaboratori (1985) furono i primi

che identificarono le cumarine nella pianta a livelli dello 0,26-0,40 %.

I composti fenolici sono capaci di esercitare la loro azione "scavenger" abbassando la concentrazione dell'ossigeno localizzato (Beutner *et al.*, 2001). Essi prendono parte al processo di chelazione degli ioni metallici (Brown *et al.*, 1998) e possono anche bloccare l'attività di alcuni enzimi responsabili di processi ossidativi (Cos *et al.*, 1998).

P. vulgaris contiene anche un olio essenziale (0,4-0,6 %), in cui i componenti principali sono d-canfora e d-fenchone (monoterpeni biciclici) (Gildemeister e Hoffmann, 1961). Le ghiandole contenenti olio essenziale formate da 2-4 cellule raggruppate furono scoperte da Dmitruk e collaboratori (1985) durante l'esame microscopico della superficie delle foglie. Sono stati anche identificati nella pianta costituenti appartenenti al gruppo dei triterpeni (acidi ursolico e oleanolico), e a quello dei tetraterpeni (carotenoidi) (Sendra, 1963b). Gli acidi oleanolico e ursolico hanno proprietà anti-infiammatoria (Jeong *et al.*, 1999; Baricevic *et al.*, 2001) e anti-cancro (Li *et al.*, 1999). L'acido oleanolico ha dimostrato di avere anche azione antifungina (Tang *et al.*, 2000), anti-HIV (Ma *et al.*, 2000) e diuretica (Alvarez *et al.*, 2002), così come può essere utile nei casi di iperglicemia (Yoshikawa e Matsuda, 2000). Entrambi i composti proteggono il fegato, anche se con modalità di azione diverse (Saraswat *et al.*, 1996; Jeong, 1999). L'acido ursolico fu identificato per la prima volta da Shimano e collaboratori (1956), e fu ipotizzato che anche la forma glicosidica di questo composto potesse essere presente

Tab. 1 - Composti attivi di *Prunella vulgaris* L. secondo i dati di letteratura
 Tab. 1 - Active compounds of *Prunella vulgaris* L. according to the literature data.

Gruppi di sostanze (Contenuto %)	Bibliografia
SACCARIDI	
Monosaccaridi	
Galattosio, Glucosio, Fruttosio, Raffinosio Arabinosio, Xilosio, Ramnosio	Natherova e Rezacova, 1972
Polisaccaridi	Xu <i>et al.</i> , 1999
Prunellina	Tabba <i>et al.</i> , 1989
Lignina-carboidrato	Zhang <i>et al.</i> , 2007
FENOLOIDI	
Depsidi	
Acido Rosmarinico (6,1 %)	Lamaison <i>et al.</i> , 1991
Acido Rosmarinico (9,0 %)	Psotová <i>et al.</i> , 2006
Acido Rosmarinico (3,0 %)	Jirovsky <i>et al.</i> , 2007
Acido Caffeico	Tian <i>et al.</i> , 2000
Acido Cis-caffeico	Sendra, 1963a
Acido Trans-caffeico	
Tannini (4,56-10,58 %)	Natherova <i>et al.</i> , 1962
Tannini (3,95-11,52 %)	Natherova e Rezacova, 1972
Flavonoidi (0,14-0,19 %)	Dmitruk <i>et al.</i> , 1985
Quercetina	Saxena ed Archana, 1984 Zhang e Yang, 1995 Wang <i>et al.</i> , 1999
Caempferolo	Saxena ed Archana, 1984
Rutina	Sendra, 1963a Dmitruk <i>et al.</i> , 1985
Quercetin-3-O-β-D-galattosio	Wang <i>et al.</i> , 1999
Quercetin-3-glucosio, Caempferol-3-O-glucosio	Zhang e Yang, 1995
Luteolina omorientina (luteolin-6-C-glucoside)	Dmitruk <i>et al.</i> , 1987
Cinarosio (luteolin-7-O-glucoside)	
Iperina, Isoquercitrina	Dmitruk <i>et al.</i> , 1985
Iperoside	Sendra, 1963a
Antociani	Saxena ed Archana, 1984
Hirsutidin 3,5-diglucoside, Malvidin 3,5-diglucoside	
Peonidin 3,5-diglucoside	
Cumarina (0,26-0,40 %)	Dmitruk <i>et al.</i> , 1985
Umbelliferone, scopoletina, esculetina	Dmitruk, 1986
AZOTOIDI	
Amino acidi	Wang <i>et al.</i> , 1994a
MINERALI	
Mg, Ca, Zn, Mn, Co, Ni, Pb, Cd, Fe, Cu	Ma <i>et al.</i> , 2004
Zn, As, Sr	Wang <i>et al.</i> , 1994a
VITAMINE	
Vitamine C e K	Dorosh e Domaratskaya, 1954

segue

Tab. 1 - Composti attivi di *Prunella vulgaris* L. secondo i dati di letteratura
 Tab. 1 - Active compounds of *Prunella vulgaris* L. according to the literature data.

segue

Gruppi di sostanze (Contenuto %)	Bibliografia
TERPENOIDI	
Monoterpeni	
d-Champhor, d-fencone, fenchil-alcohol	Baslas ed Agra, 1955
1,8-cineole, β -pinene, myrcene, linalyl-acetate	Yang <i>et al.</i> , 1988
Sesquiterpeni	
Selin-11-en-4- α -ol, cis-eudesma-6,11-diene 1,10-di-epi-cubenol, spathulenol, germacrene D	Katayoun <i>et al.</i> , 2006
Triterpenoidi	
Acido Ursolico	Shimano <i>et al.</i> , 1956
Acido Oleanolico	Sendra, 1963b
Acido Betulico	Ryu <i>et al.</i> , 1992
3 β , 4 β , 16 α -17-carboxy-16,24-dihydroxy-28-norolean-12-en-3-yl-4-O- β -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosiduronic acid (3 β , 4 β , 16 α)-17-carboxy-16,24-dihydroxy-28-norolean-12-en-3-yl- β -D-glucopyranosiduronic acid Me ester (3 β , 4 β)-24-hydroxy-16-oxo-28-norolean-12-en-3-yl-4-O- β -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosiduronic acid	Gu <i>et al.</i> , 2007
2 α ,3 α ,24-trihydroxyursa-12,20(30)-dien-28-oic acid 2 α ,3 α ,24-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid 2 α ,3 α ,24-trihydroxyursa-12-en-28-oic acid 2 α ,3 β -dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	Wang <i>et al.</i> , 2000
2 α ,3 α -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid 2 α -hydroxyursolic acid	Ryu <i>et al.</i> , 2000
α -spinasterolo stigmasterolo stigmast-7-en-3 β -ol	Kojima <i>et al.</i> , 1990; Tian <i>et al.</i> , 2000
Vulgarsaponin A	Tian <i>et al.</i> , 2000
β -sitosterolo	Meng e He, 1995
3 β ,16 α ,24-trihydroxyoleano-12-en-28-oic acid Vulgarsaponin B 2 α ,3 α -dihydroxyurso-12-en-28-oic acid	Wang <i>et al.</i> , 1999
Pruvuloside A Pruvuloside B	Zhang e Yang, 1995
Sericoside (12R,13S)-2 α ,3 α ,24-trihydroxy-12,13-cyclotaraxer-14-en-28-oic acid (13S,14R)-2 α ,3 α ,24-trihydroxy-13,14-cyclo-olean-11-en-28-oic acid	Kojima <i>et al.</i> , 1988
2 α ,3 α ,24-dihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 2 α ,3 α ,24-trihydroxyursa-12,20(30)-dien-28-oic acid 2 α ,3 α ,24-trihydroxyolean-11,13(18)-dien-28-oic acid	Kojima <i>et al.</i> , 1987
2 α ,3 α ,24-trihydroxyolean-12-en-18-oic acid	Kojima ed Ogura, 1986
POLICHETIDI	
Acido oleico, acido linolenico, acido miristico, acido palmitico acido stearico, acido laurico	Jain e Saxena, 1984
Acido esadecanoico	Wang <i>et al.</i> , 1994b

nei tessuti della pianta. Più tardi questo nuovo principio attivo fu chiamato 'prunellin' (Tabba *et al.*, 1989).

La presenza di una grande varietà di sostanze attive si traduce in un ampio uso diversificato della pianta. Nella medicina tradizionale cinese, è utilizzata nei casi di problemi epatici, cisti del collo e noduli (Bensky e Gamble, 1986). In India, la prunella è considerata antireumatica, ricostituente e tonico; in alcune parti del paese è utilizzato contro la febbre e la tosse (Kirtikar *et al.*, 1935). Nel Nord-America il decotto della pianta era utilizzato dalla tribù dei 'Piedi Neri' per la pulizia delle ferite. I Cree masticavano le foglie per curare il mal di gola. Gli Iroquois lo davano ai neonati nervosi che piangevano spesso (Rogers, 2000). In epoca medioevale, come per molte altre piante medicinali, era considerata come la panacea di tutti i mali (Culpeper, 1640). L'applicazione di prunella nella farmacia moderna è mostrata in tabella 2.

La letteratura riporta diversi lavori riferiti alla prunella. Nel 1988, Lee e collaboratori saggiarono l'attività citotossica dell'acido ursolico estratto da prunella, riconoscendo in questo metabolita un effetto anti-leucemico. E' stato inoltre dimostrato che l'estratto della pianta ha persino un effetto citotossico contro le cellule del tumore alla mammella (Lee *et al.*, 1988). Tabba e collaboratori (1989) dimostrarono per primi che l'estratto acquoso di *P. vulgaris* - principalmente il suo polisaccaride prunellina - inibiva la crescita *in vitro* del virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Successivamente, nel 2002, Liu e collaboratori dimostrarono che l'intero processo anti-HIV era avviato dagli estratti di prunella. Nel 2000, Liu e Ng valutarono per dodici piante medicinali l'attività antiossidante, di *scavenger* su superossidi e ossidrilici e l'effetto pro-ossidante. Anche questi autori confermano che l'attività antiossidante in prunella è dovuta ai polifenoli, flavonoidi e terpeni in essa contenuti. Poiché l'estratto acquoso di *P. vulgaris* è ricco di composti fenolici, risultava caratterizzato da una forte attività con un leggero effetto pro-ossidante. Škottová e collaboratori (2004) studiarono gli effetti di estratti acquosi di prunella, ricchi in composti fenolici, sullo stato antiossidante del fegato e del sangue oltre a quello sul metabolismo lipoproteico. Secondo questi risultati, la pianta migliora lo stato antiossidante sia del fegato che del sangue. E' stato visto che l'estratto della pianta, consistente di una miscela di triterpenoidi, flavonoidi, tannini e polisaccaridi, aveva un effetto immunodepressivo (Sun *et al.*, 2005), mentre Fang e collaboratori, nello stesso anno, affermavano che la prunella (principalmente i suoi polisaccaridi) era immunostimolante. Psotová e collaboratori (2005) hanno analizzato l'effetto cardioprotettivo della pianta. La

Tab. 2 - Usi terapeutici e alimentari di *Prunella vulgaris* L.
Tab. 2 - Therapeutic and food-industrial usage of *Prunella vulgaris* L.

Effetto terapeutico	Bibliografia
Antiallergico	Ryu <i>et al.</i> , 2000 Shin <i>et al.</i> , 2001 Kim <i>et al.</i> , 2007
Antibatterico Antifungino	Dmitruk, 2001
Antiossidante	Lamaison <i>et al.</i> , 1991 Liu e Ng, 2000 Skottová <i>et al.</i> , 2004 Maryassiova, 2006 Sárosi e Bernáth, 2006
Antivirale	
Anti Herpes Simples Virus	Ryu <i>et al.</i> , 1992 Xu <i>et al.</i> , 1999 Nolkemper <i>et al.</i> , 2006
Anti-HIV	Tabba <i>et al.</i> , 1989 Yao <i>et al.</i> , 1992 Kageyama, 2000 Lam <i>et al.</i> , 2000 Au <i>et al.</i> , 2001 Liu <i>et al.</i> , 2002
Anti-infiammatorio	Ryu <i>et al.</i> , 2000 Dmitruk, 2001 Harput <i>et al.</i> , 2006
Effetto sul sistema immunitario del corpo umano	
Immunostimolante	Fang <i>et al.</i> , 2005 Harput <i>et al.</i> , 2006
Immunosoppressivo	Sun <i>et al.</i> , 2005
Applicazioni in terapia anti-cancro	
Anti-tumorale	Lee <i>et al.</i> , 1988 Kyungsoo e Yunhee, 2004 Meng <i>et al.</i> , 2007
Prevenzione di melanoma	Psotová <i>et al.</i> , 2006
Cardio-protettivo	Psotová <i>et al.</i> , 2005
Applicazioni contro la tubercolosi	Chen <i>et al.</i> , 2007
Applicazioni contro iperglicemia	Xu <i>et al.</i> , 1989
Ipotensivo	Wang <i>et al.</i> , 1994
Utilizzo nell'industria alimentare	
Conservazione della qualità di alimenti surgelati	Lugasi <i>et al.</i> , 2007
Conservazione di alimenti a alto contenuto lipidico	Lugasi <i>et al.</i> , 2006

frazione in etilacetato della prunella (ricca in acido rosmarinico) si è rivelata più attiva del medicinale Dexrazoxan, somministrato come controllo. Nella ricerca più recente di Psotová (2006) sono state esa-

minate le proprietà fotoprotettive della prunella su cheratinociti umani. Secondo questi risultati, *P. vulgaris* può essere usata in cosmetici per il trattamento della pelle in virtù del suo alto contenuto in acido rosmarinico. L'estratto protegge infatti contro lo stress ossidativo indotto dai raggi UVA.

Oggi la prunella è una delle materie prime di diversi ed efficaci prodotti moderni. Fra questi uno dei più importanti è stato sviluppato da un gruppo di ricerca ungherese. Il nome del prodotto è ROSMOL, un conservante naturale alimentare a base di estratto di rosmarino, issopo, melissa e prunella. Tale prodotto ha dimostrato una forte azione antiossidante *in vitro* durante lo stoccaggio di prodotti contenenti lipidi (Lugasi *et al.*, 2006). Un altro prodotto, RUHEXIAO (capsule), è stato sviluppato da scienziati cinesi: E' costituito dai seguenti materiali: *P. vulgaris*, *Ligusticum wallichii*, *Bupleurum chinense*, *Paeonia lactiflora* e guscio di tartaruga. Durante prove cliniche, si è dimostrato attivo contro la proliferazione della ghiandola mammaria con scarsi effetti tossici (Lu *et al.*, 2002).

Effetto dell'origine della pianta sulle caratteristiche morfologiche e chimiche

Nel 2007 è stata condotta una ricerca su *P. vulgaris* L per studiare l'effetto della provenienza della pianta, legata ai parametri ambientali, sulle caratteristiche morfologiche e fitochimiche (Sárosi, 2009). Sono state analizzate sette popolazioni ungheresi e tre Italiane di prunella selvatica. Le parti fiorite sono state raccolte in giugno nei seguenti habitat naturali: B (Börzsönyliget), K (Katalinpuszta), KR (Királyrét), R (Recsk), G (Gödöllő), V (Orto botanico di Vácrtót), SB (Orto Botanico di Soroksár) in Ungheria; MP (Monti Pisani), P (Orto botanico di Pisa), L (Orto botanico di Lucca) in Italia. Le differenze morfologiche fra i diversi campioni analizzati sono riportate in tabella 3. Tre popolazioni di origine ungherese (B, K, KR) erano più rigogliose ed erano state raccolte in una zona di semi-ombra sotto gli alberi. Il rimanente materiale vegetale era stato raccolto in prati sottoposti a sfalcio periodico (G, V, SB, P, L), o ai margini di zone boschive (R, MP) di caducifoglie in grado di rendere disponibile periodicamente la penetrazione luminosa durante il ciclo vegetativo della prunella. Il fatto che questa specie si possa trovare in vari tipi di *habitat* naturali (bosco, prato, erba tagliata) conferma che può essa essere considerata una pianta spontanea con una elevata adattabilità.

I composti attivi delle popolazioni di prunella analizzate sono mostrati in tabella 4. I campioni di origi-

Tab. 3 - Caratteristiche morfologiche di popolazioni selvatiche di *Prunella vulgaris* L.

Tab. 3 - Morphological features of wild-populations of *Prunella vulgaris* L.

Popolazioni	Lungh. stelo florale (cm)	Lunghezza dei fiori (cm)	Numero di nodi
Origine ungherese			
B	26,05 a	2,00 a	4,55 a
K	26,68 a	2,00 a	3,35 abc
KR	31,85 a	2,10 a	3,45 ab
R	12,20 b	1,49 ab	3,50 ab
G	9,20 b	1,06 b	2,85 bc
V	9,98 b	1,44 b	3,30 bc
SB	8,93 b	1,48 b	2,21 c
Origine italiana			
MP	10,80 b	1,42 ab	3,10 abc
P	13,30 b	1,43 ab	3,40 b
L	8,20 b	1,43 ab	2,80 abc

Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

ne italiana, specialmente quelli provenienti dai Monti Pisani (MP) e dall'Orto botanico di Lucca (L), contenevano più alte concentrazioni di TPC. I due campioni di popolazione italiana sopra citati hanno mostrato un'elevata capacità antiossidante totale (TAC). Le popolazioni ungheresi erano invece più ricche di

Tab. 4 - Contenuto di fenolo (TPC) e di acido rosmarinico (RAC) e capacità antiossidante (TAC) di popolazioni di diversa origine di *Prunella vulgaris* L., a confronto con *Thymus vulgaris* L.

Tab. 4 - Phenol (TPC) and rosmarinic acid (RAC) content and antioxidant capacity (TAC) of different originated *Prunella vulgaris* L. populations, compared with *Thymus vulgaris* L

Popolazioni	TPC ¹ (mg GAE/ml)	RAC ² (mg/g)	TAC ³ (mg AAE/ml)
Origine ungherese:			
B	0,28 d	14,40 c	0,61 bc
K	0,31 cd	16,80 c	0,42 c
KR	0,37 cd	18,30 bc	0,53 c
R	0,48 c	23,63 a	0,62 bc
G	0,46 cd	22,09 ab	0,64 bc
V	0,46 c	17,44 c	0,63 bc
SB	0,49 c	22,77 a	0,67 bc
Origine italiana:			
MP	0,60 bc	6,22 e	0,91 ab
P	0,43 cd	9,66 d	0,55 c
L	0,70 b	8,27 d	1,14 a
<i>Th. vulgaris</i>	0,95 a	26,9 a	0,95 a

¹ Contenuto totale di fenolo, espresso come equivalenti in acido gallico; ² Contenuto in acido rosmarinico; ³ Capacità antiossidante totale, espressa come equivalenti in acido ascorbico. Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

acido rosmarinico in confronto a quelle italiane. In generale, le popolazioni raccolte in zone più calde e soleggiate (G, V, SB) erano caratterizzate da più alte concentrazioni di TPC, TAC e di acido rosmarinico; le due popolazioni italiane, provenienti da ambienti con temperature medie più elevate rispetto alle popolazioni ungheresi, hanno mostrato risultati eccezionali. Il ruolo dei composti fenolici nella efficace protezione contro lo stress da agenti ossidanti è già stato studiato da vari Autori (Dixon e Pavia, 1995; Alexieva *et al.*, 2001; Downey *et al.*, 2006). Oltre al sistema di protezione enzimatica, lo stress causato dalla siccità, temperature elevate o lesioni meccaniche può essere controllato producendo proprio composti fenolici (Nogués *et al.*, 1998). Perciò il loro contenuto nei tessuti delle piante può aumentare significativamente come risultato di una reazione di risposta allo stress subito (Chinnusamy *et al.*, 2005).

A conferma di questa ipotesi, Celiktas e collaboratori (2007) hanno valutato il contenuto di acido carnosico in campioni turchi di diversa origine di *Rosmarinus officinalis* L. Secondo questa ricerca, il contenuto di metaboliti nei campioni era piuttosto variabile in relazione alle diverse condizioni climatiche dei diversi habitat naturali. Gli autori giunsero quindi alla conclusione che, nelle zone più calde e più aride, le piante possono accumulare più alte quantità di composti fenolici per la loro azione protettiva nei tessuti vegetali sottoposti allo stress ossidativo.

Effetto del processo di coltivazione sulle caratteristiche morfologiche e chimiche

Per la valutazione dell'effetto dovuto alla coltivazione, semi di popolazioni selvatiche di *P. vulgaris* L sono stati seminati in appositi contenitori ed i semenzali derivati sono stati confrontati con le popolazioni selvatiche parentali cresciute in ambiente naturale (Sárosi, 2009). Durante la coltivazione di prunella, a causa delle alterate condizioni climatiche (luce del sole diretta invece che semi-ombra, temperature più elevate), la lunghezza degli steli fioriti e il numero dei nodi è diminuito significativamente rispetto alle popolazioni cresciute nel sottobosco (B, K). Al contrario, la lunghezza dei fiori è incrementata in condizioni artificiali (tab. 5). In tutti i casi, le popolazioni coltivate mostravano minore variabilità di quelle selvatiche, come indicato dai valori di RSD molto più bassi (tab. 6).

Nel caso di quelle popolazioni (B, K) cresciute in condizioni naturali (bosco), le diverse condizioni climatiche verificatesi durante la loro coltivazione (luce del sole diretta, più alta temperatura) hanno influenzato significativamente tutte le caratteristiche chimiche

Tab. 5 - Effetto della coltivazione sulle caratteristiche morfologiche di *Prunella vulgaris* L.

Tab. 5 - Effect of the cultivation on the morphological characteristics of *Prunella vulgaris* L.

Popolazioni	Lung. stelo florale (cm)	Lunghezza dei fiori (cm)	Numero di nodi
B	26,05 a	2,00 a	4,55 a
B - coltivata	12,06 b	2,50 a	2,67 a
K	26,68 a	2,00 a	3,35 a
K - coltivata	13,13 b	2,00 a	2,48 b
G	9,20 a	1,06 b	2,85 a
G - coltivata	10,15 a	1,97 a	2,00 b
V	10,02 a	1,44 a	3,33 a
V-coltivata	12,30 a	1,98 a	2,60 a

Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

analizzate. Come risultato della coltivazione, i valori di TPC, RAC e TAC sono aumentati significativamente. Nelle popolazioni trovate naturalmente nei luoghi erbosi, e quindi in una condizione di piena luce (G, V), è risultato incrementare esclusivamente l'acido rosmarinico, in quanto il livello di TPC è risultato il medesimo in tutte le popolazioni mentre quello relativo al TAC è persino diminuito negli individui coltivati. In queste popolazioni le differenze fra le condizioni climatiche dell'habitat naturale e quelle del campo di coltivazione non erano così marcate, perciò la coltivazione non ha avuto effetto sul contenuto di composti fenolici. Nelle piante di prunella coltivate, i valori TPC e TAC non hanno raggiunto mai i livelli del campione di riferimento (*T. vulgaris* L.), mentre nel caso di RAC, due popolazioni (B e V coltivato)

Tab. 6 - Effetto della coltivazione sul contenuto di fenolo (TPC) e di acido rosmarinico (RAC) e sulla capacità antiossidante (TAC) di *Prunella vulgaris* L.

Tab. 6 - Effect of the cultivation on the phenol (TPC) and rosmarinic acid (RAC) content and on the antioxidant capacity (TAC) of *Prunella vulgaris* L.

Popolazioni	TPC ¹ (mg GAE/ml)	RAC ² (mg/g)	TAC ³ (mgAAE/ml)
B	0,28 b	14,40 b	0,61 b
B - coltivata	0,50 a	23,42 a	0,74 a
K	0,31 b	16,80 a	0,42 b
K - coltivata	0,56 a	17,48 a	0,69 a
G	0,46 a	22,09 b	0,64 a
G - coltivata	0,46 a	28,10 a	0,70 a
V	0,46 a	17,44 b	0,63 a
V-coltivata	0,42 a	23,20 a	0,51 b

¹ Contenuto totale di fenolo, espresso come equivalenti in acido gallico; ² Contenuto in acido rosmarinico; ³ Capacità antiossidante totale, espressa come equivalenti in acido ascorbico. Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

hanno quasi raggiunto, e una perfino superato, la concentrazione rilevata nel timo (G coltivato).

Effetto dell'età della pianta e dell'anno di coltivazione sulle caratteristiche morfologiche e chimiche

Nel 2007 è stato effettuato un confronto tra individui di 2 o 3 anni di sviluppo (Sárosi, 2009) per valutare il possibile effetto dell'età della pianta sulle rispettive caratteristiche morfologiche. In tutte le variabili considerate il secondo anno di coltivazione ha dato i migliori risultati (tab. 7). Le popolazioni di piante giovani e adulte hanno mostrato risultati simili. Nel primo anno solo poche piante avevano gli steli fioriti, mentre al terzo anno l'attacco di diversi patogeni (soprattutto ruggine sulle foglie) hanno reso indisponibile il materiale vegetale. Perciò per ottenere le più alte rese di droga, è consigliabile una gestione agronomica che prevede la raccolta al secondo anno.

L'effetto dell'età della pianta sui valori di TPC, RAC e TAC è mostrato in tabella 8. Nel caso di TPC e TAC, i valori più alti misurati sono stati riscontrati nelle popolazioni più adulte, conseguentemente sembra ipotizzabile che durante l'invecchiamento la pianta accumuli più composti fenolici garantendo così una più forte protezione antiossidante alle cellu-

Tab. 7 - Caratteristiche morfologiche di *Prunella vulgaris* L. in diverse età della pianta.

Tab. 7 - Morphological characteristics of *Prunella vulgaris* L. in different plant ages.

Età della pianta	Lungh. stelo fiorale (cm)	Lunghezza dei fiori (cm)	Numero di nodi
1 anno	13,42 b	1,78 b	2,94 b
2 anni	32,28 a	2,40 a	4,04 a
3 anni	11,28 b	1,72 ab	2,67 b

Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

Tab. 8 - Effetto dell'età della pianta sul contenuto di fenolo (TPC) e di acido rosmarinico (RAC) e sulla capacità antiossidante (TAC) di *Prunella vulgaris* L.

Tab. 8 - Effect of the plant age on the phenol (TPC) and rosmarinic acid (RAC) content and on the antioxidant capacity (TAC) of *Prunella vulgaris* L.

Parametro chimico	Popolazione di 2 anni	Popolazione di 3 anni
TPC ¹ (mg GAE/ml)	0.39 b	0.50 a
RAC ² (mg/g)	27.57 a	21.83 a
TAC ³ (mg AAE/ml)	0.36 b	0.67 a

¹ Contenuto totale di fenolo, espresso come equivalenti in acido gallico; ² Contenuto in acido rosmarinico; ³ Capacità antiossidante totale, espressa come equivalenti in acido ascorbico. Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

le. L'irraggiamento luminoso, la mancanza d'acqua, l'insorgere di malattie nelle piante più vecchie possono causare un più forte stress. Oltre al sistema di protezione enzimatico, l'importanza dei carotenoidi, tocoferoli, flavonoidi e altri polifenoli è stato dimostrato in diverse ricerche (Odin, 1997). Poiché i polifenoli hanno attività antivirale e antimutagenica, la loro concentrazione può essere più alta nelle parti più vecchie della pianta (Middleton *et al.*, 2000). In riferimento al contenuto in acido rosmarinico, non è stata trovata nessuna differenza significativa tra le popolazioni analizzate.

Le variazioni dei valori di TPC, RAC e TAC nelle annate sperimentali (2005-2007) sono sintetizzate nella tabella 9. Durante la fase di coltivazione, i valori di TPC mostravano una leggerea tendenza ad aumentare, ed il valore più alto è stato misurato nel 2007, nella popolazione più vecchia raccolta nell'anno di coltivazione più caldo. Nel caso di RAC, i livelli più alti sono stati registrati nell'ultimo anno (2007), quando la temperatura media, le precipitazioni e le radiazioni sono state più alte rispetto agli anni precedenti. Al contrario, i valori di TPC e RAC, rispetto a quelli del TAC, hanno mostrato i risultati più alti nel 2006, e una significativa diminuzione è stata registrata nel 2007. In accordo con queste osservazioni sembra che, nel caso della prunella, i valori di TPC e TAC abbiano una stretta relazione con l'età della pianta (le quantità aumentano nelle popolazioni più vecchie per ragioni fisiologiche), mentre la quantità di acido rosmarinico appare aumentare significativamente nelle condizioni di maggiore siccità e temperatura come reazione di risposta a questi fattori di stress.

Effetto della fase fenologica sui composti attivi

A causa della contraddittorietà trovata nei dati di letteratura presentati nell'introduzione, sono stati con-

Tab. 9 - Effetto dell'anno di coltivazione sul contenuto di fenolo (TPC) e di acido rosmarinico (RAC) e sulla capacità antiossidante (TAC) di *Prunella vulgaris* L.

Tab. 9 - Effect of the cultivation's year on the phenol (TPC) and rosmarinic acid (RAC) content and on the antioxidant capacity (TAC) of *Prunella vulgaris* L.

Anno di coltivazione	TPC ¹ (mg GAE/ml)	RAC ² (mg/g)	TAC ³ (mg AAE/ml)
2005	0,43 b	15,30 b	0,30 c
2006	0,48 a	13,10 b	0,97 a
2007	0,50 a	21,83 a	0,67 b

¹ Contenuto totale di fenolo, espresso come equivalenti in acido gallico; ² Contenuto in acido rosmarinico; ³ Capacità antiossidante totale, espressa come equivalenti in acido ascorbico. Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

Tab. 10 - Effetto della fase fenologica di raccolta sul contenuto di fenolo (TPC) e di acido rosmarinico (RAC) e sulla capacità anti-ossidante (TAC) di *Prunella vulgaris* L.

Tab. 10 - Effect of the phenological stage of harvest on the phenol (TPC) and rosmarinic acid (RAC) content and on the antioxidant capacity (TAC) of *Prunella vulgaris* L.

Fase fenologica degli steli	TPC ¹ (mg GAE/ml)	RAC ² (mg/g)	TAC ³ (mg AAE/ml)
A foglia	0,95 a	30,53 a	1,21 a
Con gemme fiorali	0,60 b	21,83 b	1,11 ab
In fioritura	0,46 c	21,90 b	0,70 c
Sovra-maturi	0,28 d	19,70 b	0,47 d

¹ Contenuto totale di fenolo, espresso come equivalenti in acido gallico; ² Contenuto in acido rosmarinico; ³ Capacità antiossidante totale, espressa come equivalenti in acido ascorbico
Valori affiancati dalla stessa lettera non sono significativamente diversi per $P < 0,05$ (Tukey's multiple-range test).

dotti studi sulla più opportuna fase fenologica in grado di garantire le migliori caratteristiche chimiche (Sárosi, 2009). I risultati sono riassunti nella tabella 10. In tutti i casi, dagli steli in vegetazione sono state ottenute rese migliori, paragonabili anche alle quantità di riferimento trovate nel timo. Durante il processo di fioritura, i valori di TPC e TAC sono diminuiti in maniera significativa, mentre nel caso di RAC non si sono evidenziate differenze apprezzabili fra l'inizio della fioritura e l'appassimento. Questi risultati sono in accordo con i dati di letteratura disponibili (Del Baño *et al.*, 2003). Poiché la raccolta precoce delle foglie è molto laboriosa e dispendiosa per l'*habitus* prostrato della pianta, è consigliabile effettuare la raccolta prima del periodo di piena fioritura. Ciò come naturale compromesso tra il fatto che, in questa fase fenologica, il TAC delle piante è ancora alto mentre i valori di RAC e TPC sono accettabili.

Conclusioni

Le diverse ricerche portate avanti su prunella sono state indotte dagli interessanti dati della letteratura su questa specie per i molti effetti terapeutici riportati, così come per l'ampia varietà di principi attivi descritti nella specie. Ad esempio, in Rosmol e Rosmol-P, due prodotti antiossidanti naturali messi a punto e testati in Ungheria, è contenuto l'estratto di prunella (Lugasi *et al.*, 2006). Nel caso di un successo commerciale di questi due prodotti nell'industria alimentare, ci sarà la necessità di una maggiore produzione di biomassa di questa specie.

Gli studi effettuati negli habitat ungheresi e italiani di prunella, hanno mostrato che le popolazioni erano piuttosto variabili dal punto di vista delle loro caratteristiche morfologiche e chimiche. Dato che questa spe-

cie si può trovare in habitat molto diversi (nel sottobosco, sui bordi del bosco, nei prati stabili e sfalciati), ciò è probabilmente alla base della sua elevata variabilità. Ad esempio, in seguito allo sfalcio, essa è capace di modificare la lunghezza degli steli fioriti sviluppando un paio di foglie in meno e internodi più corti, mentre nel sottobosco essa cresce con germogli molto più lunghi per la competizione per la luce. Le popolazioni raccolte nel sottobosco, ad eccezione di un tipo, avevano un minor contenuto di composti fenolici e di acido rosmarinico, e la loro capacità antiossidante era anche più bassa di quella trovata per le altre piante.

Un più alto contenuto fenolico è stato osservato in quelle popolazioni cresciute nei prati sfalciati, caratterizzati da una maggiore esposizione al sole. Questo fatto è stato confermato dalla valutazione delle popolazioni di prunella originarie della regione mediterranea. Le piante italiane, raccolte nello stesso periodo dei campioni ungheresi, producevano metaboliti in quantità significativamente più alte delle popolazioni ungheresi; la loro capacità antiossidante superava perfino quella registrata per le popolazioni di timo. Entrambi gli habitat italiani erano caratterizzati da condizioni climatiche a maggiore temperatura e maggiore irraggiamento rispetto a quelle registrate nello stesso periodo per le popolazioni selvatiche ungheresi. La valutazione della coltivazione di prunella secondo parametri certi dava le stesse indicazioni. A causa delle alterate condizioni climatiche (sole diretto invece della penombra, temperature più alte) il contenuto di composti fenolici, di acido rosmarinico e di capacità antiossidante totale aumentava significativamente rispetto alle popolazioni cresciute nel sottobosco. Per la stessa ragione, la lunghezza degli steli fioriti diminuiva, gli internodi diventavano più corti, le piante sviluppavano un minor numero di foglie. Nelle stesse condizioni è stato anche notato che la lunghezza del fiore aumentava, portando ad un miglior rapporto tra stelo e fiore. Poiché i fiori contengono antocianine aventi potere antiossidante, questo dato potrebbe essere importante nella fase di selezione.

Il contenuto totale di flavonoidi e quello di acido rosmarinico aumenta sino al secondo anno di coltivazione per poi decrescere; non è quindi consigliabile mantenere la coltura di prunella per più di due anni. Durante il terzo anno si verifica l'insorgere di diversi tipi di malattie che causano malattie delle foglie, presenza di steli fiorali più corti ed avvizzimento, con conseguenti raccolti scarsi. L'effetto dell'età della pianta e quello dell'anno di coltivazione non possono essere chiaramente differenziati. Il più alto contenuto fenolico totale e la capacità antiossidante totale erano correlate con le piante più vecchie. Riguardo al conte-

nuto in acido rosmarinico, l'età della pianta di prunella non incideva in modo significativo, comunque, risultava correlata alle condizioni climatiche poichè le più alte concentrazioni venivano trovate nei campioni raccolti nell'estate 2007, quando la stagione era stata più calda e soleggiata rispetto agli altri anni di raccolta sperimentale. Il contenuto fenolico gioca un ruolo importante nel sistema difensivo della pianta, perciò, in accordo con dati di letteratura precedenti riferiti al rosmarino (Engel, 2005), è possibile ritenere che la fase fenologica potrebbe avere un effetto importante sul contenuto totale fenolico, sul contenuto di acido rosmarinico, e sulla capacità antiossidante totale della prunella. Tutto ciò è stato provato in altre ricerche (Sárosi, 2009) nelle quali è stato evidenziato che i germogli più giovani e più sensibili e le foglie erano caratterizzati da un più significativo aumento del contenuto di fenoli totali.

Consigli pratici

Le popolazioni di prunella differiscono significativamente per le loro caratteristiche morfologiche (lunghezza degli steli fiorali, lunghezza dei fiori, numero dei nodi) e chimiche (contenuto totale di fenoli, contenuto di acido rosmarinico, capacità antiossidante totale). A causa della grande variabilità di tali caratteristiche, così come la presenza di individui di diversa provenienza e le differenze fra le fasi fiorali (steli portanti bocci, steli con fiori, steli con fiori appassiti) durante il periodo di raccolta, sarebbe consigliabile programmare un processo di coltivazione specifico. In uno studio precedente, in Germania, era già stato avviato un lavoro sperimentale su popolazioni di prunella (Bomme *et al.*, 2006). In accordo con questo studio, è consigliabile mantenere le colture di prunella per non più di 2 anni. La prunella può essere propagata per seme; può crescere anche in pieno sole se le si garantisce un'occasionale irrigazione a seconda delle condizioni termiche. Per conservare i fiori sugli steli ed un alto livello di composti fenolici, si consiglia di raccogliere gli steli portanti fiori in boccio al secondo anno di coltivazione, in giugno.

Ringraziamenti

Gli autori intendono ringraziare per il supporto finanziario l'Hungarian State Eötvös Fellowship e TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0005. Gli autori ringraziano anche la Prof.ssa Luisa Pistelli, la Dr.ssa Alessandra Bertoli ed il Dr. Stefano Benvenuti, dell'Università di Pisa, ed il Dr. Gianluca Burchi e il Dr. Maurizio Antonetti, del CRA-VIV Unità di

Ricerca per il Vivaismo e la Gestione del Verde Ambientale ed Ornamentale di Pescia, per il loro supporto tecnico-scientifico e per il loro utili consigli. In particolare, gli autori ringraziano la Dr.ssa Alessandra Bertoli per avere tradotto la review in italiano.

Riassunto

L'uso di piante come fonte di metaboliti secondari utilizzabili come conservanti alimentari non è una novità, ma questo nuovo orizzonte 'nutraceutico' ha portato negli ultimi anni a considerare, oltre alle piante medicinali e aromatiche, anche gli ortaggi, la frutta fresca e quella secca per valutarne i possibili vantaggi in termini di salute umana. In particolare, il ruolo dei composti antiossidanti sta diventando sempre più importante sia nella moderna farmacia che nell'industria alimentare. L'accumulo di composti fenolici nelle specie aromatiche è influenzato da diversi fattori. In accordo con i dati riportati in letteratura, i principali parametri che modificano la produzione di metaboliti sono le condizioni climatiche (principalmente temperature, radiazione luminosa, precipitazioni) e i protocolli agronomici (tempo e fase fenologica della raccolta). Considerando queste premesse, risulta fondamentale pervenire all'ottimizzazione di parametri produttivi e qualitativi ispirati dall'industria farmaceutico-alimentare che dedica molta attenzione alle piante aromatiche come fonte di antiossidanti. In questa review vengono discussi i principali fattori che influenzano l'accumulo di antiossidanti in piante aromatiche, prendendo in particolare considerazione una pianta di recente introduzione nel settore delle piante medicinali ed aromatiche, la prunella (*Prunella vulgaris* L.). Lo studio fitochimico è stato impostato come confronto con un'altra pianta che accumula composti fenolici, il timo (*Thymus vulgaris* L.), molto più conosciuta e studiata. La prunella, appartenente alla famiglia delle *Lamiaceae*, è originaria dell'Eurasia ed è usata comunemente nella medicina cinese e indiana. Nell'estratto della pianta sono stati trovati diversi composti attivi che hanno effetto antiossidante: acido ursolico, acido oleanolico, acido rosmarinico, flavonoidi e antociani. Questa review include un riassunto dei dati di letteratura riferiti ai costituenti principali e al loro possibile effetto farmacologico. La mancanza di sapore e odore dell'estratto di questa pianta sembra incoraggiare il suo uso come conservante alimentare naturale. In alcuni prodotti commerciali (Rosmol e Rosmol-P), questa specie viene già utilizzata come ingrediente principale. I principali fattori che influenzano l'accumulo dei composti attivi nella prunella sono ancora poco studiati. Le caratteristiche fitochi-

miche dell'estratto possono essere paragonate a quelle di una pianta medicinale e aromatica più conosciuta come il sopra citato timo, la cui spiccata attività antiossidante è già stata provata. Questa specie, appartenente anch'essa alla famiglia delle *Lamiaceae*, mostra una delle più potenti azioni antiossidanti fra le piante medicinali convenzionalmente utilizzate. Il suo olio essenziale (principali componenti, timolo e carvacrolo) e i componenti non volatili (acido rosmarini-co, carnosolo, acido carnosico, flavonoidi) sono categorie di fitochimici responsabili dell'azione inibitoria sulla reazione a catena radicalica e dell'effetto *scavenger* sui radicali liberi. Diversi studi confermano la sua forte azione antiossidante. Comunque, come molte altre specie appartenenti alla famiglia delle *Lamiaceae*, la pianta del timo, al contrario della prunella, ha un odore ed un sapore tipici che sono caratteristiche scarsamente desiderabili per un antiossidante da usare come additivo alimentare.

Parole chiave: prunella (*Prunella vulgaris* L.), timo (*Thymus vulgaris* L.), composti fenolici, condizioni climatiche, metaboliti secondari.

Articolo pubblicato nell'ambito dell'iniziativa riservata a giovani colleghi da poco addottorati

Bibliografia

- ALEXIEVA V., SERGIEV I., MAPELLI S., KARANOV E., 2001. *The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat*. Plant Cell Env. 24: 1337-1344.
- ALVAREZ M.E., MARIA A.O., SAAD J.R., 2002. *Diuretic activity of Fabiana patagonica in rats*. Phytotherapy Reserach 16: 71-73.
- AU T.K., LAM T.L., NG T.B., FONG W.P., WAN D.C.C., 2001. *A comparison of HIV-1 integrase inhibition by aqueous and methanol extracts of Chinese medicinal herbs*. Life Sciences 68 (14): 1687-1694.
- BARICEVIC D., SOSA S., DELLA LOGGIA R., TUBARO A., SIMONOVSKA B., KRASNA A., ZUPANCIC A., 2001. *Topical anti-inflammatory activity of Salvia officinalis L. leaves: the relevance of ursolic acid*. J. Ethnopharmacology 75: 125-132.
- BASLAS K.K., AGRA C., 1955. *Essential oil from Prunella vulgaris*. Journal of the Indian Chemical Society 32: 228-230.
- BENSKY D., GAMBLE A., 1986. *Chinese Herbal Medicine – Materia Medica*. Eastland Press (Seattle).
- BEUTNER S., BLOEDRON B., FRIXEL S., BLANCO I.H., HOFFMANN T., 2001. *Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of b-carotene in antioxidant functions*. Journal of the Science of Food and Agriculture 81 (6): 559-568.
- BOMME U., HEUBL G., BAUER R., 2006. *Erste Ergebnisse der Untersuchungen zur botanischen Charakterisierung sowie zum Ertragsverhalten und Inhaltsstoffspektrum verschiedener Herkünfte von Prunella vulgaris L., Leonorus japonicus Houtt., und Sigesbeckia pubescens Makino*. Zeitschrift für Arznei & Gewürzpflanzen 11: 81-91.
- BROWN J., KHODR H., HIDER R.C., RICE-EVANS C., 1998. *Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺-ions: implications for their antioxidant properties*. Bioch. J. 330: 1173-1178.
- BUETLER T.M., RENARD M., OFFORD E.A., SCHNEIDER H., RUEGG U. 2002. *Green tea extract decreases necrosis in mdx mice and protects against reactive oxygen species*. Am. J. Clinical Nutrition 75: 749-753.
- BURNS A., LEVY R., 1994. *Dementia*. London: Chapman and Hall. 511-514.
- CELIKITAS O.Y., BEDIR E., SUKAN F.V., 2007. *In vitro antioxidant activities of Rosmarinus officinalis extracts treated with supercritical carbon dioxide*. Food Chem. 101: 1457-1464.
- CHAN E.W.C., SOH E.Y., TIE P.P., LAW Y.P., 2011. *Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of Camellia sinensis*. Pharmacognosy Res. 3 (4): 266-272.
- CHEN X., BAI J., SUN H., 2007. *Preparation of prunella species extract, its preparation method and application thereof*. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu (Shangai).
- CHINNUSAMY V., XIONG L., ZHU J.K., 2005. *Use of genetic engineering and molecular biology approaches for crop improvement for stress environments*. In: Abiotic Stresses. Plant resistance through breeding and molecular approaches, Food Products Press (New York, London, Oxford): 47-109.
- COLLINS N.H., LESSEY E.C., FOWLER L., PALOMINO W.A., HOUWING A.M., LESSEY B.A., 2006. P-374: *Herbal therapy for endometriosis: Prunella vulgaris (self heal) reduces the size and number endometriotic xenografts in immunodeficient RAG-2/gamma(c) knockout mice*. Fertility & Sterility 86: 274.
- COS P., YING L., CALOME M., HU J.P., CIMANGA K., VAN POEL B., PIETERS L., VLIETNICK A.J., VAN DEN BERGHE D., 1998. *Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers*. Journal of Natural Products 61: 71-76.
- CULPEPER N., 1640. *Culpeper's Complete Herbal*. W. Foulsham & Co. Ltd. (London).
- DEL BAÑO M.J., LORENTE J., CASTILLO J., BENAVENTE-GARCÍA O., DEL RÍO J.A., ORTUÑO A., QUIRIN K.W., GERARD D., 2003. *Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 4247-4253.
- DIXON R.A., PAVIA N.L., 1995. *Stress-induced phenylpropanoid metabolism*. The Plant Cell 7: 1055-1097.
- DMITRUK S.I., 1986. *Coumarins of Prunella vulgaris*. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 4: 510-511.
- DMITRUK S.I., 2001. *Antiinflammatory properties, antibacterial and antifungal activities of the extract from Prunella vulgaris L. above-ground part*. Rastitel'nye Resursy 37 (4): 92-96.
- DMITRUK S.I., DMITRUK S.E., BEREZOVSKAYA T.P., PRISHCHEP T.P., 1987. *Flavonoids of Prunella vulgaris*. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 3: 449-450.
- DMITRUK S.I., DMITRUK S.E., KHORUZHAYA T.G., BEREZOVSKAYA T., 1985. *Pharmacognostic study of Prunella vulgaris*. Rastitel'nye Resursy 21 (4): 463-469.
- DOROSH N., DOMARATSKAYA O.P., 1954. *Phytochemical studies on plants of the Prunella vulgaris variety of the type of the common meadow geranium*. Sbornik Rabot Nauch. Studenschesk. 2: 64-67.
- DOWNEY M.O., DOKOOZLIAN N.K., KRISTIC M.P., 2006. *Cultural practice and environmental impacts on flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research*. American Journal of Enology and Viticulture 57: 257-268.
- ENGEL R., 2005. *Rozmaring-klónok összantioxidáns-kapacitásának változása a tenyészidőszak alatt*. MSc Thesis, Corvinus University of Budapest.
- FANG X., YU M.M.S., YUEN W.H., YONG Z.S., CHANG R.C.C., 2005. *Immune modulatory effects of Prunella vulgaris L. on monocytes/macrophages*. International Journal of Molecular Medicine 16: 1109-1116.
- GILDEMEISTER E., HOFFMANN F.R., 1961. *Die ätherische Öle*. Vol. VII. Akademie-Verlag (Berlin).

- GRIEVE M., 1992. *A Modern Herbal*. Tiger Books Int. (London).
- GU X.J., LI Y.B., LI P., QIAN S.H., ZHANG J.F., 2007. *Triterpenoid saponins from the spikes of Prunella vulgaris*. *Helvetica Chimica Acta* 90 (1): 72-78.
- GUERRO J.C., CIAMPI L.P., CASTILLA A.C., MEDEL F.S., SCHALCHLI H.S., HORMAZABAL U., BENSCH E.T., ALBERDI M.L., 2010. *Antioxidant capacity, anthocyanins and total phenols of wild and cultivated berries in Chile*. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70 (4): 537-544.
- HALLIWELL B., AESCHBACH R., LÖLIGER J., AUROMA O.I., 1995. *The characterization of antioxidants*. *Food Chem.* 33 (7): 601-617.
- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C., 1990. *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview*. *Methods in Enzymology*, 186: 1-85.
- HARMAN D., 1993. *Free radicals theory of aging: a hypothesis on pathogenesis of senile dementia of the Alzheimer's type*. *Age* 16: 23-30.
- HARPUT U.S., SARACOGLU I., OGIHARA Y., 2006. *Effects of two Prunella species on lymphocyte proliferation and nitric oxide production*. *Phytotherapy-Research* 20 (2): 157-159.
- HUDAIB M., SPERONI E., DI PIETRA A.M., CAVRINI V., 2002. *GC/MS evaluation of thyme (Thymus vulgaris L.) oil composition and variations during the vegetative cycle*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29: 691-700.
- JAIN M., SAXENA V.K., 1984. *Chemical examination of the fat from the leaves of Brunella vulgaris*. *Journal of the Institution of Chemists (India)* 56 (3): 133-134.
- JEONG H.G., 1999. *Inhibition of cytochrome P450 expression by oleanolic acid: hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced hepatic injury*. *Toxicol. Letters* 105: 215-222.
- JIROVSKY D., KOSINA P., MYSLÍNOVÁ M., STYSKALA J., ULRICOVÁ J., ŠIMÁNEK V., 2007. *HPLC analysis of rosmarinic acid in feed enriched with aerial parts of Prunella vulgaris and its metabolites in pig plasma using dual-channel coulometric detection*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (19): 7631-7637.
- JORDÁN M.J., MARTÍNEZ R.M., GOODNER K.L., BALDWIN E.A., SOTOMAYOR J.A., 2006. *Seasonal variation of Thymus hymalis Lange and Spanish Thymus vulgaris L. essential oils composition*. *Industrial Crops and Products* 24 (3): 253-263.
- KAGEYAMA S., KUROKAWA M., SHIRAKI K., 2000. *Extract of Prunella vulgaris spikes inhibits HIV replication at reverse transcription in vitro and can be absorbed from intestine in vivo*. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy* 11 (2): 157-164.
- KARPINSKA M., BOROWSKI J., DANOWSKA-OZIEWICZ M., 2000. *Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meat balls during storage in freezer*. *Nahrung* 44: 38-41.
- KATALINIC V., MILOS M., KULISIC T., JUKIC M., 2004. *Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols*. *Food Chem.* 94: 550-557.
- KATAYOUN M.S., MAJID S., MOHAMMAD A., 2006. *The essential oil composition of Prunella vulgaris L.* *J. Ess. Oil-bearing plants* 9 (3): 257-260.
- KEVILLE K., 1991. *The Illustrated Herb Encyclopedia*. Mallard Press (New York).
- KIM S.Y., KIM S.H., SHIN H.Y., LIM J.P., CHAE B.S., PARK J.S., HONG S.G., KIM M.S., JO D.G., PARK W.H., SHIN T.Y., 2007. *Effects of Prunella vulgaris on mast cell-mediated allergic reaction and inflammatory cytokine production*. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, USA)* 232 (7): 921-926.
- KIRTIKAR K.R., BASU B.D., AU I.C.S., 1935. *Indian Medicinal Plants. 2nd Edition, Vol. 2*. Jayyed Press (Delhi).
- KOJIMA H., OGURA H., 1986. *Constituents of the Labiatae plants. Part 1. Triterpenoids from Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* 25 (3): 729-733.
- KOJIMA H., SATO N., HATANO N., OGURA H., 1990. *Constituents of the Labiatae plants. Part 5. Sterol glucosides from Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* 29 (7): 2351-2355.
- KOJIMA H., TOMINAGA H., SATO S., OGURA H., 1987. *Constituents of the Labiatae plants. Part 2. Pentacyclic triterpenoids from Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* 26 (4): 1107-1111.
- KOJIMA H., TOMINAGA H., SATO S., TAKAYANAGI H., OGURA H., 1988. *Constituents of the Labiatae plants. Part 3. Two novel hexacyclic triterpenoids from Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* 27 (9): 2921-2925.
- KOSAR M., DORMAN H.J.D., HILTUNEN R., 2005. *Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species*. *Food Chem.* 91 (3): 525-533.
- KYUNGSOO N., YUNHEE S., 2004. *Effect of water extracts from Thesium chinense Tunczaninov and Prunella vulgaris L. on aromatase and cyclooxygenase activities*. *Korean Journal of Pharmacognosy* 35 (2): 147-151.
- LACROIX M., SMORAGIEWICZ W., PAZDERNIK L., KONÉ M.I., KRZYSTYNIK K., 1997. *Prevention of lipid radiolysis by natural antioxidants from rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and thyme (Thymus vulgaris L.)*. *Food Res. Intern.* 30(6): 457-462.
- LAM T.L., LAM M.L., AU T.K., IP D.T.M., NG T.B., FONG W.P., WAN D.C.C., 2000. *A comparison of human immunodeficiency virus type-1 protease inhibition activities by the aqueous and methanol extracts of Chinese medicinal herbs*. *Life Sciences* 67 (23): 2889-2896.
- LAMAISON J.L., PETITJEAN-FREYET C., CARNAT A., 1991. *Lamiaceae medicinals antioxidant properties, rosmarinic acid as potential source*. *Pharmac. Acta Helvetiae* 66 (7): 185-188.
- LAURENT E., 1986. *Country Life Guides. Edible and medicinal plants of Britain and Northern Europe. 3rd Edition*. Hamlyn Publishing Group, 164. p
- LEE K.H., LIN Y.M., WU T.S., ZHANG D.C., YAMAGISHI T., HAYASHI T., HALL I.H., CHANG J.J., WU R.Y., YANG T.H., 1988. *Antitumor agents. LXXXVIII. The cytotoxic principles of Prunella vulgaris, Psychotria serpens, and Hyptis capitata: ursolic acid and related derivatives*. *Planta Medica* 54 (4): 308-311.
- LI Y., MATSUDA H., YOSHIKAWA M., 1999. *Effects of oleanolic acid glycosides on gastrointestinal transit and ileus in mice*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 7: 1201-1205.
- LIU F., NG T.B., 2000. *Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs*. *Life Sci.* 66(8): 725-735.
- LIU S., JIANG S., WU Z., LIN L., ZHANG J., ZHU Z., WU S., 2002. *Identification of inhibitors of the HIV-1 gp41 six-helix bundle formation from extracts of Chinese medicinal herbs Prunella vulgaris and Rhizoma cibotte*. *Life Sci.* 71 (15): 1779-1791.
- LU XM., SHEN C., PENG S.L., 2002. *Clinical study on treatment of mammary gland proliferation in women with Ruhexiao capsule (RHXC): Stage II*. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine* 9: 20-21.
- LUGASI A., HÓVÁRI J., HAGYMÁSI K., JAKÓCZI I., BLÁZOVICS A., 2006. *Antioxidant properties of a mixture of Lamiaceae plants intended to use as a food additive*. *Acta Alim.* 35 (1): 85-97.
- LUGASI A., LOSADA V., HÓVÁRI J., LEBOVICS V., JAKÓCZI I., AUBOURG S., 2007. *Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage*. *LWT. Food Sci. Tech.* 40(5): 930-936.
- MA C., NAKAMURA N., HATTORI M., KAKUDA H., QIAO J., YU H., 2000. *Inhibitory effects on the HIV-1 protease of constituents from the wood of Xanthoceras sorbifolia*. *Journal of Natural Products* 63: 238-242.
- MA W., YUAN H.X., MA W.Z., 2004. *Determination of ten trace elements in Prunella vulgaris L. mulberry leaves, and Dendrothema indicum L. by flame atomic absorption spectrometry*. *Guangpu Shiyanshi* 21 (4): 745-748.
- MARIASSYOVA M., 2006. *Antioxidant activity of some herbal extracts in rapeseed and sunflower oils*. *Journal of Food and Nutrition Research* 45 (3): 104-109.

- MENG G., ZHANG K., ZHANG M.Z., 2007. *Chemical constituents of Prunella vulgaris L and antitumor activity*. Xibei Yaoxue Zazhi 22 (4): 211-213.
- MENG Z., HE L., 1995. *Studies on constituents of Prunella vulgaris L*. Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao 26 (6): 329-331.
- MIDDLETON E. JR., KANDASWAMI C., THEOHARIDES T.C., 2000. *The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer*. Pharmacological Review 52: 673-839.
- NATHEROVA L., BUCKOVA A., BECK J., 1962. *The content of tannins in Calluna vulgaris and Prunella vulgaris during two vegetation periods*. Acta Facultatis Pharmaceuticae Bohemoslovenicae 7: 63-86.
- NATHEROVA L., REZACOVA A., 1972. *Pharmacognostic studies of 3 species of the genus Prunella L*. Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae 21: 33-61.
- NOGUÉS S., ALLEN D.J., MORISON J.I.L., BAKER N.R., 1998. *Ultraviolet-B radiation effects on water relations, leaf development and photosynthesis in droughted pea plants*. Plant Physiology 117: 173-181.
- NOLKEMPER S., REICHLING J., STINTZING F.C., CARLE R., SCHNITZLER P., 2006. *Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro*. Planta Medica 72 (15): 1378-1382.
- ODIN A.P., 1997. *Vitamin as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action*. Mutation Research 386: 39-67.
- PETERSEN M., SIMMONDS M.S.J., 2003. *Molecules of interest. Rosmarinic acid*. Phytochemistry 62: 121-125.
- PHARMACOPOEA EUROPEA (Ph. Eur.), 2005. 5th Edition. Council of Europe (Strasbourg).
- PHARMACOPOEA HUNGARICA (Ph. Hg.), 2004. 8th Edition, Vol. 2. Medicina Könyvkiadó Rt. (Budapest).
- PHARMACOPOEIA JAPONICA. 10th Edition. (Hirokawa).
- PSOTOVÁ J., CHLOPČIKOVÁ S., MIKETOVÁ P., ŠIMÁNEK V., 2005. *Cytoprotectivity of Prunella vulgaris on doxorubicin-treated rat cardiomyocytes*. Fitoterapia 76 (6): 556-561.
- PSOTOVÁ J., SVOBODOVÁ A., KOLAROVÁ H., WALTEROVÁ D., 2006. *Photoprotective properties of Prunella vulgaris and rosmarinic acid on human keratinocytes*. Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology 84 (3): 167-174.
- ROGERS R.D., 2000. *Roger's Herbal Manual*. Karomat Wilderness Ways (Edmonton).
- RYU S.Y., LEE C.K., LEE C.O., KIM H.S., ZEE O.P., 1992. *Antiviral triterpenes from Prunella vulgaris*. Archives of Pharmaceutical Research 15 (3): 242-245.
- RYU S.Y., OAK M.H., YOON S.K., CHO D.I., YOO G.S., KIM T.S., KIM K.M., 2000. *Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of Prunella vulgaris*. Planta Medica 66 (4): 358-360.
- SARASWAT B.S., VISEN P.K.S., DAYLA R., AGARWAL D.P., PATNAIK G.K., 1996. *Protective action of ursolic acid against chemical induced hepato-toxicity in rats*. Indian Journal of Pharmacology 28: 232-239.
- SÁROSI S., BERNÁTH J., 2006. *Comparative evaluation of the antioxidant properties of Prunella vulgaris L. and Thymus vulgaris L*. Proc. 1st Int. Symp. Labiatae: Adv. in Production, Biotechnology and Utilisation, 2006. Acta Hort., 723: 173-178.
- SAXENA V.K., ARCHANA S., 1984. *Flower pigments of Brunella vulgaris Roxb*. Acta Cincia Indica, Chemistry 10 (1): 37-38.
- SENDRA J., 1963a. *Phytochemical studies of Prunella vulgaris and Prunella grandiflora-flavonoids and phenolicarboxylic acids*. Dissertationes Pharmaceuticae 15 (4): 483-489.
- SENDRA J., 1963b. *Phytochemical studies on Prunella vulgaris and Prunella grandiflora. I. Saponin and triterpene compounds*. Dissertationes Pharmaceuticae 15 (3): 333-341.
- SHIMANO T., MIZUNO M., OKAMOTO H., ADACHI I., 1956. *Triterpenoids. IX. A new component of Prunella, ursolic acid*. Yakugaku Zasshi 76: 974-975.
- SHIN T.Y., KIM Y.K., KIM H.M., 2001. *Inhibition of immediate-type allergic reactions by Prunella vulgaris in a murine model*. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 23 (3): 423-435.
- SIMON T., 2000. *A magyarországi edényes flóra határozója*. 4th Edition. Nemzeti Tankönyvkiadó Rt. (Budapest).
- SKOTTOVÁ N., KAZDOVÁ L., OLIYARNYK O., VECERÁ R., SOBOLOVÁ L., ULRICHOVÁ J., 2004. *Phenolics-rich extracts from Silybum marianum and Prunella vulgaris reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats*. Pharmacol. Res. 50 (2): 123-130.
- SZABO E., THELEN A., PETERSEN M., 1999. *Fungal elicitor preparations and methyl jasmonate enhance rosmarinic acid accumulation in suspension cultures of Coleus blumei*. Plant Cell Report 18: 485-489.
- SUN H.X., QIN F., PAN Y.J., 2005. *In vitro and in vivo immunosuppressive activity of Spica Prunellae ethanol extract on the immune responses in mice*. J. Ethnopharm. 101 (1-3): 31-36.
- TABBA H.D., CHANG R.S., SMITH K.M., 1989. *Isolation, purification, and partial characterization of prunellin, an anti-HIV component from aqueous extracts of Prunella vulgaris*. Antiviral Research 11 (5-6): 263-273.
- TANG H.Q., HU J., YANG L., TAN R.X., 2000. *Terpenoids and flavonoids from Artemisia species*. Planta Medica 66: 391-393.
- TIAN J., XIAO Z., CHEN Y., ZHAO Y., WANG Z., 2000. *Structure identification of new compound Vulgarsaponin A from Prunella vulgaris*. Yaoxue Xuebao 35 (1): 29-31.
- TIEN C.Y.T.T., 1979. *Dictionary of Chinese Medicine, Science and Technology*. Vol. 2. Publishing Co. (Sanghai).
- WANG D., YAO H., SU Z., 1994a. *Analysis on the amino acids and trace elements of 3 species of Prunella*. Zhiwu Ziyuan Yu Huangjing 3 (4): 61-62.
- WANG H., ZHANG Z., SU Z., 1994b. *The constituents of the essential oil from three plants of Prunella*. Zhongguo Yaoxue Zazhi (Beijing) 29 (11): 652-653.
- WANG Z., ZHAO Y., TU G., HONG S., CHENG Y., 1999. *Studies on chemical constituents from Prunella vulgaris*. Yaoxue Xuebao 34 (9): 679-681.
- WANG Z., ZHAO Y., WANG B., LI J., AI T., CHEN Y., 2000. *A new phenylpropanoid and triterpenoids from Prunella vulgaris*. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences 9 (3): 128-130.
- XU H.X., LEE S.H.S., LEE S.F., WHITE R.L., BLAY J., 1999. *Isolation and characterization of an anti-HSV polysaccharide from Prunella vulgaris*. Antiviral Research 44 (1): 43-54.
- XU S., HOU X., WU A., 1989. *Pharmacological studies on blood sugar-lowering activity of the active principle of common self-heal*. Zhongcaoyao 20 (8): 358-360.
- YANG L., LI Z., PU F., SHI Y., ZHANG Z., 1988. *The chemical composition of the essential oil of Prunella vulgaris*. Yaowu Fenxi Zazhi 8 (5): 264-266.
- YAO X.J., WAINBERG M.A., PARNIAK M.A., 1992. *Mechanism of inhibition of HIV-1 infection in vitro by purified extract of Prunella vulgaris*. Virology 187 (1): 56-62.
- YOSHIKAWA M., MATSUDA H., 2000. *Antidiabetogenic activity of oleanolic acid glycosides from medicinal foodstuffs*. Biofactors 13: 231-237.
- ZHANG Y., PUI-HAY P.B., ENG-CHEONG V.O., HONG-XI X., DELANEY G.D., LEE S.H.S., LEE S.F., 2007. *Chemical properties, mode of action, and in vivo anti-herpes activities of a lignin-carbohydrate complex from Prunella vulgaris*. Antiviral Research 75 (3): 242-249.
- ZHANG Y.J., YANG C.R., 1995. *Two new ursane glycosides from Prunella vulgaris in France*. Yunnan Zhiwu Yanjiu 17 (4): 468-472.
- ZULUETA A., ESTEVE M.J., FRASQUET I., FRIGOLA A., 2007. *Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain*. Food Chemistry 103 (4): 1365-1374.