

I Congresso Nazionale della Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali

SIROE



Co - organizzato da



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ'
Dipartimento di *Malattie Infettive Parassitarie*
ed *Immunomediate*
e Dipartimento di *Tecnologie e Salute*

ACCADEMIA DI STORIA DELL'ARTE SANITARIA (ASAS)

Roma, 15-17 novembre 2013
Aula Alessandrina ASAS - Lungotevere in Sassia, 3

Oli Essenziali, miscele complesse e concentrate di centinaia di sostanze chimiche differenti, che offrono agli scienziati numerosi spunti per studiarne le proprietà e l'applicazione in svariati campi: dagli aspetti più salutistici all'utilizzo in agricoltura e nella decontaminazione ambientale fino alla conservazione degli alimenti. La redazione di *Natural 1* è lieta di pubblicare su questo numero monografico **gli atti del 1° Congresso Nazionale della Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali**, una importante conferma del rapporto della rivista con le Società Scientifiche e il mondo della ricerca.

L'evento coinvolge numerosi ricercatori appartenenti all'**Istituto Superiore di Sanità**, a **25 Università Italiane**, ad alcuni **Dipartimenti del Consiglio Nazionale delle Ricerche** e del **Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura**, oltre a figure straniere di prestigio e professionisti del settore sanitario.

La panoramica offerta dalle oltre 50 relazioni è vasta: storia ed entomologia, scienza dell'alimentazione, decontaminazione ambientale, controllo delle malattie infettive, attività antiossidante e immunomodulante fino all'approccio in oncologia e all'eventuale uso in clinica umana e veterinaria, senza tralasciare le metodiche di preparazione farmaceutica e la medicina estetica. Una lettura che ci consente di entrare nei laboratori delle Università e degli Enti di ricerca, nello studio del medico e del veterinario, nel laboratorio del farmacista, nei campi di coltivazione sperimentali; ci mostra quanto le sostanze naturali sono, e possano essere utili all'umanità. E ci può fare riflettere sull'importanza di continuare ad approfondire questi studi, senza però tralasciare uno sguardo alle conoscenze e alle consapevolezza che ci arrivano dall'etnobotanica e dalle medicine tradizionali, le quali sempre più spesso trovano conferme proprio nella moderna ricerca scientifica.

COMITATO SCIENTIFICO

Bartolini Pietro Direttore del Dipartimento di Tecnologie e Salute (TESA), Istituto Superiore di Sanità, Roma
Bellardi Maria Grazia Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Campagna Paolo Presidente SIROE, Roma
Di Vito Maura Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate (MIPI), ISS - SIROE, Roma
Geraci Andrea Dipartimento del Farmaco, ISS, Roma
Iacovelli Gianni Presidente ASAS, Roma
Marco Michelozzi Istituto di Genetica Vegetale, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Firenze
Mondello Francesca Dipartimento MIPI, ISS, Roma
Molinari Agnese Dipartimento TESA, ISS, Roma
Pantosti Annalisa Dipartimento MIPI, ISS, Roma
Rezza Giovanni Direttore Dipartimento MIPI, ISS, Roma
Ricci Maria Luisa Dipartimento MIPI, ISS, Roma
Salvatore Giuseppe ASAS, Roma
Scaturini Antonio Università degli Studi di Roma Tor Vergata
Stringaro Annarita Dipartimento TESA, ISS, Roma

PROGRAMMA

Venerdì 15 novembre

- 13:30-14:30 **Registrazione dei partecipanti**
- 14:30-15:00 **Indirizzo di Benvenuto**
Fabrizio Oleari, Domenico Monteleone, Giovanni Rezza, Pietro Bartolini, Paolo Campagna, Gianni Iacovelli

I Sessione: Oli essenziali: dal passato all'attualità

- Moderatori:** Paolo Campagna, Gianni Iacovelli, Giuseppe Salvatore
- 15:00-15:20 **Gianni Iacovelli:** Aromi, profumi ed essenze nell'antichità e nel medioevo: qualità, produzione ed usi
 - 15:20-15:40 **Giuseppe Salvatore:** Oli essenziali: adulterazioni, sofisticazioni e regolamentazione degli usi
 - 15:40-16:00 **Marco Guidotti:** Requisiti di purezza degli oli essenziali: farmacopea e determinazione quali-quantitativa alla luce delle norme ISO

II Sessione: Preparazioni galeniche e magistrali con gli oli essenziali, fitocosmesi e medicina estetica

- Moderatori:** Stefania Benvenuti, Paolo Campagna
- 16:00-16:20 **Marcella Saponaro:** Le nuove frontiere dell'assunzione degli oli essenziali: le microdosi
 - 16:20-16:40 **Mara Ramploud:** Miscele di oli essenziali nell'anti-aging cutaneo
 - 16:40-17:00 *Coffee break*

III Sessione: Caratterizzazione fitochimica degli oli essenziali: estrazione, standardizzazione e profili di sicurezza

- Moderatori:** Stefania Benvenuti, Carlo Bicchi, Patrizia Rubiolo
- 17:00-17:20 **Edoardo M. Napoli:** Origano siciliano: chemotipi, caratteristiche organolettiche e potenziali attività biologiche
 - 17:20-17:40 **Carla Da Porto:** Confronto fra idro-distillazione tradizionale ed estrazione con fluidi supercritici per l'isolamento di composti aromatici da infiorescenze di canapa industriale
 - 17:40-18:00 **Anna Maria Bassi:** Approccio multidisciplinare ecosostenibile nello studio di oli essenziali: estrazione microonde mediata e valutazione *in vitro* del potenziale biologico
 - 18:00-18:20 **Stefania Benvenuti:** Caratterizzazione fitochimica della frazione volatile di propoli mediante tecnica HS-SPME-GC-MS
 - 18:20-18:40 **Sara Cannas:** Caratterizzazione fitochimica, attività citotossica e antibatterica *in vitro* di diversi oli essenziali
 - 18:40-18:55 *Comunicazione di* **Manuel Genesini:** Gli estrattori di oli essenziali nella ricerca scientifica

Sabato 16 novembre

IV Sessione: Aspetti agronomici e fitopatologici delle specie officinali da essenza

- Moderatori:** Maria Grazia Bellardi, Marco Michelozzi
- 8:20-8:40 **Nicola Sante Iacobellis:** L'uso degli oli essenziali nella lotta alle malattie batteriche delle piante
 - 8:40-9:00 **Marco Michelozzi:** Ruoli ecologici e applicazioni di oli essenziali in agricoltura e foreste
 - 9:00-9:20 **Anna De Carlo:** Oli essenziali prodotti da piante di *Myrtus communis* allevate *in vitro* mediante l'impiego dell'innovativo bioreattore plantform
 - 9:20-9:40 **Marcello Militello:** *Artemisia arborescens* L.: risorsa biocida endemica mediterranea
 - 9:40-10:00 **Pinarosa Avato:** Potenzialità di impiego di artemisinina come fitofarmaco
 - 10:00-10:20 **Sebastiano Delfine:** Effetto della tecnica colturale sulla resa di piante officinali: aspetti agronomici ed ecofisiologici

- 10:20-10:35 *Coffee break*

Lezione Magistrale

- 10:35-11:05: **Dominique Baudoux:** Chemotyped essential oils and immunity

V Sessione: Oli essenziali: attività antimicrobica, immunomodulante ed antinfiammatoria

- Moderatori:** Annalisa Pantosti, Vivian Tullio, Stefania Zanetti
- 11:05-11:25 **Letizia Angiolella:** Proprietà e limiti degli oli essenziali nell'attività antimicrobica
 - 11:25-11:45 **Joseph Cannillo:** Enhancing antibacterial action of *Origanum vulgare* essential oil through a cationic nanoemulsion
 - 11:45-12:05 **Fabrizio Gelmini:** Oleoresins and essential oils in the topical treatment of inflammatory diseases: a phytotherapeutic approach
 - 12:05-12:25 **Francesca Mondello:** Focus sull'olio essenziale di *Trachyspermum ammi* L.: un potenziale agente terapeutico nella lotta alle infezioni da *Staphylococcus aureus*.
 - 12:25-12:45 **Vivian Tullio:** Influenza degli oli essenziali sul sistema immunitario innato nell'eradicare i lieviti intracellulari: studio comparativo tra timo rosso, fluconazolo e caposungina
 - 12:45-13:05 **Fabio Firenzuoli:** Oli essenziali: nuove prospettive nel settore della salute e del benessere
 - 13:05-13:25 **Filomena Corbo:** Attività antimicrobica di alcuni oli essenziali in associazione con antibiotici antifungini. Ruolo determinante della componente fenolica e ter-

penolica

- 13:25-13:45 **Paola Mattarelli:** Composizione ed attività antibatterica dell'olio essenziale di *Monarda didyma* L.

13:45-14:35 *Lunch*

Lezione Magistrale

- 14:35-15:05 **Nashwa Sallam:** Efficacy of some essential oils on controlling green mold of orange and their effects on postharvest quality parameters.

VI Sessione: Studi preclinici e clinici nella fisiopatologia umana (infettivologia, PNEI, patologie cronico degenerative)

- Moderatori:** Antonio Scafuri, Leonardo Paoluzzi, Francesca Mondello
- 15:05-15:25 **Leonardo Paoluzzi:** Oli essenziali, PNEI e malattia cancerosa
 - 15:25-15:45 **Sara Vecchi:** Essential oils in the management of migraine: a proof of principle of an aromatherapeutic approach
 - 15:45-16:05 **Hedayat Bouzary:** Oli essenziali in chirurgia "azzardo o realtà"
 - 16:05-16:25 **Maura Di Vito:** Studio *in vitro* dell'attività microbica di ovuli a base di tea tree oil su *Candida* spp. e probiotici del microbiota vaginale
 - 16:25-16:45 **Paolo Campagna:** Oli essenziali in medicina generale: approccio razionale

- 16:45-17:05 *Coffee break*

- 17:05-17:20 **Giuseppe Marano:** Attività farmacologica degli oli essenziali sul sistema nervoso centrale
- 17:20-17:40 **Sebastiano Banni:** Componenti degli oli essenziali come dietetici nella prevenzione del danno cerebrale da ischemia e reperfusion

- 17:40-18:00 *Comunicazione di* **Anna Rita Bilia:** Prospettive di collaborazione con la Società Italiana di Fitochimica

- 20:30 **Cena Sociale**

I **Poster** saranno visionabili nelle giornate di sabato 16 e domenica 17 novembre presso i locali dell'ASAS.

La **visita guidata la museo ASAS** è prevista per venerdì 15 novembre alle ore 12:00.

Domenica 17 novembre

Lezione Magistrale

- 08:40-09:10 **Mercedes Verdeguer Sancho:** Herbicidal activity of essential oils

VII Sessione: Oli essenziali in oncologia: studi *in vitro* ed *in vivo*

- Moderatori:** Massimo Bonucci, Agnese Molinari, Annarita Stringaro
- 9:10-9:30 **Annarita Stringaro:** Effetti dell'olio essenziale estratto dalla *Mentha suaveolens* su cellule umane di adenocarcinoma mammario
 - 9:30-9:50 **Filippo Maggi:** Volatile oil and isofuranodiene from flowers of the forgotten vegetable alexanders (*Smyrniolum olusatrum* L., Apiaceae) trigger apoptosis in colon carcinoma cells
 - 9:50-10:10 **Agnese Molinari:** Effetto dell'olio essenziale di *Melaleuca alternifolia* sulla crescita e l'invasione delle cellule tumorali

VIII Sessione: Potenzialità applicative degli oli essenziali nella catena alimentare e medicina veterinaria

- Moderatori:** Lanfranco Conte, Antonello Paparella, Maurizio Scozzoli
- 10:10-10:30 **Antonello Paparella:** Valutazione preliminare di efficacia del tea tree oil per il controllo di *Listeria monocytogenes* negli alimenti
 - 10:30-10:50 **Francesca Pisseri:** Oli essenziali in dermatologia veterinaria, esperienze cliniche e di laboratorio in malattie correlate a *Malassezia* spp. e a dermatofiti
 - 10:50-11:10 **Trifone D'Abbadbo:** Attività biocida di oli essenziali di specie di *Eucalyptus* nei confronti del nematode galligeno *Meloidogyne incognita*

- 11:10-11:30 *Coffee break*

- 11:30-11:50 **Maurizio Scozzoli:** "Covata calcificata": azione inibente *in vitro* di oli essenziali e loro miscele nei confronti di *Ascosphaera apis*, potenziale utilizzo in apicoltura
- 11:50-12:10 **Gianfranco Romanazzi:** L'uso di oli essenziali per il controllo dei marciumi della frutta in postraccolta
- 12:10-12:30 **Elisabetta Casalino:** Attività antiossidante e antibatterica dell'olio essenziale di *Ocimum basilicum* in spigole nel corso di infezione da *Vibrio alginolyticus*

- 12:30-13:15 **PREMIO POSTER SIROE GIOVANI RICERCATORI**
Moderatori: Antonio Cassone, Maria Grazia Bellardi, Maura Di Vito, Hedayat Bouzari

- 13:15-13:30 Chiusura lavori

MISCELE DI OLI ESSENZIALI NELL'ANTI-AGING CUTANEO

Paola Angelini¹, Roberto Venanzoni¹, Mara Ramploud², Bruno Tirillini³, Gianluigi Bertuzzi⁴

¹Università degli Studi di Perugia, Dip. to di Biologia Applicata, Borgo XX giugno 74 - 06121 Perugia (PG) - paola.angelini@unipg.it

²ASL Milano - mara.ramploud@fastwebnet.it

³Università degli Studi di Urbino, Dip. to di Scienze Biomolecolari, via Bramante, 28 - 61029 Urbino (PU) - bruno.tirillini@uniurb.it

⁴Master Medicina Estetica. Dip.to di Medicina dei sistemi, Università di Roma "Tor Vergata", Via Montpellier, 1 - 00133 Roma (RM) - gianluigi.bertuzzi@tiscalinet.it

Il presente lavoro ha lo scopo di valutare clinicamente l'efficacia di un trattamento a base di oli essenziali. È stato valutato l'effetto del trattamento sulle caratteristiche fisiche della cute del volto e sono state considerate anche le condizioni di benessere psico-fisico nei soggetti studiati. Il trattamento consiste nell'applicazione di due diverse miscele di oli essenziali: Miscela A (da applicare sul viso una volta al giorno al mattino per 30 gg.): *Cupressus sempervirens*, *Ledum groenlandicum*, *Rosa damascena* (in olio di *Macadamia tetraphylla*) - Miscela B (da applicare sul viso una volta al giorno alla sera per 30 gg.): *Cananga odorata*, *Canarium luzonicum*, *Daucus carota* (in olio di *Borago officinalis*).

L'applicazione è preceduta da un peeling a base di acido glicolico per detergere la cute del viso tutte le sere prima di applicare la miscela di oli essenziali. Gli oli essenziali utilizzati sono noti per le loro proprietà antiossidanti e antistress (per diminuzione della risposta di stress attraverso un effetto inibitorio dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene) (Fukada *et al.*, 2007, Fukada *et al.*, 2012) e per l'assenza di side effects. La sperimentazione clinica, effettuata su un campione omogeneo di 10 soggetti di sesso femminile in età compresa tra 50 e 60 anni, è stata realizzata presso il Centro A.R.P.A. (Aging Research, Prevention and Therapy Association), www.anti-aging.it (Civita Castellana, VT, Italy) e presso gli ambulatori della ASL di Milano. Il test di autovalutazione cutanea è stato fatto per i seguenti parametri: levigatezza, elasticità, luminosità e idratazione, mentre l'azione antistress è stata valutata con il test MSP (Misura Integrata dello Stress) (Di Nuovo *et al.*, 2000); i due test sono stati effettuati prima del trattamento, a fine trattamento, 30 gg e 90 gg dopo la fine del trattamento. Tutti i soggetti trattati hanno evidenziato variazioni positive in tutte le verifiche effettuate in base al test di autovalutazione cutanea e si è genericamente registrato un globale miglioramento della condizione di stress percepito in tutti i soggetti già a fine trattamento, come evidenziato dal test MSP.

Di Nuovo S, Rispoli L, Genta E, "Misurare lo stress. Il test M.S.P. e altri strumenti per una valutazione integrata." Franco Angeli ed., Milano, **2000**, p. 176.
Fukada M, Kaidoh T, Ito A *et Al.*, "Green odor inhalation reduces the skin-barrier disruption induced by chronic restraint stress in rats: physiological and histological examinations." *Chem Senses*, **2007**, 32:633-9.
Fukada M, Kano E, Miyoshi M *et Al.*, "Effect of rose essential oil inhalation on stress-induced skin-barrier disruption in rats and humans." *Chem. Senses*, **2012**, 37:347-56.

PROPRIETÀ E LIMITI DEGLI OLI ESSENZIALI NELL'ATTIVITÀ ANTIMICROBICA

Letizia Angiolella¹

¹Sapienza Università di Roma. Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive. letizia.angiolella@uniroma1.it

Gli oli essenziali rappresentano uno dei più importanti gruppi di composti di origine naturale con elevato potere antimicrobico, attribuibile nella maggior parte dei casi all'alto contenuto di terpeni, e rappresentano un inestimabile patrimonio da cui attingere potenziali antimicrobici naturali da utilizzare in alternativa ai comuni farmaci di sintesi. Sono costituiti da miscele complesse di diverse sostanze organiche, presenti in concentrazioni molto variabili, e generalmente solo 2 o 3 componenti sono responsabili dell'azione biologica. Lo studio di queste molecole naturali ha acquisito un forte interesse a causa dell'aumento sempre più frequente di microrganismi farmaco-resistenti.

Al contrario, una caratteristica molto particolare degli oli essenziali riguarda proprio il fenomeno della resistenza che è molto limitato, in quanto, generalmente, se l'olio essenziale presenta una attività antimicrobica funziona in modo sostanzialmente stabile nei confronti di specie microbiche sia sensibili che resistenti ai diversi farmaci di sintesi, senza variazioni di attività e con livelli di attività molto simili, dimostrando che i meccanismi di resistenza ai farmaci non influenzano l'attività antimicrobica degli oli essenziali. D'altronde la loro attività antimicrobica si esplica essenzialmente mediante lo scompaginamento della parete cellulare, della membrana citoplasmatica e la denaturazione delle proteine citoplasmatiche presenti nei microrganismi. Queste attività molto spesso, sono svolte anche contemporaneamente, in sinergismo dalle diverse componenti di un olio. Tuttavia solo la conoscenza in maniera estesa e puntuale dell'esatto spettro d'azione e delle componenti chimiche dell'olio essenziale potrà offrire chiare informazioni in merito ai suoi possibili campi di applicazione. È bene tenere presente che i componenti dell'olio essenziale possono variare in funzione del clima, della composizione del suolo, dell'età della pianta, del periodo di raccolta e dai tempi di estrazione.

Gli oli essenziali sono generalmente molto sensibili al calore, alla luce, all'ossigeno e all'umidità e sono caratterizzati da una notevole rapidità di evaporazione. Un buon olio rimane abbastanza inalterato per anni, anche se in genere la maggior parte tende a perdere efficacia e aroma col tempo. Inoltre è necessario non superare mai le dosi consigliate perché, se usati in quantità eccessiva, possono presentare elementi di tossicità. Infine, un ulteriore limite che possiamo ritrovare nell'uso di alcuni oli essenziali è che spesso presentano attività inibente solo se impiegati in concentrazioni molto elevate. Ulteriori studi saranno necessari per riuscire a mettere a punto le caratteristiche chimiche e organolettiche per renderli più stabili e sicuri.

CARATTERIZZAZIONE DELL'OLIO ESSENZIALE DI LAVANDULA PINNATA L. f.

Maria Pia Argentieri¹, Barbara De Lucia², Pinarosa Avato¹

¹Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco. mariapia.argentieri@uniba.it; pinarosa.avato@uniba.it.

²Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Dipartimento di Scienze Agro-ambientali e Territoriali. barbara.delucia@uniba.it.

Nel presente lavoro vengono descritti i risultati ottenuti dall'analisi quali-quantitativa dell'olio essenziale (OE) estratto, mediante distillazione in corrente di vapore, dai fiori e dalle foglie di *Lavandula pinnata* L. f., un piccolo arbusto sempreverde endemico delle isole Canarie, occasionalmente coltivato a scopo ornamentale. Al meglio della nostra conoscenza, la chimica dell'OE di questa specie è stata poco studiata^{1,2}. Le analisi GC e GC-MS hanno indicato che i monoterpeni ossigenati sono i principali costituenti dell'OE dei fiori (72%) e delle foglie (90%) di questa lavanda; altri componenti, presenti in minore quantità, sono rappresentati da: monoterpeni idrocarburici (0.5% e 7%, rispettivamente nei fiori e nelle foglie), sesquiterpeni ossigenati (27% e 1%) e sesquiterpeni idrocarburici (0.5% e 1%). Nell'OE dei fiori, il carvacrolo è risultato il principale componente (68%), seguito da discrete quantità di cariofillene ossido (15%) e spatulenolo (12%). Il carvacrolo (85%) rappresenta in assoluto il costituente più abbondante dell'OE delle foglie, che contiene anche carvacrolo metiletere (3%). La prevalenza di carvacrolo nell'OE di *L. pinnata* distingue questa specie di lavanda da altre specie più comunemente conosciute come ad es. *L. angustifolia*, *L. latifolia* e *L. x intermedia* caratterizzate da elevate quantità di linalolo e linalil acetato. Il diverso profilo fitochimico sembra ben conciliarsi con la separazione tassonomica tra *L. pinnata*, subgenus *Fabricia*, sectio *Pterostoechas* Ging. e *L. angustifolia*, *L. latifolia* e *L. x intermedia*, subgenus *Lavandula*, sectio *Lavandula*. A tal proposito, è inoltre rilevante osservare che il carvacrolo è riportato¹ come il componente più abbondante anche dell'OE di *L. multifida* L. (subgenus *Fabricia*, sectio *Pterostoechas* Ging.), specie tassonomicamente affine a *L. pinnata* e considerata la specie d'origine delle lavande endemiche delle isole Canarie. È noto che il carvacrolo è il componente predominante di numerose piante aromatiche e che possiede interessanti attività biologiche³. Studi recenti hanno indicato che la molecola ha proprietà neuromodulatorie dopaminergiche e serotonergiche e che a piccole dosi può determinare sensazioni di benessere⁴. *L. pinnata* rappresenta quindi una nuova risorsa di una molecola naturale, il carvacrolo, con importanti potenzialità farmacologiche.

¹Lis-Balchin M., "Chemical composition of essential oils from different species,

hybrids and cultivars of *Lavandula*" In: Lavender-The genus *Lavandula*, Lis-Balchin M, ed., **2002**.

²Figueiredo CA., Barroso JG., Pedro LG. *et Al.*, "Composition of the essential oil of *Lavandula pinnata* L. fil. var *pinnata* grown on Madeira." *Flavour Frag J*, **1995**, 10: 93-96.

³Baser KHC, "Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils" *Curr Pharm Des*, **2008**: 14, 3106

⁴Zotti M., Colaianna M., Morgese MG., *et Al.*, "Carvacrol: from ancient flavoring to neuromodulatory agent" *Molecules*, **2013**: 18, 6161-6172.

POTENZIALITÀ DI IMPIEGO DI ARTEMISININA COME FITOFARMACO

Pinarosa Avato¹, Trifone D'Addabbo², Maria Pia Argentieri¹, Paola Leonetti², Luciano Villanova³

¹Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università, Bari, pinarosa.avato@uniba.it, mariapia.argentieri@uniba.it

²Istituto per la Protezione delle Piante, CNR, Bari, t.daddabbo@ba.ipp.cnr.it; p.leonetti@ba.ipp.cnr.it

³LACHIFARMA s.r.l., SS 16-Zona industriale, Zollino, Lecce, research&development@lachifarma.com

Artemisia annua L. (*Asteraceae*, *Asteroideae*, *Anthemideae*) è la specie di artemisia maggiormente studiata in virtù delle sue peculiari proprietà antimalariche (Carbonara *et al.*, 2012). Indagini fitochimiche dettagliate hanno portato all'isolamento di numerosi terpeni, unici per la specie, fra cui, artemisinina, un insolito lattone sesquiterpenico caratterizzato da un distintivo ponte perossidico essenziale per la bioattività della molecola. Artemisinina è biosintetizzata nei tipici tricomi ghiandolari delle parti aeree della pianta, deputati alla produzione di essenze, ed è stato dimostrato che il suo accumulo segue parallelamente lo sviluppo fisiologico delle ghiandole secrete (Ferreira e Janick, 1995).

Studi recenti hanno indicato che artemisinina, oltre a essere un farmaco antimalarico, possiede anche proprietà antiparassitarie contro parassiti del genere *Schistosoma* ed è stata inoltre proposta come agente di controllo di parassiti gastrointestinali di ruminanti.

In questo lavoro vengono presentati i risultati ottenuti dallo studio dell'attività nematocida *in vitro* di artemisinina contro fitoparassiti del terreno quali *Meloidogyne incognita*, *Globodera rostochiensis* e *Xiphinema index*, riconosciuti tra i nematodi più dannosi in agricoltura.

Il sesquiterpene artemisinina si è dimostrato altamente tossico contro il fitoparassita *G. rostochiensis* (50% di mortalità dopo 24 ore di incubazione alla concentrazione di 50 µg mL⁻¹). Un debole effetto nematotossico si è invece riscontrato contro *M. incognita* (8%) e *X. index* (22%), anche dopo 24 ore di incubazione (D'Addabbo *et al.*, 2013).

ALCHIMIA SOAP S.r.l.

Via Mantova, 5
21057 OLGiate OLONA (VA)
Tel. 0331.63.15.82 - Fax 0331.67.45.74

Website: www.alchimiasoap.it
E-mail: soap@alchimiasoap.it



- Produzione saponette vegetali personalizzate per erboristerie, profumerie, farmacie.
- Saponette da Hotel.
- Lavorazione c/o terzi.

I risultati ottenuti suggeriscono che il principio attivo da *A. annua* ha ottime potenzialità come fitofarmaco con una azione specie-specifica verso alcuni tipi di nematodi fitoparassiti, probabilmente in funzione delle loro diverse caratteristiche anatomiche. Saggi in parallelo con il derivato semisintetico artesunato, dotato di una migliore biodisponibilità e solubilità in acqua rispetto ad artemisinina, hanno inoltre permesso delle ipotesi sul rapporto struttura-attività.

Carbonara T, Pascale R, Argentieri MP *et Al.*, "Phytochemical analysis of a herbal tea from *Artemisia annua* L." *JPBA*, **2012**, 62:79-86.
D'Addabbo T, Carbonara T, Argentieri MP *et Al.*, "Nematicidal potential of *Artemisia annua* and its main metabolites." *EJPP*, **2013**, DOI 10.1007/s10658-013-0240-5
Ferreira JFS, Janick J, "Floral morphology of *Artemisia annua* with special reference to trichomes." *Int. J. Plant Sci.*, **1995**, 156:807-815.

COMPONENTI DEGLI OLI ESSENZIALI COME DIETETICI NELLA PREVENZIONE DEL DANNO CEREBRALE DA ISCHEMIA E RIPERFUSIONE

Sebastiano Banni, Gianfranca Carta, Elisabetta Murru, Sara Lisai, Annarita Sirigu, Maria Collu, Tiziana Melis, Maria P. Serra, Laura Poddighe, Marianna Boi, Marina Del Fiacco, Marina Quartu

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Cagliari, Cittadella Universitaria, 09042 Monserrato, Cagliari

L'insulto da ischemia e riperfusione cerebrale, anche nelle forme lievi, induce una risposta fisiologica finalizzata a riparare il danno a livello cellulare, tissutale e d'organo. In un precedente studio sull'uomo abbiamo riscontrato che la risoluzione fisiologica del danno dipende dal grado e dalla durata dell'evento ischemico. Un ruolo chiave nella risposta fisiologica all'ipoperfusione/riperfusione è giocato dall'azione del sistema endocannabinoide che in concerto con l'attività del recettore nucleare PPARalfa permette di limitare i danni ossidativo e infiammatorio. L'uso di molecole presenti negli oli essenziali è spesso motivato dalle loro proprietà antiossidanti, trascurando una loro attività intrinseca nell'indurre la produzione di molecole come i congeneri degli endocannabinoidi quali palmitoiletanolamide (PEA) e oleoiletanolamide (OEA), che svolgono attività antinfiammatoria, analgesica e di controllo delle funzioni cerebrali.

Per valutare l'attività di diverse molecole presenti negli oli essenziali, abbiamo utilizzato ratti adulti Wistar per riprodurre il modello sperimentale di occlusione transitoria bilaterale dell'arteria carotide comune per 30 minuti, seguito dal sacrificio dopo un'ora di riperfusione. Basandoci su nostre osservazioni precedenti, le molecole sono state somministrate per gavage 6 ore prima dell'occlusione vasale.

I risultati finora ottenuti mostrano che l'attività biologica delle molecole in esame, somministrate singolarmente o in combinazione con altri componenti degli oli essenziali, sembra slegata dalla loro capacità antiossidante ma piuttosto si esercita modulando la biosintesi di endocannabinoidi e congeneri. La possibile traslazione dei dati sperimentali all'uomo va quindi attentamente valutata tenendo conto dell'apporto alimentare di altri composti che

potrebbero modulare l'azione biologica delle molecole componenti degli oli essenziali. Inoltre, gli acidi grassi introdotti con la dieta, modificando la composizione degli acidi grassi dei fosfolipidi, possono modulare la risposta fisiologica al danno da ipoperfusione/riperfusione, in quanto OEA, PEA e altri mediatori derivano dagli acidi grassi dei fosfolipidi. Per quanto preliminari, i dati ottenuti permettono di prospettare l'impiego di tali sostanze nella prevenzione primaria e secondaria del danno ischemico e nelle condizioni cliniche, come l'asporto chirurgico della placca carotidea, che prevedono una parziale e transiente ipoperfusione cerebrale.

APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE ECOSOSTENIBILE NELLO STUDIO DI OLI ESSENZIALI: ESTRAZIONE MICROONDE MEDIATA E VALUTAZIONE *IN VITRO* DEL POTENZIALE BIOLOGICO

Anna Maria Bassi¹, Jenia Danailova¹, Chiara Scanarotti¹, Stefania Vernazza¹, Carla Villa²

Dipartimenti Medicina Sperimentale ¹ e Farmacia², Università di Genova ¹anna.maria.bassi@unige.it; ²carlavilla@unige.it.

In ambito erboristico, farmaceutico, alimentare e cosmetico, si rende sempre più necessaria una efficace valutazione del "potenziale" di numerose specie botaniche di interesse, soprattutto dei loro oli essenziali. Scopo della nostra ricerca è allestire una metodologia di studio multidisciplinare che fornisca validi strumenti innovativi per uno *screen* completo delle essenze, dall'estrazione fino a studi di citotossicità e funzionalità *in vitro*.

La tecnologia microonde rappresenta una valida fonte energetica alternativa per estrazioni ecosostenibili di oli di alta qualità. La SFME (*solvent free microwave etraction*) e la MHG (*microwave hydrodiffusion and gravity*), sono due recenti tecniche che permettono in modo rapidissimo ed *ecofriendly* l'estrazione senza solventi o acqua (tranne l'acqua di vegetazione) anche con minime quantità di materiale vegetale fresco (1-3). L'olio essenziale così ottenuto può essere direttamente recuperato e sottoposto ad analisi qualitative.

Gli effetti biologici degli oli essenziali più promettenti vengono verificati *in vitro* su colture di cellule umane (es. cheratinociti e endotelociti) valutandone gli indici di tossicità basale (vitalità e proliferazione), secondo le linee guida del "European Centre for the Validation of Alternative Methods" (ECVAM, 4), e del potenziale pro/antiossidante (5-8). Successivamente, vengono analizzati specifici biomarcatori per poterne proporre l'impiego in campo farmaceutico, cosmetico o alimentare. I dati riportati evidenziano l'efficacia di tale approccio multidisciplinare.

- Lucchesi ME, Chemat F, Smadja J. "Solvent-free microwave extraction : an innovative tool for rapid extraction of essential oil from aromatic herbs and spices". *J Microw Power Electromagn Energy*. **2004**,3:135-9.
- Lucchesi ME, Chemat F, Smadja J. "Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation". *J Chromatogr A*. **2004**, 1043:323-7.
- Asfaw N, Licence P, Novitskii AA *et Al.* «Green Chemistry in Ethiopia: the cleaner extraction of essential oils from *Artemisia afra*: a comparison of clean technology with conventional methodology". *Green Chem*, **2005**,7,352-6.
- http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam
- The FRAME modified neutral red uptake cytotoxicity test - INVITTOX protocol

- n° 3.
6. MTT Assay - INVITTOX protocol n° 17.
7. Rengarajan K *et Al.* "Quantifying DNA concentrations using fluorometry ". *Mol Vis*. **2002**, 8:416.
8. Ishizaka Y, Yamakado M, Toda A *et Al.* "Relationship between coffee consumption, oxidant status, and antioxidant potential in the Japanese general population". *Clin Chem Lab Med*. **2013**, 11:1-9.

HUILES ESSENTIELLES CHÉMOTYPÉES ET IMMUNITÉ

Dominique Baudoux

Collège International d'Aromathérapie. Belgique.
dbaudoux@pranarom.com

La médecine officielle et l'industrie pharmaceutique ont imaginé un moment que la vaccination protégerait des plus grands fléaux infectieux. Aujourd'hui, force est de constater qu'une hyper-vaccination précoce et sans mesure a ouvert la porte à des effets secondaires de plus en plus flagrants et interpellants, sans compter une certaine inactivité sur certains virus existants ou à venir. Quelle est donc la part de cette rage vaccinatoire dans les pathologies auto-immunes, les allergies, les maladies métaux lourds, les déficiences immunitaires? La question reste ouverte mais avant que la réponse ne vienne un jour, gardons à l'esprit que les huiles essentielles offrent une infinité d'actions sur le tissu immunitaire afin de préserver les défenses naturelles de l'organisme, de gérer les états inflammatoires et de faire face aux nouveaux défis infectieux annoncés par l'OMS. Même si nous ne détenons pas la seule et unique vérité, l'offre aromatique surprend par son efficacité maintes fois prouvée ainsi que par le nombre impressionnant d'huiles essentielles actives dans ce registre tant en prévention qu'en curatif. Ainsi, les phénols et aldéhydes aromatiques (Origan compact, Cannelle de Chine), les alcools et oxydes terpéniques (palmarosa, tea tree, ravintsara, niaouli) et d'autres encore offrent enfin des moyens d'actions avérés, autant dire une réelle invitation à se plonger dans cette alternative des plus performantes et tellement séduisante que les patients ne s'y sont pas trompés. C'est qu'ils en redemandent!!! Voici quelques protocoles de soins en infectiologie et leurs huiles essentielles respectives.

CARATTERIZZAZIONE FITOCHIMICA DELLA FRAZIONE VOLATILE DI PROPOLI MEDIANTE TECNICA HS-SPME-GC-MS

Stefania Benvenuti¹, Federica Pellati¹, Francesco Pio Prencipe¹, Ivano Fabretto²

¹Dipartimento di Scienze Della Vita, Università degli studi di Modena e Reggio Emilia. stefania.benvenuti@unimore.it

²Kontak, Pozzo d'Adda (MI). info@kontak.it

Dato il crescente interesse per i prodotti naturali, è importante riuscire a caratterizzarli per definirne nuove applicazioni per la salute, l'agricoltura e l'ambiente. Alcuni di essi, infatti, costituiscono

alternative efficaci o complementari a composti sintetici dell'industria chimica, senza mostrarne gli effetti secondari. Fra questi prodotti di origine naturale è da ricordare la propoli, sostanza resinosa raccolta, trasformata e utilizzata dalle api (*Apis mellifera* L.) per sigillare i fori degli alveari, levigare le pareti interne e ripararsi dagli agenti esterni [1]. Le api raccolgono queste resine da foglie, germogli e corteccia di alcune piante, quali pioppo (*Populus* sp.), betulla (*Betula* sp.), quercia (*Quercus* sp.), ippocastano (*Aesculus hippocastanum*), ontano (*Alnus* sp.) e conifere varie [2]. Questa resina viene poi masticata, arricchita di enzimi salivari, parzialmente digerita e successivamente miscelata a cera d'api per essere usata nell'alveare [1]. Per la propoli sono descritte numerose proprietà biologiche quali quella antibatterica, antimicotica, antivirale, antiossidante, antinfiammatoria, antiproliferativa, immunostimolante [3].

A dispetto di eventuali differenze di composizione dovute alle diverse fonti vegetali, la maggior parte dei campioni di propoli possiede una notevole somiglianza nella natura chimica complessiva. Essa è costituita da: 50% di resina (composta da polifenoli), 30% di cera, 10% di oli essenziali, 5% di polline, 5% di altri composti organici [1].

I composti di interesse farmacologico si trovano nella frazione volatile e nella frazione polifenolica, le quali includono principalmente terpenoidi, steroidi, flavonoidi e acidi fenolici.

Scopo del presente lavoro è la caratterizzazione quali- e quantitativa dei componenti della frazione volatile della propoli: a tal fine sono state ottimizzate le condizioni di isolamento mediante tecnica SPME in spazio di testa (Head Space Solid Phase Micro Extraction) e quelle di analisi quali- e quantitativa con tecnica GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) e GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry). In questo modo è stato possibile un confronto tra i campioni di propoli di origine diversa, sia di tipo qualitativo che semi-quantitativo.

[1] Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D *et Al.*, "Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees.", *J Pharm Biomed Anal.*, **2006**, 41:1220–1234.

[2] Salatino A, Fernandes-Silva CC, Righi AA, *et Al.*, "Propolis research and the chemistry of plant products", *Nat Prod Rep.*, **2011**, 28: 925–936.

[3] Sforcin J M, Bankova V., "Propolis: is there a potential for the development of new drugs?", *J Ethnopharmacol.* , **2011**, 133:253–260.

OLI ESSENZIALI IN CHIRURGIA: AZZARDO O REALTÀ

Hedayat Bouzari

Medico chirurgo Struttura Complessa Chirurgia Generale e Oncologica Azienda Ospedaliera Ordine Mauriziano Torino
e-mail: hedayatbouzari2000@yahoo.it

La storia recente dell'aromaterapia non ha bisogno di essere ricordata, ma il suo utilizzo nel campo clinico e sperimentale ha avuto grande impulso negli ultimi decenni, specialmente con il riscontro clinico e microbiologico di resistenze alla chemio-

antibioticoterapia. Le dimensioni del problema di batteri resistenti agli antibiotici sono ben delineate dalla frase iniziale di un recente articolo pubblicato sulla prestigiosa rivista scientifica *New Eng. J.Med.*: “In its recent annual report on global risks, the World Economic forum (WEF) concluded that *the greatest risk to human health comes in the form of antibiotic-resistant bacteria. We live in a bacterial world*”. L'utilizzo degli oli essenziali nel campo chirurgico è materia di assoluta novità e la ricerca sistematica degli studi clinici randomizzati finora riportati nella letteratura purtroppo non è in grado di dare una risposta chiara e conclusiva circa l'efficacia di tale metodica. Vengono riportati recenti studi clinici randomizzati nei vari campi di chirurgia: dal controllo del dolore anale e sanguinamento nei pazienti affetti da emorroidi procidenti, al controllo dell'ansia nei pazienti in attesa di intervento chirurgico; dal contenimento del dolore post-partum in donne sottoposte a episiotomia, al controllo della nausea e vomito nel post-operatorio. Per quanto concerne poi l'utilizzo di oli essenziali in un contesto chirurgico, accanto a numerosi ed eccellenti studi preclinici di indubbio valore scientifico e rigore metodologico, si assiste a una scarsa produzione numerica di studi clinici randomizzati che comunque peccano sia dal punto di vista metodologico che numerico. Forse uno dei motivi rientra nella scarsa “traslazonalità” tra la ricerca scientifica di base o laboratorio e quella clinica: “translational research from bench to bedside”. Occorre un maggior numero di studi clinici randomizzati ben progettati e condotti, tali da dissipare le ombre e le incertezze che incombono sull'utilizzo clinico degli oli essenziali, conferendo a essi la reale e scientifica posizione che meritano.

Brad Spellberg, The Future of antibiotics and resistance. *The New England Journal of Medicine*, 2013 January, 368:299-302.
Joksimovic N, Efficacy and tolerability of hyaluronic acid, tea tree oil and methyl-sulfonyl-methane in a new gel medical device for treatment of haemorrhoids in a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Update Surg.*, 2012 Sep. 64(3):195-201
Lua PL, A brief review of current scientific evidence involving aromatherapy use for nausea and vomiting.” *J. Altern. Complement. Med.* 2012 Jun;18(6):534-540.
Steven H. Woolf, The meaning of translational research and why it matters. *JAMA* 2008; 299(2):211-213.

CONTRIBUTO DEGLI STUDI BIOFISICI E ULTRAISTRUTTURALI NELLA RICERCA SUGLI OLI ESSENZIALI: STUDIO SUL MECCANISMO DI AZIONE DEL TTO

Giuseppina Bozzuto^{1,2}, Marisa Colone¹, Laura Toccaceli¹, Marco Diociaiuti¹, Annarita Stringaro¹, Agnese Molinari¹

¹Dipartimento di Tecnologie e salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma
²Istituto di Metodologie Chimiche, CNR, Roma
giuseppina.bozzuto@iss.it

La resistenza dei tumori ai chemioterapici è un fenomeno

complesso e multifattoriale che coinvolge diversi meccanismi intracellulari. Uno degli obiettivi della ricerca oncologica è l'individuazione di nuove strategie terapeutiche combinate che presentino massima efficacia ed effetti collaterali limitati o nulli. Nell'ambito di tale ricerca è stata valutata la possibile attività citotossica e/o chemiosensibilizzante dell'olio essenziale estratto dalla *Melaleuca alternifolia*, tea tree oil (TTO) nei confronti degli agenti antitumorali. Studi biofisici e ultrastrutturali hanno permesso di delucidare il meccanismo di azione mediante il quale il TTO supera la resistenza P-gp-mediata delle cellule di melanoma umano resistenti ai chemioterapici. Tale effetto viene mediato dall'interazione del TTO con la membrana plasmatica delle cellule di melanoma, come dimostrato dagli studi biofisici condotti su modelli di membrana (film di Langmuir Blodgett) e da studi ultrastrutturali condotti mediante la tecnica del freeze-fracturing (Figura 1). È stato inoltre valutato, mediante un'analisi morfometrica quantitativa, l'effetto del TTO e del suo componente attivo (terpinen-4-olo) anche sul potenziale migratorio e invasivo delle cellule di melanoma. I risultati ottenuti hanno dimostrato che sia il TTO sia il terpinen-4-olo sono in grado di ridurre la capacità migratoria e invasiva delle cellule di melanoma umano e in modo più efficiente nelle cellule della linea farmacoresistente. Le indagini svolte attraverso microscopia elettronica a scansione hanno confermato l'effetto indotto dal TTO sulle membrane cellulari. Infatti, in seguito al trattamento con l'olio essenziale, si osservano dei veri e propri fori a carico della superficie delle cellule tumorali localizzate sul piano superiore del filtro e alterazioni a carico del fronte di avanzamento nelle cellule migrate sul lato inferiore del filtro. L'attività citotossica, chemiosensibilizzante e inibitoria dei meccanismi di invasione delle cellule tumorali esplicita dal TTO appare quindi mediata da un'interazione preferenziale con lo strato fosfolipidico delle membrane cellulari.

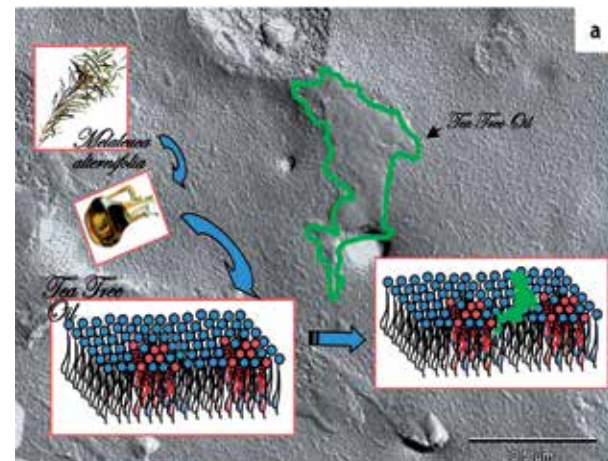


Fig. 1 Meccanismo di azione del TTO.

OLI ESSENZIALI IN MEDICINA GENERALE: APPROCCIO TERAPEUTICO

Paolo Campagna

Presidente SIROE,
Docente del Corso di Alta Formazione in Fitoterapia presso Univ. della Tuscia,
Viterbo
fitopaolo@tiscali.it

Le basi razionali di un completo sviluppo clinico degli oli essenziali trova oggi riscontro nell'aromaterapia francese (denominata appunto clinica), che considera la somministrazione degli oli essenziali anche oltre l'utilizzo topico, sotto la scrupolosa supervisione di medici esperti. Lo straordinario potere di penetrazione e diffusibilità degli oli essenziali ha comunque da tempo consolidato l'applicazione esterna che assume un suo distinto significato, permettendo tra l'altro di trarre benefici non irrilevanti per la contemporanea azione antimicrobica e antiflogistica.

L'uso degli oli essenziali in medicina generale trova oggi un razionale impiego in tante situazioni cliniche e in particolare nelle dermatopatie di varia eziologia, anche impetiginizzate (determinati oli essenziali a chemotipo alcool); in affezioni delle vie respiratorie batteriche e virali (con attività di modificazione delle secrezioni e azione antiflogistica, antisettico-balsamica e antispasmodica), nelle malattie dell'apparato gastro-intestinale (dal meteorismo al colon irritabile fino alle infezioni intestinali), nelle patologie batteriche urinarie, in genere anche in altre malattie infettive microbiche e/o micotiche, e inoltre nelle reumatoartropatie, tramite applicazioni topiche dirette o transdermiche.

L'aromaterapia trova poi spunto anche in patologie neurologiche (crisi d'ansia, insonnia) e in ambito ginecologico (vaginosi e vaginiti). L'utilizzo di questi preziosi distillati può essere altresì proposto a integrazione della terapia medica convenzionale, secondo criteri di sinergia farmacologica ed efficacia, stante che alcuni di essi possono essere usati come rimedi topici per la decolonizzazione di MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (Caelli *et al.*, 2000), come gli oli essenziali puri e tipizzati di *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Corydorthymus capitatus*, *Origanum vulgare*, *Cinnamomum zeylanicum*. In certi casi mi avvalgo invece di preparazioni orali come capsule molli oleose o opercoli di gelatina, con il vantaggio di moderarne la lesività gastrica e favorirne l'assorbimento.

Tutto ciò purchè si tenga conto di parametri quali l'aromatogramma, MIC (e MCB) in fase di primo approccio laboratoristico, non trascurando eventuale ipersensibilità cutanea e generale del paziente verso un olio essenziale, oltre che il loro basso indice terapeutico e la loro potenziale tossicità epato-renale e neurologica, specialmente quando ricchi in chetoni, aldeidi, esteri. Posologia e durata dei cicli terapeutici, controllo di esami ematochimici, esperienza e conoscenza del paziente, rappresentano poi i capisaldi

del protocollo “aromatologico”, in attesa di più precisi dati di farmacocinetica e farmacodinamica per una più sicura gestione clinica.



Origanum vulgare

CARATTERIZZAZIONE CHIMICA, ATTIVITÀ CITOTOSSICA E ANTIBATTERICA IN VITRO DI DIVERSI OLI ESSENZIALI

Sara Cannas¹, Donatella Usai¹, Paola Molicotti¹, Federica Pellati², Roberta Tardugno², Stefania Benvenuti², Stefania Zanetti¹

¹Università degli studi di Sassari, Dipartimento di Scienze Biomediche, zanettis@uniss.it

²Dipartimento di Scienze Della Vita, Università degli studi di Modena e Reggio Emilia, stefania.benvenuti@unimore.it

In questo studio è stata valutata l'azione citotossica di 36 oli essenziali appartenenti a diverse specie vegetali nei confronti di tre linee cellulari, quali Caco₂ cellule tumorali umane del colon, WKD cellule umane della congiuntiva e J774 macrofagi di origine murina.

L'attività citotossica è stata evidenziata utilizzando il saggio con MTT (Sigma), esponendo le cellule a diluizioni v/v dei diversi oli da 16% a 0.125%. Dal pool iniziale, sono stati selezionati 7 oli essenziali che presentavano la minore citotossicità per valutare l'attività antimicrobica. Gli oli in esame erano: *Salvia sclarea*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus hyemalis* e 4 oli di *Thymus vulgaris*.

Sono stati saggiati 2 ceppi di *S. aureus*, 3 di *E. coli*, 2 di *P. aeruginosa* e 3 specie di *Candida*.

L'olio essenziale di *Salvia sclarea* ha mostrato scarsa attività su tutti i ceppi testati, mentre l'olio essenziale di *Melaleuca alternifolia* si è rivelato efficace su *E. coli*, *P. aeruginosa* e 2 ceppi di *Candida* su 3. L'olio essenziale di *Thymus hyemalis* ha dato discreti risultati soprattutto su *Candida* e i restanti 4 oli essenziali di *Thymus vulgaris* hanno mostrato buona attività su

E. coli e *Candida*.

Ciascun olio essenziale è stato sottoposto ad analisi qualitativa e semi-quantitativa, mediante tecniche GC-MS e GC-FID, rispettivamente. La caratterizzazione qualitativa combinata all'analisi semi-quantitativa, ha permesso di disegnare il profilo caratteristico dei 36 oli essenziali oggetto di questo studio e di valutare la correlazione fra attività antibatterica e componenti presenti.

Erriu M, Pili FM, Pigliacampo D *et Al*. "Oil essential Mouthwashes antibacterial activity against aggregatibacter actinomycetemcomitans: a comparison between antibiofilm and antiplanktonic effects". *Int.J.Dent.*, Volume 2013, Article ID 164267, 5 pages.
Zanettis S, Cannas S, Molicotti P, *et Al*. "Evaluation of the antimicrobial properties of the essential oil of *Myrtus communis* again clinical strains of *Mycobacterium* spp." *Interdiscip. Perspect Infect Dis.*, Volume 2010, Article ID 931530, 3 pages
Cannas S, Molicotti P, Ruggeri M, *et Al*. Antimycotic activity of *Myrtus communis* L. towards *Candida* spp. from clinical isolates. *J Infect Dev Ctries.* 2013 Mar 14;7(3):295-8

ENHANCING ANTIBACTERIAL ACTION OF *ORIGANUM VULGARE* ESSENTIAL OIL THROUGH A CATIONIC NANOEMULSION

Cannillo G, Salerno A

Forza Vitale Italia Research Lab, Via Castel del Monte 194, Corato(BA) 70033 Italy

Current methods of sanitation of food facilities have some well-known drawbacks, such as toxicity of cleaning agents residues, or promotion of resistance to these agents in enteric pathogens. Therefore, there is a strong requirement to develop alternative sanitation and disinfection methods. A particularly challenging problem in many environments, including food processing areas, is the presence of biofilms. These accumulations of inorganic and organic materials and bacteria can develop on most types of surfaces. Both pathogenic and non-pathogenic microorganisms can be incorporated into biofilms during their progressive formation. Although biofilms can become strongly attached to surfaces, parts of the biofilm can occasionally slough off to contaminate other surfaces as well as food products, when in a food processing environment. Biofilms that contain *Listeria*, *Pseudomonas*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* or *Salmonella* have been observed in food processing environments. Biofilms are highly prevalent and difficult to remove and bacteria in them have enhanced resistance to antimicrobial agents and sanitizers. During recent years, plant essential oils have come more into the focus of phytomedicine, especially, for their antimicrobial and antioxidant activities. The essential oil from the common herb *Origanum vulgare* may be an effective treatment against dangerous, and sometimes drug-resistant bacteria. Our research was centred on creating nanoemulsions that were able to enhance the antimicrobial activity of *O. vulgare* essential oil against pathogenic bacteria.

Nanoemulsions are a vehicle for the delivery of an antimicrobial agent. The physical structure of the nanoemulsion contains surfactants and solvents that have antimicrobial activity. The surfactant activity specifically disrupts pathogenic microorganisms through fusion with the membrane of the microbe, leading to the rapid lysis of the targeted organism. This mechanism of action has been documented in preliminary studies examining the *in vitro* (antiviral), bactericidal and sporicidal effects of these compounds. All compounds used are classified as GRAS (Generally Recognized As Safe) by the FDA and are all compounds used in the food industry.

Methods: Cationic Nanoemulsions were prepared by making stock solutions of 100 mg/mL of *Origanum vulgare* essential oil. Samples of this solution were utilized as samples for serial dilutions.

A macro-broth-dilution technique was used to determine the susceptibility of the bacteria to the essential oil of *Origanum vulgare*. The MBC (Minimum Bactericidal Concentration) was determined by subculturing a 0.01-mL volume of the medium drawn from the culture tubes after 48 h on Mueller Hinton Agar and incubated further for bacterial growth.

Conclusion: Our research has confirmed that our Cationic Nanoemulsion of *O. vulgare* has a MBC of 7 ppm and a surface biofilm bactericidal activity time of 5 minutes (table 1).

MBC for Ampicillin	40 ppm	*Toxic
MBC for Phenol	1000 ppm	*Toxic
MBC for Monolaurin	700 ppm	
MBC for Sodium hypochlorite	50 ppm	*Toxic
MBC for Quaternary ammonium compounds	100 ppm	*Toxic
MBC for Cationic <i>Origanum Nanoemulsion</i>	7 ppm	NON TOXIC

Table 1

EFFETTI DELL'OLIO ESSENZIALE ESTRATTO DA *MENTHA SUAVEOLENS* SU CELLULE UMANE DI ADENOCARCINOMA MAMMARIO

Marisa Colone¹, Elisabetta Vavala², Giuseppina Bozzuto¹,
Letizia Angiolella² e Annarita Stringaro¹

¹Istituto Superiore di Sanità, Roma, Dipartimento di Tecnologie e Salute. marisa.colone@iss.it; giuseppina.bozzuto@iss.it; annarita.stringaro@iss.it
²Sapienza, Università di Roma, Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica e Malattie Infettive "G. Sanarelli". elisabetta.vavala@uniroma1.it; letizia.angiolella@uniroma1.it

L'impiego dei prodotti naturali, quale potenziale approccio terapeutico alternativo per il trattamento di alcune patologie cronico-infettive e per lo sviluppo di terapie innovative in oncologia è una delle più recenti priorità della ricerca biomedica internazionale. Questa nuova prospettiva è sorta sotto la spinta pressante di notevoli problemi correlati all'insorgenza della farmacoresistenza sia nella terapia antitumorale che antimicrobica. I due fenomeni in alcuni casi condividono meccanismi biologici e farmacologici filogeneticamente

conservati. In questo contesto si ritiene possa essere utile un'attività di ricerca mirata alla comprensione del meccanismo di azione e alla valutazione dell'efficacia farmacologica di alcune sostanze naturali di origine vegetale e animale su modelli sperimentali *in vitro* (eucarioti inferiori, cellule tumorali) e su modelli tumorali *in vivo*. Le sostanze naturali di origine vegetale di cui attualmente stiamo valutando l'attività provengono da: *Mentha suaveolens* (1), *Melaleuca alternifolia* (2) e *Peschiera fuchsiaefolia*. Inoltre, stiamo anche valutando l'attività di una sostanza naturale di origine animale: la monoaminossidasi da siero bovino.

L'analisi chimica dell'olio essenziale di *M. suaveolens* (EOMS) (Fig. 1) è stata effettuata mediante gascromatografia e spettrometria di massa e da tale analisi è risultata una prevalenza di piperitone ossido (PEO) maggiore del 90%. Gli studi preliminari di tossicità dell'olio essenziale di *M. suaveolens* sono stati condotti su una linea tumorale umana di adenocarcinoma mammario (SKBR3).

In particolare, la vitalità cellulare è stata valutata *in vitro* utilizzando il test MTT. Inoltre, allo scopo di studiare il meccanismo d'azione dell'EOMS sono state eseguite osservazioni al microscopio elettronico a scansione (SEM) che hanno evidenziato la presenza di significative alterazioni ultrastrutturali indotte dai diversi trattamenti con l'olio essenziale di *M. suaveolens* (Fig. 2).

Questi risultati incoraggianti suggeriscono di approfondire lo studio sull'effetto chemiosensibilizzante che l'EOMS potrebbe avere in combinazione con altri farmaci già utilizzati in clinica.

1. Vavala E, Colone M, Angiolella L *et Al*, "Effects of *Mentha suaveolens* essential oil alone or in combination with other drugs in *Candida albicans*". *BMC* article submitted.
2. Bozzuto G, Colone M, Stringaro A *et Al*, "Tea tree oil might combat melanoma". *Planta Med.* **2011**; 77:54-6.



Fig. 1 a sinistra: Menta suaveolens (fonte: ActaPlantarum 2007-2013).

Fig. 2 a destra: Micrografia al microscopio elettronico a scansione di cellule di adenocarcinoma mammario umano dopo trattamento con EOMS per 24 h. Le cellule appaiono danneggiate a livello della membrana plasmatica con evidenti alterazioni dei villi superficiali e formazioni di blebs.

TOFU CON SOIA ITALIANA

da agricoltura biologica

Piatti a base di TOFU E SEITAN

Pronti in pochi minuti

Bio in Tavola vi propone una selezione di Tofu e Seitan per tutti i gusti: *al naturale, alla piastra* e lo speciale *affumicato*, pronto all'uso per insaporire insalate o verdure. Nei nostri prodotti il tofu è preparato con soia italiana. Della stessa linea puoi trovare anche *deliziosi wurstel ed affettato di Seitan, pronti all'uso, e gustosissime crocchette di tofu e verdura!*

Provali tutti, per la loro preparazione è necessario solo scaldarle qualche minuto in padella!

Probios s.r.l.
Firenze Italia
+39 055 8985932
www.probios.it

FOLLOW US ON

Anche quest'anno UDINESE CALCIO si nutre con i prodotti PROBIOS

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DI ALCUNI OLI ESSENZIALI IN ASSOCIAZIONE CON ANTIBIOTICI E ANTIFUNGINI. RUOLO DETERMINANTE DELLA COMPONENTE FENOLICA E TERPENOLICA

Filomena Corbo, Antonio Rosato, Carlo Franchini

Dipartimento di Farmacia Scienze del Farmaco – Università degli Studi di Bari
'Aldo Moro' antonio.rosato@uniba.it; filomena.corbo@uniba.it

Gli oli essenziali sono miscele complesse e la loro attività biologica sembra essere il risultato dell'azione combinata dei componenti il fitocomplesso, oppure riflette l'attività delle molecole presenti in modo prevalente. Il meccanismo d'azione degli oli essenziali più accreditato consiste nel danneggiamento della parete cellulare e della membrana plasmatica: gli oli, essendo liposolubili, attraversano la parete e la membrana, modificano la struttura dei diversi strati di polisaccaridi, acidi grassi e fosfolipidi, danneggiando la cellula stessa.

Nel caso specifico dei lieviti, gli oli essenziali possono rendere più permeabili anche le membrane mitocondriali, alterando il potenziale di membrana e il ciclo della respirazione cellulare. Numerosi lavori scientifici¹⁻⁴ del nostro gruppo di ricerca hanno evidenziato la presenza di relazioni sinergiche *in vitro* tra oli essenziali e antimicrobici, mostrando una notevole riduzione delle concentrazioni dei componenti l'associazione stessa. Nell'ambito di tale attività è stato recentemente dimostrata anche un'azione sinergica su ceppi batterici da attribuire prevalentemente alla componente terpenolica del fitocomplesso⁴. In particolare sono state studiate le azioni sinergiche di antibiotici e di antifungini con oli essenziali su ceppi batterici e su ceppi di *Candida albicans* e *non-albicans*. I risultati ottenuti in questi anni mostrano valori dell'indice di sinergia (FICI) interessanti in particolare con l'associazione tra Norfloxacin e/o Gentamicina con l'olio essenziale di *Pelargonium graveolans* a *Aniba rosaedora* (FICI 0.11-0.50). Le associazioni tra antifungini come la Nistatina e l'Amfotericina B con oli essenziali di *Melaleuca alternifolia*, *Origanum vulgare* e *Pelargonium graveolens* hanno mostrato un'azione sinergica fortemente influenzata dal tipo di antimicrobico usato. È da sottolineare la forte sinergia tra Gentamicina e *Aniba rosaedora* sul ceppo Gram – di *Acinetobacter Baumannii* (0.24 µg/mL rispetto a 4 µg/mL).

- 1) Rosato A, Vitali C, De Laurentis N *et Al.*, "Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin." *Phytomedicine*, **2007**, 14: 727-732.
- 2) Rosato A, Vitali C, Gallo D *et Al.*, "The inhibition of Candida species by selected essential oils and their synergism with Amphotericin." *Phytomedicine*. **2008**, 15:635-638.
- 3) Rosato A, Vitali C, Piarulli M *et Al.*, "In vitro synergic efficacy of the combination Nystatin essential oils against some Candida species." *Phytomedicine*, **2009**, 16:972-975.
- 4) Rosato A, Piarulli M, Corbo F *et Al.*, "In vitro synergistic action of certain combinations of Gentamicin and essential oils." *Current Medicinal Chemistry*, **2010**, 17:3289-3295.

CONFRONTO FRA IDRO-DISTILLAZIONE TRADIZIONALE ED ESTRAZIONE CON FLUIDI SUPERCRITICI PER L'ISOLAMENTO DI COMPOSTI AROMATICI DA INFIORESCENZE DI CANAPA INDUSTRIALE (*CANNABIS SATIVA* L.)

Carla Da Porto*, Deborah Decorti, Andrea Natolino

Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Udine, Italia; Tel: 39 0432 558141; Fax: 39 0432 558120; e-mail: carla.daporto@uniud.it

Le infiorescenze di cultivar di *Cannabis sativa* L. da fibra sono generalmente considerate rifiuti per l'industria della fibra, anche se la loro composizione volatile è piacevole e potrebbero perciò essere utilizzate come ingredienti per profumi (industria cosmetica) o aromi per bevande (industria alimentare). Il profumo delle infiorescenze di canapa è dato soprattutto da monoterpeni e sesquiterpeni. Tradizionalmente, il recupero di fragranze floreali da piante avviene per idro-distillazione attraverso la produzione di oli essenziali. Tuttavia, questo metodo è lungo e richiede l'applicazione di calore, che può produrre la degradazione dei composti termolabili presenti nel materiale vegetale di partenza. L'estrazione con fluidi supercritici (SFE) può essere utilizzata come metodo alternativo per estrarre i composti aromatici. Il solvente più utilizzato nell'estrazione con fluidi supercritici è la CO₂, che è economica, sicura, non tossica (non lascia residui in estratto) e raggiunge le condizioni supercritiche facilmente (32 °C e 7,38 MPa). Applicando il metodo SFE è impedita la degradazione chimica e termica dei prodotti, che alla fine del processo sono completamente privi di residui di lavorazione, mentre potere solvente e selettività possono essere regolati variando pressione e temperatura di estrazione. L'estrazione con fluidi supercritici è quindi una *Tecnologia verde*. I risultati ottenuti mediante analisi GC-MS dei principali composti volatili di infiorescenze di canapa da olio essenziale e da estratto SFE sono confrontati e discussi.

OLI ESSENZIALI PRODOTTI DA PIANTE DI *MYRTUS COMMUNIS* ALLEVATE *IN VITRO* MEDIANTE L'IMPIEGO DELL'INNOVATIVO BIOREATTORE PLANTFORM

Anna De Carlo¹, Carla Benelli¹, Gabriele Cencetti², Marco Michelozzi²

¹CNR-IVALSA, Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree. decarlo@ivalsa.cnr.it; benelli@ivalsa.cnr.it

²CNR-IGV, Istituto di Genetica Vegetale. michelozzi@cnr.it; cencetti@igv.cnr.it

Il mirto è ricco di composti bioattivi con notevoli applicazioni nel settore alimentare, aromatico, ornamentale e medicinale; le sue caratteristiche sono legate alla presenza di oli essenziali, costituiti principalmente da terpeni. La produzione di tali sostanze, che può essere studiata sia nelle piante allevate *in vivo* che *in*

vitro, è in stretta relazione con la fisiologia della pianta e con le caratteristiche genetiche degli ecotipi. Considerando il crescente interesse e fabbisogno di tali metaboliti naturali e vista la bassa resa in olio essenziale che si ottiene dalla distillazione del mirto, risulta di notevole importanza valutare le possibili applicazioni biotecnologiche al fine di incrementarne la produzione. Di particolare interesse è l'approccio che utilizza i sistemi di coltura *in vitro* per ottenere, in maniera continua e indipendente dalla stagionalità, una considerevole biomassa vegetale in grado di fornire i principi biologicamente attivi. Utilizzare le colture *in vitro* comporta numerosi vantaggi, tra cui: il controllo delle condizioni ambientali (substrato di proliferazione, condizioni di luce, fotoperiodo e temperatura), l'assenza di interazioni con agenti biotici (le colture infatti si trovano in condizioni di sterilità), la rapida valutazione di differenze tra biotipi e l'opportunità di propagare in maniera molto efficiente materiale clonale. Obiettivo della presente ricerca è stato quello di verificare la possibilità di produrre oli essenziali da germogli di *Myrtus communis* (var. "Tarantina") propagati in bioreattore. È stata inoltre valutata la possibilità di ottenere una più alta resa in biomassa tramite l'utilizzo della coltura *in vitro* in bioreattore "PlantForm", basato sul sistema a immersione temporanea, recentemente sviluppato da Welander e Sayegh. Successivamente, sono stati determinati, mediante gascromatografia, i profili terpenici ottenuti dagli estratti dei tessuti vegetali dei germogli micropropagati. I risultati mostrano che il mirto ben si adatta alla crescita in bioreattore, con tassi di sopravvivenza e qualità delle colture superiori a quelli ottenuti in condizioni standard di coltura *in vitro* con substrato semi-solido (Fig. 1). Inoltre, è stata dimostrata la possibilità di ridurre la concentrazione dei macro e micro nutrienti presenti nel substrato liquido senza comprometterne i tassi di crescita, riducendo in parte i costi di propagazione. In aggiunta, i germogli propagati in coltura *in vitro* standard e quelli propagati in bioreattore presentano profili terpenici simili. In conclusione, il bioreattore "PlantForm" rappresenta una valida alternativa ai sistemi convenzionali di coltura *in vitro*, considerando la riduzione dei costi, della manodopera e dei tempi per la propagazione massale e per l'efficiente produzione di biomassa da cui estrarre l'olio essenziale di mirto.



Fig. 1: Germogli di mirto propagati in coltura *in vitro*, su substrato semi-solido (a sinistra) e in Bioreattore PlantForm con substrato liquido (a destra), all'interno della camera di crescita.

EFFETTO DELLA TECNICA CULTURALE SULLA RESA DI PIANTE UFFICINALI: ASPETTI AGRONOMICI ED ECOFISIOLOGICI

Sebastiano Delfine¹ e Gabriella Stefania Scippa²

¹Università degli Studi del Molise, Dipartimento di Agricoltura, Ambiente ed Alimenti. delfine@unimol.it

²Università degli Studi del Molise, Dipartimento di Bioscienze e Territorio. scippa@unimol.it

Le piante officinali si differenziano da altre specie vegetali coltivate per la presenza nei loro tessuti di principi attivi utili all'industria agro-alimentare, farmaceutica, cosmetica, etc. Le essenze aromatiche sono prodotte dal metabolismo secondario che rende uniche le proprietà officinali di ciascuna specie.

È noto che, oltre le condizioni ambientali, anche gli accorgimenti culturali possono interferire con le rese delle piante coltivate. Infatti, una mirata gestione della lavorazione del suolo, delle erbe infestanti, delle necessità idriche e nutritive e della difesa delle piante possono modulare la produzione delle colture sia sotto l'aspetto quantitativo che quello qualitativo.

Questo non è vero allo stesso modo per tutti gli ambienti di coltivazione. Per quanto riguarda le piante officinali, dal punto di vista ambientale, è noto che la stessa specie produce oli essenziali con differenti profili aromatici a seconda dell'ambiente di coltivazione. Se molti sono gli studi relativi alle specie erbacee di pieno campo, molto poco è noto sulla coltivazione e sugli effetti della tecnica culturale sulla resa di piante officinali.

L'attività scientifica condotta in Molise, da circa un decennio, sta evidenziando queste carenze e promuovendo attività di ricerca per calibrare la pratica culturale in base all'ambiente di coltivazione e alle esigenze del comparto deputato alla trasformazione e successiva commercializzazione. Per perfezionare la tecnica culturale, affinché sia ripetibile e vantaggiosa, è necessario associare i rilievi di pieno campo al metabolismo della pianta. Pertanto, poiché il risultato produttivo raggiunto possa essere replicato è necessario legare i rilievi agronomici a quelli ecofisiologici e molecolari attraverso lo studio del metabolismo primario (fotosintesi) e la sua interazione con quello secondario responsabile della biosintesi dei principi attivi caratteristici di ogni specie officinale.

Delfine S, Loreto F, Pinelli P *et Al.*, "Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress." *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **2005**, 106:243-252.

Delfine S, "La coltivazione delle Pianta Officinali" **2009**, ISBN 978 88 904 6660 1. Vitullo M, Ripabelli G, Delfine S *et Al.*, "Microbiological and toxicological quality of dried herbs." *Letters in Applied Microbiology*, **2011**, 52: 573-580.

Russo A, Formisano C, Delfine S *et Al.*, "Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions." *Food Chem Toxicol.*, **2013**, 55:42-47.

STUDIO *IN VITRO* DELL'ATTIVITÀ MICROBICIDA DI OVULI A BASE DI TEA TREE OIL SU *CANDIDA* SPP. E PROBIOTICI DEL MICROBIOTA VAGINALE.

Maura Di Vito^{1,2}, Francesca Mondello², Paola Mattarelli³, Lorenzo Nissen³, Antonietta Girolamo², Milva Ballardini¹, Annunziata Tamburro¹, Isabella Giraldi¹, Marcello Meledandri¹

¹ Osp. San Filippo Neri, U.O.C. Microbiologia e Virologia. Roma

² Istituto Superiore di Sanità, Dip. Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate. Roma

³ Università di Bologna, Dip. Scienze Agrarie. Bologna
wdivit@gmail.com

Dati epidemiologici indicano che, nel 13% delle donne, il trattamento topico per le candidosi non è sempre sufficiente a decontaminare completamente il microambiente vaginale, tanto che, spesso si verificano recidive. Il disagio causato spinge sempre più donne verso l'uso, sotto prescrizione medica o per automedicazione, di prodotti naturali, facilmente reperibili presso le farmacie, per la cura e/o prevenzione di patologie.

Lo scopo di questo lavoro è stato di valutare, *in vitro*, l'azione fungicida e battericida di ovuli vaginali (OV) a base di sostanze naturali rispettivamente su ceppi di *Candida* spp, e di probiotici appartenenti al microbiota vaginale.

A tal fine, dalla letteratura, il Tea Tree Oil (TTO) risulta il miglior candidato sia per la bassa tossicità a concentrazioni < al 20%, che per l'attività fungicida anche verso ceppi resistenti ai farmaci.

Per lo studio sono stati usati i seguenti ceppi di *Candida*: *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* ATCC 201380, un ceppo di *C. albicans* azolo-resistente e uno sensibile fortemente vaginopatico oltre a 15 ceppi di *Candida* isolati presso l'ospedale SFN di Roma. La sensibilità è stata testata mediante macro-brododiluzione, inoculando 2.5×10^3 cfu di ciascun ceppo in OV a base di TTO (Candinorm® Pegaso), OV placebo, TTO (0.5% v/v) e gel di Aloe (0.5% v/v). Dopo 24 h, 10 µL delle soluzioni inoculate (SI) sono state piastrate su cromagar e sia gli OV che il TTO, singolo o in combinazione con il gel di Aloe, hanno mostrato azione fungicida a 24, 48 e 72 h; il placebo e il gel di Aloe non hanno mostrato alcuna azione fungicida o fungistatica.

Analogamente è stata studiata la sensibilità agli OV di 4×10^{10} cfu di ceppi probiotici di *Bifidobacterium animalis* (BA) subsp. *lactis* (DSM 10140) e di 5×10^{10} cfu di *Lactobacillus* (LB) spp. (*Lb. casei* R-215, *Lb. acidophilus* R-52 isolati da AxiDophilus® Pegaso), dopo 18/20 h a 37 °C sono stati seminati 10-100 µL e 1 mL di SI su agar nutritivo. Dopo 4 gg in anaerobiosi solo il ceppo BA risulta inibito nella crescita mentre non si osserva inibizione per i ceppi di LB. Test di micro-brododiluzione mostrano l'azione battericida del TTO per concentrazioni $\geq 4\%$ mentre sia BA che LB sono vitali a concentrazioni $\leq 2\%$. Tutti i test sono stati eseguiti secondo le linee guida CLSI.

I dati mostrano come gli OV a base di TTO esercitano *in vitro* un'azione fungicida selettiva, lasciando pressoché inalterata la vitalità dei LB probiotici testati e supportandone l'uso nel trattamento delle candidosi vaginali.



Foto di Igor Makumin

Melaleuca alternifolia, gli oli essenziali da essa prodotti sono la fonte principale per la produzione commerciale dell'olio di melaleuca, fungicida e antibatterico locale, meglio conosciuto con il nome di "Tea Tree Oil"

RISULTATI PRELIMINARI SULL'UTILIZZO DI OLI ESSENZIALI PER LA DIFESA DELLO ZUCCHINO DALL'OIDIO

Lucia Donnarumma, Filomena Milano, Stefano Trotta, Maria Teresa Schiavi e Tiziana Annesi

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura - Centro di ricerca per la patologia vegetale, lucia.donnarumma@entecra.it

In seguito alla revisione dei prodotti fitosanitari e all'entrata in vigore del Reg. 1107/2009 per la loro messa in commercio, la disponibilità di fungicidi si è ridotta; la Dir. 128/2009 promuove approcci alla protezione delle colture volti a ridurre l'uso di prodotti fitosanitari. Molti oli essenziali e i loro principali costituenti hanno evidenziato attività antifungina nei confronti di funghi patogeni delle piante, responsabili di malattie in pre e post raccolta: l'olio di garofano è autorizzato in Italia per l'uso in post raccolta su pomacee; l'olio di menta come antigerminativo delle patate.

I prodotti fitosanitari a base di oli essenziali presentano vantaggi quali la rapida volatilizzazione e la trascurabile residualità che li rendono prodotti a basso impatto ambientale e quindi proponibili per l'uso in agricoltura integrata e biologica. Lo scopo di questo lavoro è stato valutare l'efficacia, nei confronti dell'oidio dello zucchini, di oli essenziali utilizzati da soli o in alternanza a un fungicida di sintesi, quinoxifen, al fine di diminuirne l'utilizzo. Gli oli essenziali utilizzati nelle sperimentazioni sono stati: *tea tree oil* (*Melaleuca alternifolia*), rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L.), chiodi di garofano (*Syzygium aromaticum* L.) e origano (*Origanum vulgare* L.).

Le sperimentazioni sono state condotte in serra, in condizioni controllate di temperatura e di luce. Il primo trattamento è stato eseguito alla comparsa dei sintomi della malattia. I trattamenti sono stati effettuati ogni sette giorni per cinque settimane.

Sono stati posti a confronto diversi programmi di difesa. La loro efficacia nei confronti dell'oidio dello zucchini è stata valutata secondo le linee guida EPP0 (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*).

L'incidenza e la severità della malattia sono state determinate eseguendo i rilievi mediante l'osservazione di ogni pianta a 6 settimane dal primo trattamento. I risultati più promettenti sono stati riscontrati su piante trattate con oli essenziali alternati al quinoxifen e non è stata osservata fitotossicità ai dosaggi applicati. Le sperimentazioni hanno quindi evidenziato che un controllo integrato del patogeno con tali prodotti potrebbe essere praticabile.

Isman MB, Machial CM, "Advances in Phytomedicine, naturally occurring bioactive compounds" Elsevier, **2006**, pp. 29- 44.

Annesi T, Pompei V, Conte E *et al.*, "Powdery mildew integrated control on zucchinis with 'soft chemistry' materials and quinoxifen." *Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University*, **2011**, 76/2:65-70.

L'USO DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DEI MARCIUMI DELLA FRUTTA IN POSTRACCOLTA

Erica Feliziani, Gianfranco Romanazzi

Dipartimento di Scienze Agrarie, Ambientali ed Alimentari, Università Politecnica delle Marche, Ancona g.romanazzi@univpm.it

Il principale limite alla conservazione della frutta fresca è dato dai marciumi postraccolta, che possono causare ingenti perdite economiche. Il controllo dei marciumi in postraccolta è principalmente basato sull'uso di fungicidi. Tuttavia, a causa degli effetti negativi dei fungicidi sull'ambiente e sulla salute umana, nonché lo sviluppo di isolati fungini resistenti ai fungicidi, esiste un'attenzione crescente nel cercare alternative alla loro applicazione, che comprende anche l'uso di oli essenziali (Romanazzi *et al.*, 2012). Gli oli essenziali sono ottenuti da diverse piante, ed essi hanno recentemente incrementato la loro popolarità e interesse scientifico per la loro attività antimicrobica e la loro biodegradabilità (Lazar *et al.*, 2010).

Numerosi studi hanno evidenziato la loro attività *in vitro* contro i principali patogeni postraccolta, usando sia il metodo del substrato avvelenato, sia i dischi di carta imbevuti di oli essenziali. Gli oli essenziali più promettenti includono quelli di basilico (*Ocimum basilicum*), finocchio (*Foeniculum vulgare*), timo (*Thymus vulgaris*), origano (*Origanum vulgare*) e menta (*Mentha piperita*), i quali sono stati testati anche *in vivo* per valutare la loro efficacia nel controllare i marciumi postraccolta su diverse tipologie di frutta (Antunes e Cavaco, 2010).

I frutti sono stati immersi o irrorati con gli oli essenziali, oppure esposti ai loro vapori. Gli oli essenziali potrebbero rappresentare una strategia alternativa per il controllo dei marciumi postraccolta e portare alla produzione di biofungicidi che potrebbero essere usati sui prodotti ortofrutticoli freschi. Questo potrebbe ridurre o addirittura in alcuni casi sostituire l'uso dei fungicidi di sintesi, tuttora necessari per l'industria agroalimentare.

A ogni modo, ci sono due principali problematiche da dover considerare durante le prove della valutazione *in vivo* degli oli essenziali: gli effetti fitotossici e l'alterazione delle proprietà organolettiche della frutta. Sono tuttavia necessari ulteriori studi per l'ottimizzazione delle dosi, dei tempi di trattamento e della tipologia di applicazione.

Antunes MD, Cavaco AM, "The use of essential oils for postharvest decay control." A review. *Flavour Fragr. J.* **2010**, 25:351-66.

Lazar EE, Jobling JJ, Benkeblia N, "Postharvest disease management of horticultural produce using essential oils: Today's prospects." *Stewart Postharvest Rev.* **2010**, 6:1-9.

Romanazzi G, Lichter A, Mlikota Gabler F, *et al.*, "Natural and safe alternatives to conventional methods to control postharvest gray mold of table grapes." *Postharvest Biol. Technol.* **2012**, 63:141-7.

OLI ESSENZIALI: NUOVE PROSPETTIVE PER LA SALUTE E IL BENESSERE.

Fabio Firenzuoli

Centro di Medicina integrativa, Centro di riferimento per la Fitoterapia, AOU Careggi, Università di Firenze

fabio.firenzuoli@unifi.it

Un tempo ritenuti aromi e fragranze capaci di sensazioni, stimolanti, inebrianti, piacevoli o meno piacevoli, utili in cucina ma anche in cosmetica, un concentrato di forze vitali non meglio conosciute, gli oli essenziali (OE) rappresentano oggi una frazione di sostanze farmacologicamente attive, disomogenea dal punto di vista chimico, polimorfa da quello farmacologico e tossicologico, affascinante da quello sensoriale, complessa da quello qualitativo, importante da quello applicativo.

Oggi sappiamo che la loro composizione chimica risente di numerose variabili (dalla genetica della pianta a fattori biotici, dalle condizioni di crescita alla raccolta, conservazione ed estrazione), e oltre al loro utilizzo tradizionale (per gli effetti balsamici, antinfiammatori, antispastici, analgesici, antimicrobici, ansiolitici, ecc.) nuove prospettive sono ad esempio rappresentate dal possibile effetto sinergico con altri farmaci, finalizzato a ridurre la resistenza ad antibiotici o citostatici.

Il nostro gruppo di ricerca multidisciplinare vede il coinvolgimento del Dipartimento di Biologia, Chimica, Farmacologia, Scienze della Salute e Consiglio per la ricerca e sperimentazione in Agricoltura dell'Università di Firenze, nonché il CNR di Sesto Fiorentino, il Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia di Firenze, il laboratorio di Microbiologia e la Farmacia dell'AOU Careggi. Le nostre attuali linee di ricerca: analisi di attività antimicrobiche di OE, ricerche su endofiti di piante aromatiche che possano interferire con la sintesi di terpeni e terpenoidi, fonte loro stessi di sostanze ad attività antimicrobica, l'uso clinico degli OE, con i relativi aspetti farmaceutici e di fitovigilanza.

Una opportunità interessante per tutti coloro che fanno ricerca applicata sugli OE viene dalla rivista Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine che ci ha chiesto di editare un supplemento ad hoc, "Essential Oils: New Perspectives in Human Health and Wellness", al fine di poter raccogliere le migliori attuali ricerche internazionali e conoscenze scientifiche sull'argomento, rendendole disponibili in un volume peer reviewed, recensito in Pubmed in Open access (www.hindawi.com).

Le tematiche raccolte vanno dalla caratterizzazione chimica e controlli di qualità agli aspetti farmaco-tossicologici, dal controllo della sicurezza alla valutazione dell'efficacia, dalle più moderne biotecnologie alla nanomedicina, senza ovviamente trascurare l'aromaterapia tradizionale né l'uso a scopo di solo benessere.

AROMATIC COMPOSITION OF DIFFERENT CULTIVARS OF VITIS VINIFERA FLOWERS

Guido Flamini¹, Bernardo Mela², PierLuigi Cioni¹, Luisa Pistelli¹

¹ Università di Pisa, Dipartimento di Farmacia, luisa.pistelli@farm.unipi.it

² Università di Pisa, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Pisa

Gli impollinatori forniscono un servizio essenziale sia per gli ecosistemi naturali che per quelli agricoli. Più dell'80% della produzione agricola, rappresentata per la maggior parte da frutta, verdura, olio vegetale, proteine vegetali, noci e spezie, dipende dall'impollinazione degli insetti. Tuttavia, studi dettagliati sui sistemi di impollinazione delle colture sono incompleti o non aggiornati e da anni si nota una crescente minaccia verso i servizi di impollinazione in molte parti del mondo (Klein *et Al.*, 2007).

Per dare un contributo alla chimica dei composti volatili che possono essere coinvolti nella impollinazione, in questo lavoro sono stati esaminati i profili delle sostanze volatili emesse *in vivo* dai fiori di *Vitis vinifera* appartenenti a diverse cultivar: Canaiolo, Cilieggiolo, Colombana, Colorino, Merlot, Montepulciano, Sangiovese, Trebbiano. Le analisi sono state eseguite con la tecnica HS-SPME-GC-MS.

Le classi chimiche dei composti volatili più rappresentate sono state quelle degli idrocarburi sesquiterpenici con percentuali tra il 55,4% nella cultivar di Montepulciano e 88,1% in quella Colorino, seguiti dai monoterpeni ossigenati che presentavano un andamento opposto, dal 6,9% del Colorino al 31,2% del Montepulciano.

Infine, per valutare se le sostanze volatili individuate potessero essere utili per discriminare tra i diversi modelli di composti volatili emessi da organi diversi della pianta, tutti i composti rilevati sono stati sottoposti ad analisi statistica multivariata. I risultati hanno mostrato somiglianze nel profilo di emissione di composti volatili tra le cultivar Cilieggiolo e Canaiolo e tra Montepulciano e Sangiovese.

Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, *et Al.*, "Importance of pollinators in changing landscapes for world crops", *Proceedings of the Royal Society B*, **2007**. 274:303-313

USO POTENZIALE DEGLI OLI ESSENZIALI PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DA LEGIONELLA PNEUMOPHILA NELLE ACQUE TERMALI

Stefano Fontana¹, Antonietta Girolamo¹, Annarita Stringaro², Marisa Colone², Maria Scaturro¹, Maria Luisa Ricci¹, Francesca Mondello¹

¹Dip. Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate e ²Dip. Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma stefano.fontana@iss.it

Il potere curativo delle acque termali è stato recentemente rivalutato, sebbene queste ultime rappresentino un potenziale

rischio per la salute. Infatti l'ambiente caldo umido costituisce un habitat ideale per la sopravvivenza e proliferazione di *Legionella pneumophila* (Lp), che trasmessa da aerosol prodotto da diversi dispositivi presenti in tali strutture, può causare una grave polmonite detta Malattia dei Legionari. La normativa vigente richiede che la concentrazione di *Legionella* nelle acque termali sia < 100 UFC/L. I disinfettanti chimici attualmente in uso nelle acque termali possono alterare le proprietà benefiche delle acque stesse e la loro efficacia può variare anche in relazione al chimismo delle varie tipologie di acque esistenti. È quindi necessario promuovere nuove strategie per prevenire e controllare la contaminazione da *Legionella* nelle acque termali. Precedentemente avevamo evidenziato l'attività battericida *in vitro* verso Lp del tea tree oil (TTO) estratto da *Melaleuca alternifolia* (Mondello *et al.*, 2009). Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'attività *in vitro* del principale componente attivo del TTO, il Terpinene-4-olo (TERP) nei confronti di 18 ceppi di Lp clinici e ambientali. L'attività antimicrobica è stata determinata con il metodo standard di micro-diluizione in brodo e con il *time killing*, mentre l'attività del vapore con il metodo di diffusione in micro-atmosfera. Inoltre sono stati osservati gli effetti citologici con il Microscopio Elettronico a Scansione (SEM). I risultati hanno mostrato che Lp è altamente sensibile al TERP con MIC₉₀=0,125% e MBC₉₀=0,5% v/v sovrapponibili a quelle del TTO, mentre il *time killing* ha mostrato un abbattimento di 1.3x10⁸ CFU/mL dopo 3' di esposizione a TERP 0.42%. L'effetto diretto del vapore di TERP ha causato la totale inibizione della crescita dopo 7 giorni di coltura. Il SEM ha evidenziato restringimenti e *blebs* sulla superficie delle cellule con TERP 1% a 25 °C e l'effetto è risultato più marcato a 40 °C. I nostri dati *in vitro* dimostrano che il singolo componente TERP, in fase liquida e gassosa, è il responsabile principale dell'attività anti-Lp del fitocomplesso TTO, anche a temperature elevate usualmente riscontrate nelle acque termali. A seguito di tali risultati. dopo opportune indagini tossicologiche e di efficacia *in situ*, TERP potrebbe essere utilizzato come microbica alternativo per contrastare la contaminazione da Lp nelle acque termali.

OLEORESINS AND ESSENTIAL OILS IN THE TOPICAL TREATMENT OF INFLAMMATORY DISEASES: A PHYTOTHERAPEUTIC APPROACH

Fabrizio Gelmini¹, Viviana Bianchi¹, Luciano Belotti², Roberto Maffei Facino¹

¹Department of Pharmaceutical Sciences, University of Milan. fabrizio.gelmini@unimi.it; vi.vi_90@hotmail.it; roberto.maffefacino@unimi.it

²Fondazione Onlus Don Ambrogio Cacciamatta, Iseo (BS), gnignaghe@virgilio.it

It is well-known that some essential oils (EOs) and oleoresins (ORs) contain sesqui-, di-, and triterpenic structures responsible for their anti-inflammatory (AI) action. Although for some of them (*i.e.* caryophyllene, abietic acid, α - β amyrin, kahweol, boswellic acid) the AI activity is well established, their therapeutic

involvement in the treatment of inflammatory disorders is rather disregarded. Aim of this work was to explore the efficacy of an ointment and a cream, containing EOs and ORs from *Copaifera langsdorffii* (Copaiba) and *Boswellia carterii* (Oliban) respectively, in the treatment of atopic psoriasis (AP) and articular arthritis (AA). The GC-MS characterization of ORs showed a set of diterpenic acids (77.49%, Copaiba), and di- and triterpenes (35.72%, Oliban) with potential AI structures. The ointment was constituted by 5% of Copaiba dissolved in shea butter and by 0.1% of tea tree oil as enhancer and preservative; the cream (W/O) was composed by 5% of Oliban dissolved in shea butter/coconut oil (35%) and 1% of Eos, tea tree, lavender, thyme, mint and rosemary, as antioxidants and preservatives.

2 volunteers (mean age 36.5yr), affected by localized and recalcitrant AP on legs and elbows respectively, were recruited for a topical application of the ointment (twice/daily, 6 week). The efficacy of the treatment was assessed by a dermatologist through a clinical visual examination of erythema, scaling, and finger palpation of the lesions. At 6 weeks, the PASI score (RIF) showed that erythema, scaling and infiltration improved markedly (from moderate to mild).

The efficacy of the cream was evaluated in 10 volunteers (mean age 80.8yr) affected by AA, and subjected to the application on the painful joints three times/daily/4 weeks. At T=00 the Visual Analogue Scale (VAS for pain evaluation was determined), Protein C Reactive (PCR) and Erythrocyte Sedimentation Rate (VES) were determined. PCR and VES indicates that there were not inflammatory comorbidities, and the VAS scores ranged from 5 to 10 cm. At the end of the treatment a significant decrease in pain sensation was observed for 3 volunteers (VAS Δ score > 4); 2 did not show any amelioration while 3 claim for a completely loss of pain (VAS=0).

For both the treatments the tolerability of the topical formulations was estimated to be very good, and no drop-out cases were observed. The present work suggest that ORs, containing di-triterpenic structures may be considered a phytotherapeutic alternative to conventional pharmacological approach in the management of inflammatory-based diseases.

I REQUISITI DI PUREZZA DEGLI OLI ESSENZIALI, FARMACOPEA E DETERMINAZIONE QUALI-QUANTITATIVA ALLA LUCE DELLE NORME ISO.

Marco Guidotti

Istituto Superiore di Sanità - Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare (SPVSA) marco.guidotti@iss.it

Nel determinare la purezza degli oli essenziali, ottenuti per lo più con tecniche di distillazione in corrente di vapore, si devono considerare sia i saggi descritti nelle farmacopee dei paesi che commercializzano i prodotti, sia le buone pratiche di qualità che ogni laboratorio deve rispettare al fine di ottenere risultati comparabili con omologhi in altri paesi.

Infatti, ancorché, la produzione avvenga in un paese specifico, tali sostanze vengono distribuite in tutto il mondo - si pensi al tea tree oil (*Melaleuca alternifolia* Cheel) - e questo impone ai produttori e alle autorità di controllo di armonizzare norme e criteri di verifica. I sistemi di qualità, basati sulle norme ISO, in particolare, hanno lo scopo di assicurare l'uniformità dei risultati tra i vari laboratori attraverso il controllo di parametri quali: personale autorizzato all'analisi, apparecchiature, materiali, metodi e loro validazione, stima dell'incertezza di misura, riferibilità di misura, assicurazione di qualità dei risultati analitici.

L'USO DEGLI OLI ESSENZIALI NELLA LOTTA ALLE MALATTIE BATTERICHE DELLE PIANTE

Nicola Sante Iacobellis

Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi della Basilicata, Viale dell'Ateneo Lucano, 10, 85100 Potenza; E-mail: iacobellis@unibas.it

La lotta alle malattie batteriche delle piante costituisce un notevole problema nella pratica agricola perché, oltre gli antibiotici e composti di rame, sul mercato non sono disponibili altri battericidi. Tuttavia, gli antibiotici sono vietati nella pratica agricola in molti paesi incluso l'Italia, per la potenziale selezione di ceppi batterici resistenti e il conseguente trasferimento orizzontale di questo carattere ad altri batteri associati o agenti patogeni dell'uomo. L'uso di composti di rame, a causa della loro tossicità e soprattutto per l'impatto ambientale, è limitato e controllato nell'Unione Europea. Inoltre, la lotta alle malattie batteriche delle piante è complicato dal fatto che un gran numero di batteri fitopatogeni diffondono attraverso semi contaminati e/o infetti.

Le suddette considerazioni indicano la necessità di disporre di nuovi battericidi in agricoltura. Diversi studi hanno evidenziato la possibilità di utilizzare gli oli essenziali in medicina e patologia vegetale nonché nell'industria alimentare.

Recenti nostre osservazioni hanno indicato una significativa attività antibatterica degli oli essenziali di coriandolo, cumino, carvi e finocchio selvatico la cui composizione, come atteso, è risultata complessa. In questo studio sono riportati i risultati sull'attività antibatterica di 19 componenti puri dei suddetti oli essenziali verso 29 specie batteriche, nonché sulla capacità di eugenolo di disinfettare i semi di fagiolo contaminati da *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Xcpf), l'agente della maculatura comune del fagiolo.

Esaminando i vari componenti, una notevole attività antibatterica è stata dimostrata dai terpenoidi e derivati fenilpropanoidi contenenti funzioni fenoliche e alcoliche, mentre ridotta appare quella dovuta ai componenti contenenti gruppi funzionali chetonici, aldeidici, eteri ed esteri.

Nessuna attività è stata osservata per i terpenoidi e fenilpropanoidi non ossigenati. Trattamenti di semi di fagiolo contenenti circa $2,6 \times 10^6$ UFC/semme di un ceppo di Xcpf con emulsioni di

eugenolo (1-8 mg/mL) ha determinato una riduzione altamente significativa dei batteri sui semi. In particolare, l'eugenolo a 4 mg/mL disinfetta semi contenenti $7,0 \times 10^2$ UFC/semme e minori. Tuttavia, dopo 72 h di incubazione i trattamenti con 2, 4 e 8 mg/mL di eugenolo hanno causato, rispettivamente, una riduzione della germinazione del 3%, 7% e 16%.

Nessun effetto sulla germinazione è stato osservato con eugenolo 1 mg/mL.

Questi dati indicano l'eugenolo come potenzialmente utile per la disinfezione delle sementi di fagioli da Xcpf. Comunque, ulteriori studi sugli effetti sulla vitalità del seme e sulla formulazione di oli essenziali appaiono necessari.

ESSENZE, AROMI E PROFUMI NELL'ANTICHITÀ E NEL MEDIOEVO: QUALITÀ, PRODUZIONE E USI

Gianni Iacovelli

Accademia di Storia dell'Arte Sanitaria, Lungotevere in Sassia, 3-Roma segreteria.asas@gmail.com

Una gran quantità di "essenze" ricavate in genere dalle piante venivano utilizzate nelle antiche civiltà mediterranee. Estratte per combustione o essiccamento, per tritramento o macerazione, venivano mescolate con acqua o altre sostanze. Erano parte integrante delle ritualità legate all'adorazione della divinità e alle complesse cerimonie del culto dei morti. Sotto forma di saponi, paste, infusi e polveri erano usate nella cosmetica e nella cura della bellezza femminile e maschile. Venivano usate in terapia, come è attestato nei papiri medici dell'antico Egitto e nelle tavolette mesopotamiche. Il loro uso passò nella Grecia preclassica e classica.

Delle erbe e delle loro proprietà si interessò nel III sec. a. C. Teofrasto, discepolo di Aristotele, e nel II sec. d. C. Dioscoride, che dette alla botanica medica una organica sistemazione.

A Roma, nella prima età imperiale, Plinio il Vecchio, nella sua enciclopedia Naturalis Historia, fra le tante "curiosità", parla anche delle essenze e dei loro molteplici usi.

Nel Medioevo, gli arabi riuscirono a isolare essenze e profumi con metodologie sofisticate: per ottenere le "acque aromatiche" utilizzarono per la prima volta l'estrazione in corrente a vapore. Anche la raffinata civiltà bizantina usava aromi, essenze e profumi in molte e svariate attività.

Arabi e bizantini trasferirono in occidente, specialmente con i testi salernitani (i famosi Antidotari) la cultura delle essenze aromatiche, che si arricchì di nuovi elementi con la conoscenza e la diffusione delle "spezie" provenienti dall'Oriente.

Con gli Hortus sanitatis, diffusi anche a stampa, siamo alle soglie del Rinascimento e dell'età moderna, quando con le nuove tecnologie introdotte dalla scienza alchemica si riuscì a estrarre dalle erbe i primi "oli essenziali".

ATTIVITÀ BIOCIDA DI OLI ESSENZIALI DI SPECIE DI EUCALYPTUS NEI CONFRONTI DEL NEMATODE GALLIGENO MELOIDOGYNE INCOGNITA

Sebastiano Laquale, Nicola Sasanelli, Trifone D'Addabbo

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Bari. t.daddabbo@ba.ipp.cnr.it

I nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* sono estremamente distruttivi e difficili da controllare, a causa della loro polifagia e della larga diffusione a livello mondiale. Esigenze di tutela ambientale e della salute umana impongono la sostituzione dei nematocidi di sintesi utilizzati nel controllo di tali parassiti con strategie di lotta a maggiore sostenibilità ambientale. I metaboliti secondari ad attività nematocida presenti in numerose specie vegetali, e in particolare gli oli essenziali e i loro costituenti, possono costituire una efficace alternativa all'impiego di fitofarmaci.

Al genere *Eucalyptus* (Myrtaceae) appartengono circa 700 specie arboree che contengono nelle foglie oli essenziali con un ampio spettro di attività biologiche, tra cui anche una attività nematocida. Il presente lavoro mostra i risultati di un esperimento su pomodoro in cui gli oli essenziali di *E. citriodora* e *E. globulosus* sono stati utilizzati per trattamenti a un terreno infestato da *M. incognita*.

Gli oli sono stati distribuiti in acqua alle concentrazioni di 50, 100 e 200 mL kg⁻¹ di terreno quattro settimane prima del trapianto di pomodoro cv. Rutgers.

Le piante sono state mantenute in serra a 25 °C per due mesi e al termine di questo periodo sono stati rilevati i loro parametri di crescita, l'indice di formazione di galle sulle radici e la popolazione del nematode sulle radici e nel terreno. Tutti i trattamenti con gli oli essenziali di entrambe le specie hanno significativamente ridotto il numero di uova e larve (Fig. 1) e la formazione di galle sulle radici di pomodoro e il tasso di riproduzione del nematode rispetto al testimone non trattato.

L'olio essenziale di *E. citriodora* ha complessivamente mostrato un'attività nematocida superiore rispetto a quello di *E. globulosus*. Gran parte dei trattamenti con i due oli essenziali ha inoltre indotto uno sviluppo dell'apparato radicale delle piante significativamente maggiore rispetto al testimone non trattato. I risultati sembrano confermare le potenzialità degli oli delle specie di *Eucalyptus* per lo sviluppo di formulati nematocidi alternativi ai prodotti fitosanitari di sintesi.

Andrés M.F., González-Coloma A., Sanz J. et Al., "Nematicidal activity of essential oils: a review". *Phytochem. Rev.*, **2012**, 11:1-20.

Chitwood D.J., "Phytochemical based strategies for nematode control". *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2002**, 40:221-249.

Isman M.B., "Plant essential oils for pest and disease management". *Crop Prot.*, **2000**, 19: 603-608.

Perry R.N., Moens M., Starr J.L., "Root-knot nematodes", CABI, **2009**, pp. 488.

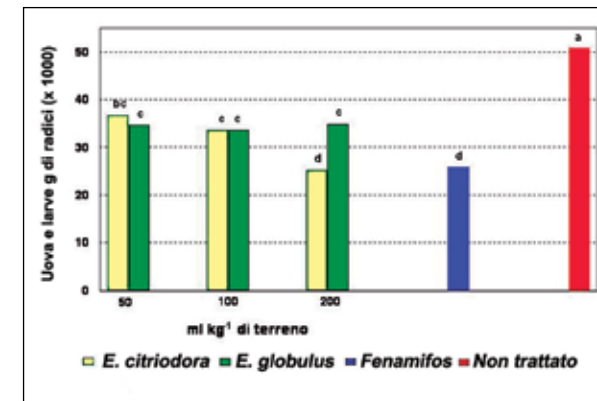


Fig. 1. Effetto dei trattamenti al terreno con dosi diverse di oli essenziali di *Eucalyptus citriodora* ed *E. globulosus* sulla moltiplicazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* sulle radici di pomodoro cv Rutgers. Ciascun dato è la media di dieci ripetizioni. Le barre contrassegnate da lettere uguali corrispondono a tesi non significativamente differenti tra loro in base al test della Minima Differenza Significativa ($P = 0.05$).

INHIBITORY ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS COMPONENTS AGAINST THE FUNGAL PLANT PATHOGEN BOTRYTIS CINREA

Marco Lucchetta², Riccardo Marcato^{2,1}, Szabina Lengye¹, Luca Sella¹ and Francesco Favaron¹

¹ Department TeSAF, University of Padova, viale dell'Università 16, Legnaro (PD), Italy

² COCCITECH SRL – Via Treviso 38 – San Vendemiano (TV), Italy

* marco@cocccitech.com

Botrytis cinerea is the fungus responsible of the grey mould disease of grape and other fruits. Chemical control is necessary when environmental conditions are favorable to the disease. In order to protect plants from disease the European Union by directive 2009/128/EC gives priority to non-chemical methods and encourages the use of natural non-toxic substances. Natural compounds are used as an alternative to chemical fungicides mostly to control post-harvest diseases. The major aim of this work is to compare the fungicidal activity against *B. cinerea* of 11 natural compounds that are produced in plants through the *shikimate/phenylalanine* pathway. In a spore germination assay six compounds (eugenol, thymol, carvacrol, isoeugenol, cinnamaldehyde and vanillin) completely inhibited the germination of conidia. These natural products also reduced the viability of the spores and inhibited the growth of *B. cinerea* mycelium (strain PM10) even if with different efficiency. These compounds are the major constituents of essential oils of many aromatic species. Some chemical characteristics, like the high lipophilic and the low value of polar surface area, are common among these compounds indicating an high affinity for phospholipids compartment and their difficult to overcome the external layer of the cell. Eugenol

showed the higher inhibitors activity (EC₅₀ about 76 µg/mL) against mycelium growth. Interesting, EC₅₀ and EC₈₀ values of cinnamaldehyde were close together. Combined treatments of eugenol and cinnamaldehyde, at protected the leaves against *B. cinerea* infection reducing about 80% the disease symptoms without showing phytotoxic effects. Currently we are performing grapevine treatment in the field with a co-formulate preparation of eugenol, cinnamaldehyde and other natural products to assess the capacity to reduced the *B. cinerea* inoculum. If field tests will show positive results these products may be a viable alternative or complement synthetic fungicides normally used in grapevine protection against gray mold.

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DI OLI ESSENZIALI NEI CONFRONTI DI CEPPI CLINICI DI *STREPTOCOCCUS PYOGENES* RESISTENTI AI MACROLIDI

Gloria Magi, Claudio Palmieri, Giulia Manoni, Bruna Facinelli

Università Politecnica delle Marche, Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica. g.magi@univpm.it

Negli ultimi anni l'interesse per le proprietà antimicrobiche degli oli essenziali (OE) è cresciuto in seguito alla diffusione dell'antibiotico-resistenza e alla mancata introduzione di nuovi antibiotici. Lo streptococco β-emolitico di gruppo A (GAS, *Streptococcus pyogenes*) è uno dei più frequenti e importanti patogeni umani, responsabile di una vasta gamma di infezioni spesso distinte in infezioni di tipo suppurativo e in sequele non suppurative; tra le infezioni suppurative, la più frequente è la faringo-tonsillite acuta che rappresenta la maggior parte delle faringiti batteriche. L'antibiotico di prima scelta è rappresentato dalla penicillina a cui i GAS rimangono uniformemente sensibili. Tuttavia, i ceppi in grado di penetrare nelle cellule possono sfuggire all'azione dei β-lattamici, che rimangono confinati negli spazi extra-cellulari. L'alternativa è rappresentata dai macrolidi che penetrano nelle cellule ma nei confronti dei quali esiste un'elevata percentuale di resistenza. Ne consegue che i ceppi invasivi e resistenti ai macrolidi sono di difficile eradicazione.

In questo studio è stata valutata l'attività antimicrobica di OE di *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, *Origanum vulgare*, *Melaleuca alternifolia* e *Thymus vulgaris* e di carvacrolo e timolo, principali componenti di origano e timo, nei confronti di 35 ceppi faringei di GAS, eritromicino-resistenti e invasivi per cellule respiratorie umane (Facinelli *et al.*, 2001). Gli OE di origano e timo erano i più attivi e presentavano una MIC compresa tra 0.03-0.06%, mentre carvacrolo e timolo presentavano MIC comprese tra 64-128 µg/mL. È stato anche valutato l'effetto di concentrazioni sub-MIC di carvacrolo e timolo tramite (i) colorazione *live-dead*, (ii) curve di *killing* e (iii) prove di invasività cellulare. I risultati mostravano che (i) la membrana cellulare risultava danneggiata già dopo 1 h di incubazione; (ii) la curva di crescita mostrava un allungamento della fase di latenza; (iii) la capacità di invadere cellule respiratorie umane diminuiva in maniera significativa.

Questi risultati dimostrano che gli OE di origano e timo e carvacrolo e timolo hanno una spiccata attività antimicrobica nei confronti di GAS invasivi e resistenti ai macrolidi e che, anche a concentrazioni sub-MIC, carvacrolo e timolo sono in grado di danneggiare la membrana citoplasmatica e di interferire sia nella curva di crescita che nella capacità invasiva. Questi risultati ne suggeriscono pertanto un uso potenziale nella pratica clinica.

Facinelli B, Spinaci C, Magi G, et Al., "Association between erythromycin resistance and ability to enter human respiratory cells in group A streptococci." *Lancet*, **2001**, 358:30-3.

EFFETTI FARMACOLOGICI DEGLI OLI ESSENZIALI SUL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Giuseppe Marano

Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento del Farmaco. gmarano@iss.it

Un gran numero di studi e ricerche scientifiche è stato effettuato per valutare gli effetti sul sistema nervoso centrale di sostanze odorose volatili e degli stessi oli essenziali percepiti dall'olfatto. Le molecole profumate diffondono nell'aria e raggiungono la mucosa delle cavità nasali nelle cui cellule olfattive si innescano reazioni chimiche e si generano stimoli elettrici che raggiungono il sistema nervoso centrale con il conseguente rilascio di neurotrasmettitori come serotonina, adrenalina, encefaline e endorfine. Il sistema di percezione e trasduzione del segnale odoroso è talmente sofisticato che modificazioni anche minime della struttura chimica della molecola stimolante, della sua forma e delle sue dimensioni possono indurre forti cambiamenti nella percezione dell'odore, sia qualitativi sia quantitativi e un differente pattern di rilascio di sostanze chimiche a livello cerebrale. Inoltre, a differenza di quelli degli altri sensi, i neuroni olfattivi non raggiungono la neocorteccia ma un'area primordiale del nostro cervello, una zona dell'encefalo chiamata sistema limbico, nella quale hanno sede aree connesse con i meccanismi di controllo delle funzioni vitali ma anche degli stati emotivi, del tono dell'umore, della sessualità, dell'aggressività, dell'appetito e della riproduzione. È opinione comune che proprio queste connessioni siano responsabili degli effetti sullo stato d'animo, sul tono dell'umore, sul comportamento e sulle prestazioni mentali attribuiti agli oli essenziali.

Alcuni studi hanno testato gli effetti di oli essenziali su umore, attenzione, e stress mentale in soggetti sani. Altri studi hanno valutato gli effetti di vari odori sulle prestazioni mentali, il tempo di reazione e parametri autonomici o esaminato gli effetti diretti di odori sul cervello tramite elettroencefalogramma e studi di *imaging* funzionale. Tali studi hanno costantemente dimostrato che gli odori sono in grado di produrre effetti specifici sulla funzione neuropsichica e autonoma e influenzare significativamente l'umore, la salute percepita e lo stato di eccitazione. Inoltre questi studi suggeriscono anche che gli odori possono avere applicazioni terapeutiche nel contesto di condizioni psicologiche stressanti e avverse.

Lo scopo di questo articolo è quello di discutere alcuni degli effetti degli oli essenziali sul sistema nervoso centrale, come ad esempio

gli effetti analgesici e ansiolitici, ma anche gli effetti stimolanti su umore, apprendimento, memoria e attenzione attraverso una revisione della letteratura scientifica pubblicata recentemente su questo argomento. L'occasione è propizia anche per un esame della letteratura divulgativa laddove sono vantati profili aromacologici degli oli essenziali e loro miscele, al fine di verificarne una possibile validità scientifica e applicativa.

COMPOSIZIONE E ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DELL'OLIO ESSENZIALE DI *MONARDA DIDYMA* L.

Paola Mattarelli¹, Lorenzo Nissen¹, Francesco Epifano², Paola Minardi³, Lisa Cavicchi¹, Maria Grazia Bellardi¹

¹ Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, paola.mattarelli@unibo.it

² Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi Gabriele D'Annunzio, Chieti, fepifano@unich.it

³ Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, paola.minardi@unibo.it

La monarda (*Monarda didyma* L.) è una lamiacea perenne originaria dell'America del Nord dalle foglie ovato-lanceolate e fiori rosso scarlatto utilizzata sia come ornamentale, sia come aromatica (Fig. 1A). Infatti, studi eseguiti in Giappone nel 2005 hanno dimostrato una potente attività antimicrobica *in vitro* del suo olio essenziale nei confronti di *Trichophyton mentagrophytes* ed *Escherichia coli*. Nel 2012 è stata avviata una ricerca in Emilia-Romagna con lo scopo di verificarne *in vitro* le proprietà antimicrobiche dell'olio essenziale nei confronti di batteri patogeni sia per l'uomo e gli animali (*E. coli*, *Candida* spp.), sia per le piante (*Erwinia amylovora* e *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*). Nel mese di maggio è stato allestito un campo sperimentale nell'area adiacente al Plesso Serricolo Scarabelli del DipSA a Imola utilizzando piantine ottenute da seme commerciale (Fig. 1B); la coltivazione è stata costantemente monitorata durante le fasi di crescita al fine di selezionare piante visivamente sane (gli esemplari affetti da malattie fungine e/o virali sono stati eliminati).



Fig. 1. A) *M. didyma*. B) Piantine ottenute da seme in attesa del trapianto. C) Olio essenziale.

Nel mese di settembre è stata effettuata la raccolta della parte epigea, costituita quasi esclusivamente da fusti e foglie. L'olio essenziale, ottenuto mediante distillazione in corrente di vapore (Fig. 1C), analizzato in GC-MS, era ricco in timolo (57.95%) e p-cimene (10.32%). Presso i laboratori dell'area di microbiologia del DipSA sono state eseguite le analisi *in vitro* dalle quali è risultata un'elevata attività antibatterica nei

confronti di patogeni animali e vegetali, molto verosimilmente correlabile al fitocomplesso e/o specificatamente al timolo. L'olio essenziale del genere *Monarda* pertanto si conferma possedere una notevole attività antimicrobica, com'era già stato verificato per quello da *M. fistulosa* nei confronti di *E. coli* (Bellardi *et al.*, 2012). Questi studi aprono nuove possibilità di contenimento di malattie da agenti patogeni basate sull'impiego di sostanze naturali come gli oli essenziali; è quindi indispensabile trasferire la sperimentazione dal *vitro* al *vivo*.

Bellardi MG, Cavicchi L, Nissen L *et Al.*, "Composizione ed attività antibatterica dell'olio essenziale di *Monarda fistulosa*." *Natural* **1**, **2012**, 115:80-87. Lavoro eseguito con un contributo della Fondazione Cassa di Risparmio di Imola nell'ambito del progetto "*Monarda* spp.".

EFFETTO DI OLI ESSENZIALI DI ORIGANO, CANNELLA E CHIODI DI GAROFANO SULLA DINAMICA DI SVILUPPO DI *SALMONELLA*

Giovanni Mazzarrino¹, Annalisa Serio¹, Clemencia Chaves López¹, Antonello Paparella¹

¹ Università degli Studi di Teramo. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, gmazzarrino@unite.it

Tra i patogeni di interesse alimentare, *Salmonella* è uno dei principali agenti di tossinfezione. Nella sola Unione Europea, si riportano ogni anno oltre 100.000 casi di salmonellosi nell'uomo (fonti EFSA). Inoltre, la sempre più ampia diffusione di ceppi antibiotico-resistenti rende necessario lo sviluppo di strategie di controllo innovative: una possibile alternativa a metodi più tradizionali potrebbe essere offerta dall'impiego di oli essenziali. Il lavoro sperimentale ha valutato l'effetto di oli essenziali di origano (*Origanum vulgare*), cannella (*Cinnamomum zeylanicum*) e chiodi di garofano (*Caryophyllus aromaticus*) di origine commerciale (Zuccari srl, Trento) sulla dinamica di sviluppo di *Salmonella*. Dopo aver valutato le Minime Concentrazioni Inibenti (MIC) degli oli nei confronti di un ceppo di *Salmonella* Derby di origine alimentare, è stato monitorato lo sviluppo del microrganismo (5 giorni a 30 °C) in presenza di cinque concentrazioni diverse di oli essenziali (MIC, MIC x 2, MIC x 4, MIC/2 e MIC/4).

Il controllo non esposto agli oli cresceva rapidamente con una fase lag di circa 30 minuti, raggiungendo una densità ottica a 600 nm di 1,150 in circa 15 ore. In corrispondenza delle MIC, gli oli di cannella e di origano mostravano azione battericida, potenziata a concentrazioni pari a MIC x 2 e MIC x 4. In corrispondenza della MIC, l'olio di origano esercitava un'azione batteriostatica, controllando lo sviluppo del microrganismo nel tempo senza però determinarne l'inattivazione. A concentrazioni inferiori, invece, *Salmonella* Derby sviluppava, sebbene in tempi più lunghi rispetto al controllo (estensione della fase lag). Concentrazioni sub-letali di olio di chiodi di garofano (MIC/2 e MIC/4) e di cannella (MIC/2) mostravano un effetto batteriostatico, mentre la concentrazione inferiore (MIC/4) di olio di cannella

estendeva la fase lag del microrganismo ma ne consentiva comunque lo sviluppo. La differente efficacia degli oli saggiati è imputabile al diverso meccanismo di azione. Dai dati sperimentali, l'olio di chiodi di garofano è risultato il più efficace nei confronti del ceppo di *Salmonella* Derby esaminato, mostrando un chiaro impatto sulla dinamica di sviluppo del microrganismo e inibendone la crescita anche a concentrazioni estremamente ridotte (MIC pari a 0,031%). I risultati ottenuti contribuiscono ad approfondire le conoscenze sull'azione antimicrobica degli oli essenziali, nell'ottica della messa a punto di strategie di controllo.

RUOLI ECOLOGICI E APPLICAZIONI DI OLI ESSENZIALI IN AGRICOLTURA E FORESTE

Marco Michelozzi

CNR-IGV, Istituto di Genetica Vegetale. marco.michelozzi@cnr.it

Gli oli essenziali sono miscele molto complesse costituite principalmente da terpeni volatili (mono- e sesquiterpeni). Queste molecole possono essere conservate all'interno dei tessuti oppure essere liberate nell'atmosfera. I composti emessi dalle piante sono di particolare importanza per

la loro influenza sul bilancio totale di carbonio e nella chimica dell'atmosfera.

Terpeni volatili sono coinvolti nella chimica dell'atmosfera: le piante emettono nell'aria isoprene e monoterpeni che, a causa dell'alta reattività con radicali OH e composti antropogenici, alterano l'ozono della troposfera, influenzano la qualità dell'aria e possono essere coinvolti nel cambiamento climatico su scala regionale, e globale.

Queste molecole volatili svolgono molteplici ruoli nell'ecosistema: l'isoprene e altri composti volatili svolgono una funzione di difesa in risposta al variare dei fattori ambientali: le piante possono riemettere come isoprene fino al 10% del carbonio fissato fotosinteticamente, per proteggersi da stress termici e idrici tipici in ecosistemi fragili come quello Mediterraneo.

Numerosi studi hanno dimostrato che i composti terpenici svolgono una funzione importante nei meccanismi di difesa chimica della pianta contro l'attacco di batteri, virus, funghi ed erbivori.

I sistemi pianta-insetto offrono numerosi esempi di modelli del processo coevolutivo: queste sostanze attirano gli impollinatori e gli insetti fitofagi. Nelle interazioni tritrofiche alcune piante hanno evoluto la capacità di emettere molecole volatili per attirare insetti carnivori che attaccano gli insetti erbivori. Molecole volatili emesse da piante infestate possono indurre la sintesi di metaboliti di difesa nelle piante sane che si proteggono da un possibile attacco di parassiti (Fig. 1).

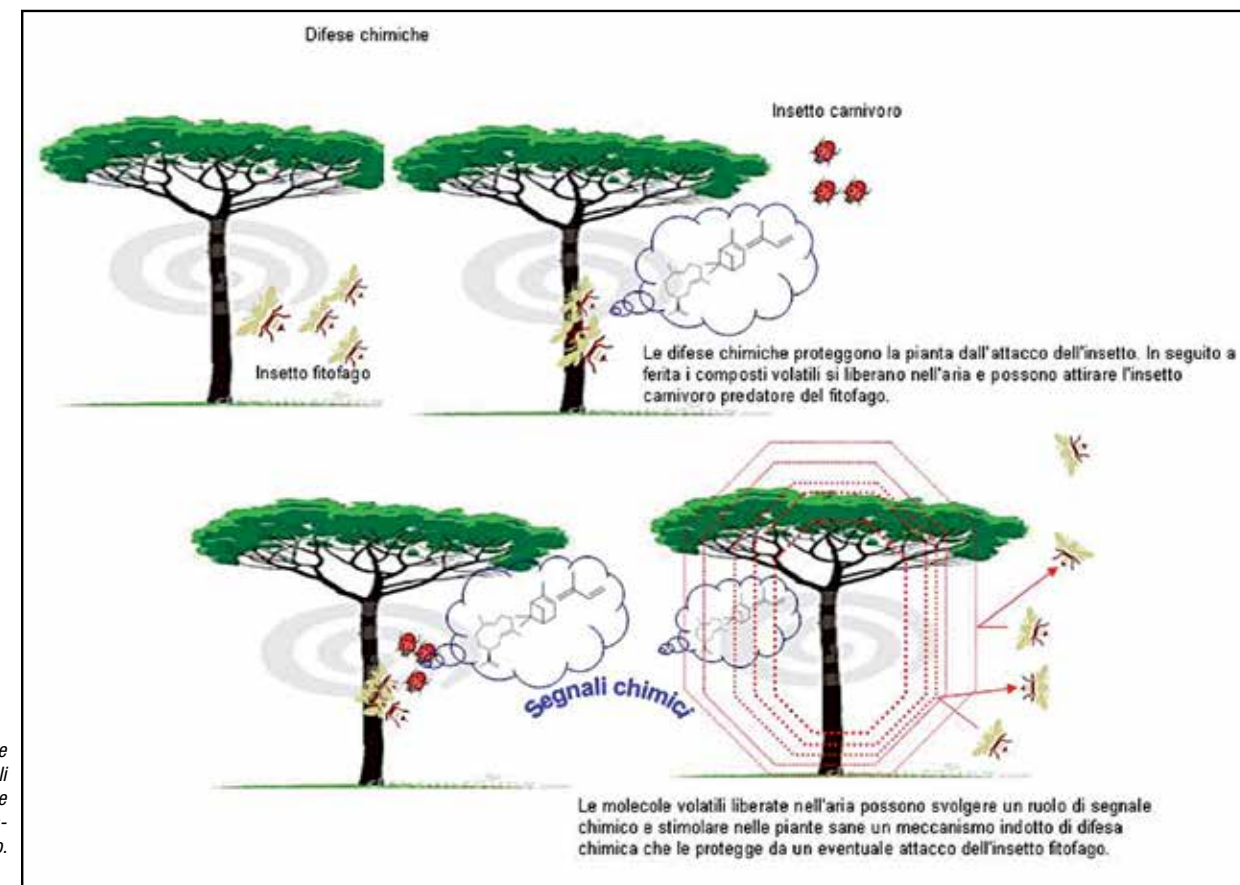


Fig. 1: Molecole volatili di oli essenziali nelle interazioni pianta-insetto.

L'uomo, da sempre, ha utilizzato questi prodotti naturali per il loro potere antisettico e le proprietà aromatizzanti come dimostra il ritrovamento di un'anfora di 7.000 anni fa in cui sono stati scoperti i resti di vino con resina di terebinto. La resina ricca di terpeni era aggiunta al vino per impedire lo sviluppo di batteri responsabili della produzione di aceto e per conferire particolari sapori e odori. Negli ultimi anni l'interesse per l'uso di queste sostanze per scopi commerciali e ambientali è stato sempre crescente. Molecole volatili trovano largo impiego nell'industria agro-alimentare come aromatizzanti e conservanti naturali degli alimenti. Sostanze terpeniche sono utilizzate per la produzione di insetticidi, erbicidi e feromoni naturali per una gestione ecosostenibile delle risorse agricole e forestali.

ARTEMISIA ARBORESCENS L.: RISORSA BIOCIDA ENDEMICA MEDITERRANEA

Marcello Militello¹, Alessandra Carrubba²

¹ Dottore Agronomo PhD –Palermo - marcellomilitello@tiscali.it

² D/Scienze Agrarie e Forestali, Università di Palermo - alessandra.carrubba@unipa.it

Il recente interesse dei consumatori nei confronti dei prodotti di origine naturale ha condotto all'intensificazione degli studi rivolti all'individuazione di nuove materie prime e al perfezionamento delle tecniche estrattive, con l'obiettivo di giungere all'individuazione e alla stabilizzazione dei componenti attivi.

Uno dei filoni più interessanti si orienta verso l'individuazione di principi attivi in grado di controllare alcune avversità di origine biotica. La ricognizione della flora spontanea Mediterranea ha portato all'individuazione di diverse specie che hanno fornito interessanti risultati sperimentali.

Il genere *Artemisia* riveste già da tempo un ruolo importante in questo ambito, grazie soprattutto ai numerosi studi effettuati su *A. annua*, che ne hanno permesso l'introduzione nella profilassi antimalarica.

Numerose sperimentazioni hanno coinvolto altre specie di *Artemisia* definite "minori", con l'obiettivo di individuare nuove materie prime di interesse industriale per il food & beverage, per i settori medico-farmaceutico, veterinario e cosmetico, oltre che per la difesa delle colture agrarie.

Un'interessante insieme di attività (insetticida, erbicida, fungicida e antimicrobica) è stato ad esempio accertato negli oli essenziali estratti da *Artemisia arborescens* L., una specie endemica del bacino del Mediterraneo.

Nel biennio 2010-2011, gli oli essenziali estratti da diverse accessioni spontanee di *A. arborescens* sono stati oggetto di indagini specifiche.

L'analisi fitochimica ha evidenziato come accessioni provenienti da aree geografiche diverse presentino oli con profili terpenici, a volte, profondamente differenti, con ovvie ripercussioni sull'attività biocida; più che all'esistenza di veri e propri

chemiotipi, questa ampia variabilità è probabilmente dovuta a una forte interazione genotipo-ambiente.

I risultati degli studi sull'attività biocida mostrano un'interessante efficacia insetticida su *Aonidiella aurantii*, oltre a una rilevante attività di controllo su funghi di interesse agrario (*Phytophthora citrophthora*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*).

È stata inoltre provata l'attività di controllo sulla crescita microbica di *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter* spp e *Salmonella* con risultati evidenti su alcuni ceppi di *Listeria*.

La biodiversità presente all'interno della flora spontanea del Mediterraneo rappresenta quindi un'importante risorsa per la ricerca di nuovi estratti vegetali di interesse industriale. Non si può tuttavia prescindere da un approccio metodologico coordinato e sinergico tra competenze differenti, di natura botanica, agronomica, farmacologica, medica e industriale.

EFFETTO DELL'OLIO ESSENZIALE DI MELALEUCA ALTERNIFOLIA SULLA CRESCITA E L'INVASIONE DELLE CELLULE TUMORALI

Agnese Molinari¹, Annarica Calcabrini¹, Giuseppina Bozzuto^{1,2}, Marisa Colone¹, Laura Toccaceli¹, Marco Diociaiuti¹, Annarita Stringaro¹

¹Dipartimento di Tecnologie e salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

²Istituto di Metodologie Chimiche, CNR, Roma

agnese.molinari@iss.it

I gravi effetti collaterali a danno degli organi vitali e l'insorgenza di fenomeni di farmacoresistenza pleiotropica e multifattoriale, rappresentano di fatto i maggiori ostacoli al trattamento chemioterapico. La scoperta di nuove sostanze naturali con attività citotossica e/o chemiosensibilizzante e la messa a punto di nuove strategie terapeutiche rappresenta quindi un'esigenza vitale per l'ottimizzazione del trattamento antitumorale. Tramite studi condotti su linee di melanoma umano, farmacosensibili e farmacoresistenti, è stato possibile stabilire una potente attività citotossica e inibitoria dei processi di invasione tumorale esplicitata dall'olio essenziale estratto da *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).

In particolare, gli studi condotti nel nostro laboratorio hanno dimostrato che il tea tree oil è in grado di superare la resistenza all'apoptosi, mediata dalla P-glicoproteina, inducendo apoptosi caspasi-dipendente. Inoltre, inibisce la migrazione e l'invasione delle cellule di melanoma, inducendo gravi danni della membrana plasmatica con conseguente inibizione della fosforilazione delle proteine ERM e delle MAP kinasi.

Studi biofisici e ultrastrutturali (freeze-fracturing), condotti sia su cellule intere che su membrane modello (film di Langmuir Blodgett), hanno permesso di approfondire il meccanismo di interazione del tea tree oil con le membrane cellulari: l'olio interagisce preferenzialmente con il mare disordinato dei fosfolipidi piuttosto che con le strutture altamente ordinate dei rafts. Dati di letteratura hanno evidenziato che a livello

della membrana plasmatica una percentuale di molecole di P-glicoproteina può essere localizzata all'interno dei rafts, dove esplica la sua attività di trasporto mediante l'idrolisi di due molecole di ATP. La quota parte di molecole di P-glicoproteina localizzata al di fuori dei rafts, la cui funzione sembra essere ATP-indipendente, parteciperebbe alla regolazione della risposta all'apoptosi e ai processi di migrazione e invasione mediata dall'attivazione delle MAPkinasi.

In seguito al trattamento con il tea tree oil, l'alterazione dell'ambiente fosfolipidico, ma non dei rafts, porterebbe alla disattivazione dei segnali regolanti l'invasione e la sopravvivenza delle cellule di melanoma umano.

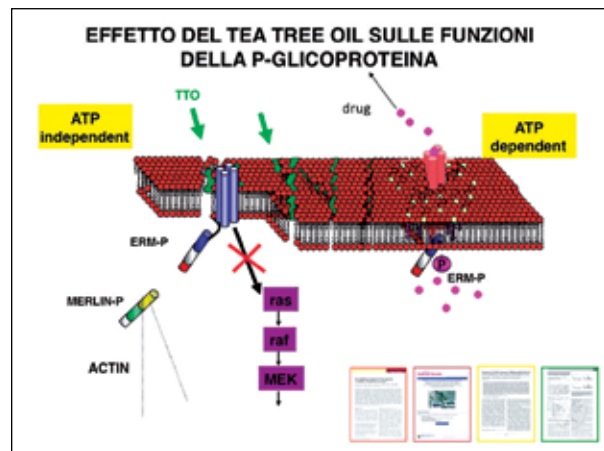


Fig. 1 Effetto del TTO sulla funzione della P-glicoproteina.

FOCUS SULL'OLIO ESSENZIALE DI *TRACHYSpermum AMMI* L.: UN POTENZIALE AGENTE TERAPEUTICO NELLA LOTTA ALLE INFEZIONI DA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Francesca Mondello, Monica Monaco, Antonietta Girolamo, Maura Di Vito, Simona Recchia, Annalisa Pantosti

Istituto Superiore di Sanità - Dip. Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate - Roma
francesca.mondello@iss.it

Staphylococcus aureus (SA) è un patogeno a elevato grado di morbilità e mortalità sia in ospedale che in ambito comunitario. A partire dagli anni '60 del secolo scorso, ceppi di SA resistenti alla meticillina (MRSA) hanno fatto la loro comparsa, diffondendosi in ospedale (HA-MRSA) e divenendo negli anni una problematica di crescente importanza a livello globale. Alla fine degli anni '90, l'epidemiologia degli MRSA è cambiata con la comparsa di una nuova popolazione di MRSA emersa in comunità (CA-MRSA) con caratteristiche fenotipiche e genotipiche diverse da quelle degli HA-MRSA.

Di recente è emersa un'ulteriore popolazione di MRSA,

diffusa tra i maiali e altri animali, definita Livestock-Associated MRSA (LA-MRSA) in grado di causare anche infezioni umane. Con l'aumento della resistenza batterica agli antibiotici vi è un crescente interesse della ricerca per i prodotti naturali con lo scopo di sviluppare nuove classi di antimicrobici da utilizzare nella pratica clinica o da affiancare alle terapie convenzionali. Il presente studio ha lo scopo di valutare il potenziale antibatterico di oli essenziali (OE) e fitocostituenti estratti da varie specie di piante medicinali ampiamente usate "aneddoticamente" per il trattamento di varie patologie infettive.

In particolare è stata confrontata l'attività *in vitro* dell'OE dei frutti di *Trachyspermum ammi* L. (TAL), del tea tree oil (TTO) e del suo componente terpinene-4-olo (TERP) su 30 ceppi di SA di diversa origine, sia resistenti che sensibili (MSSA) e 2 ceppi ATCC MRSA e MSSA, mediante il metodo standard di microdiluizione in brodo suggerito dal CLSI. I risultati hanno mostrato che SA è altamente sensibile al TAL con MIC₉₀ = 0.25% (range 0,06 %-0,5% v/v) e MBC₉₀ = 0.5% (range 0,25%-0,5% v/v). Per il TTO i valore della MIC₉₀ e MBC₉₀ erano rispettivamente 1% e 4% (MIC range: 0,5%-2% v/v; MBC range: 0,5->4% v/v). Per il TERP i valori della MIC₉₀ e MBC₉₀ erano rispettivamente 0.75% e 1% (MIC range: 0,125%-0,5% v/v; MBC range: 0,25->1% v/v). La MBC₉₀ di TAL è risultata 8 volte più bassa di quella del TTO e di 2 volte di quella del TERP che a sua volta è 4 volte più bassa di quella del TTO.

I nostri dati preliminari sull'attività antimicrobica di TAL indicano che non esistono differenze significative di sensibilità tra i ceppi MSSA e MRSA e forniscono una base scientifica, attualmente carente in letteratura, riguardo agli usi tradizionali. Inoltre suggeriscono di considerare il TAL come microbicide promettente e innovativo nei confronti di SA, anche se ulteriori indagini, incluse quelle tossicologiche, dovranno essere effettuate per una più vasta comprensione dell'attività, efficacia e tollerabilità.



Foto di Bames24

CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO AROMATICO E PROVE PRELIMINARI DI INIBIZIONE MICROBICA PER L'OLIO ESSENZIALE ESTRATTO DALLE BUCCE DI *CITRUS RETICULATA* cv. "TARDIVO DI CIACULLI"

Marta Moschetti¹, Valeria Guarraasi¹, Walter Randazzo², Aurora Aleo³, Luca Settanni², Giancarlo Moschetti², Caterina Mammina³, Francesca Barone², Pier Luigi San Biagio¹

¹Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Via U. La Malfa 153, Palermo marta.moschetti@pa.ibf.cnr.it; valeria.guarraasi@pa.ibf.cnr.it

²Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università di Palermo - Viale delle Scienze 11, Palermo

³Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile "G.D'Alessandro", Sezione di Igiene, Università di Palermo

Il mandarino denominato "Tardivo di Ciaculli" ha avuto origine e viene prodotto in provincia di Palermo (Sicilia) nei pressi della contrada Ciaculli. Ha un'epoca di maturazione tardiva che si concentra nei mesi da febbraio ad aprile. I frutti sono piccoli e con buccia di medio spessore [1].

In generale gli oli essenziali di mandarino sono particolarmente apprezzati per le loro proprietà chimico-fisiche costituendo un fondamentale ingrediente nell'industria cosmetica e alimentare come esaltatori di sapore in cibi e bevande. Inoltre trovano un impiego sempre maggiore nelle biotecnologie applicate al settore agroalimentare per ottimizzare le proprietà nutrizionali degli alimenti e prolungarne la shelf life [2].

Nel presente lavoro è stata caratterizzata, mediante Gas Cromatografia accoppiata alla Spettrometria di Massa (GC-MS), la componente volatile dell'olio essenziale estratto dalle bucce dei frutti di Mandarino Tardivo di Ciaculli. Il pattern aromatico è stato poi confrontato con quello di un olio di mandarino commerciale. Sono state effettuate inoltre delle prove preliminari dell'attività antimicrobica sulla crescita di ceppi batterici Gram-positivi (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) e Gram-negativi (*Salmonella enterica* e *Enterobacter hormaechei*), mediante il metodo della "diffusione in agar".

Per quanto riguarda le molecole volatili identificate, i risultati ottenuti presentano una significativa differenza nella classe dei monoterpeni ossigenati, con risaputa attività antimicrobica [4]. L'inibizione è risultata essere maggiore per i batteri Gram-positivi, in particolare per *Listeria monocytogenes*, rispetto ai Gram-negativi.

L'olio essenziale di Mandarino Tardivo di Ciaculli potrebbe quindi rappresentare una buona alternativa all'utilizzo di additivi sintetici in campo alimentare.

1. Vacante V. Calabrese F.; "Citrus, trattato di agrumicoltura" Edagricole. **2009** pp. 105-107.
2. Militello, et al. "Chemical composition and antibacterial potential of Artemisia arborescens L. essential oil." *Current Microbiology*, **2011**, 62: 1274-1281.
3. Settanni L. et al. "Inhibition of foodborne pathogen bacteria by essential oil extracted from citrus fruits cultivated in Sicily." *Food Control*, **2012**, 26: 326-330.

ORIGANO SICILIANO: CHEMOTIPI, CARATTERISTICHE ORGANOLETTEICHE E POTENZIALI ATTIVITA' BIOLOGICHE

Edoardo M. Napoli, Giuseppe Ruberto

CNR Istituto di Chimica Biomolecolare, Via P. Gaifami 18, 95126 Catania
edoardo.napoli@icb.cnr.it, giuseppe.ruberto@icb.cnr.it

L'area del bacino del Mediterraneo rappresenta un ambiente peculiare in cui la Sicilia gioca un ruolo predominante. Nell'isola molte piante officinali trovano il loro habitat naturale e in tempi recenti stanno diventando una fonte di reddito per l'economia isolana¹.

Tutto ciò, unito al crescente interesse verso la riscoperta dei loro usi tradizionali, ci ha indirizzato allo sviluppo di uno studio sistematico mirato alla loro caratterizzazione biomolecolare con particolare riferimento a quella più tipica e diffusa: l'origano^{2,3}. Lo scopo di questo studio è stato quello di ottenere una panoramica dell'origano spontaneo Siciliano, attraverso un campionamento in grado di coprire tutte le zone dell'isola. Il materiale vegetale è stato classificato come *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, i cui oli essenziali sono stati analizzati mediante GC-FID e GC-MS; ciò ha permesso l'identificazione di oltre ottanta componenti, il timolo è il componente principale seguito da *p*-cimene, γ -terpinene e carvacrolo.

Questo profilo distingue l'origano Siciliano, definibile come chemotipo a timolo, da quello di origine greca, in cui la stessa specie è un chemotipo a carvacrolo².

Questa differenza è stata anche messa in risalto da uno studio di valutazione sensoriale in cui è risultata una migliore accettazione del prodotto Siciliano rispetto ad analoghi commerciali⁴.

Le attività biologiche dell'olio essenziale hanno riguardato le attività antiossidante⁴ e antimicrobica attraverso lo studio dell'attività anti-biofilm su *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*⁵. Infine saranno presentati i primi dati sullo studio dell'effetto delle radiazioni ionizzanti come metodo di sterilizzazione dell'origano.

1. Napoli EM, Ruberto G "Sicilian aromatic plants: from traditional heritage to a new agro-industrial exploitation." In Kralis, J.F. (Ed.) *Spices: types, uses and health benefits*, Nova Science Publ. Inc. NY, USA **2012**, pp. 1-56.
2. Napoli EM, Curcuruto G, Ruberto G. "Screening the essential oil composition of wild Sicilian oregano." *Biochem. Syst. Ecol.* **2009**, 37:484-493.
3. Tuttolomondo T, La Bella S, Licata M et al. "Biomolecular characterization of wild Sicilian oregano: phytochemical screening of essential oils and extracts - evaluation of their antioxidant activities." *Chem. Biodiversity* **2013**, 10:411-433.
4. Bonfanti C, Ianni R, Mazzaglia A et al. "Emerging cultivation of Oregano in Sicily: Sensory evaluation of plants and chemical composition of essential oils." *Ind. Crops Prod.* **2012**, 35:160-165.
5. Schillaci D, Napoli EM, Cusimano MG et al. "Origanum vulgare subsp. *hirtum* essential oil prevented biofilm formation and showed antibacterial activity against planktonic and sessile bacterial cells." *J. Food Protect.* **2013**, in press.

OLI ESSENZIALI NEL TRATTAMENTO DELLA DERMATITE DA MALASSEZIA DEL CANE: STUDIO IN VIVO ED IN VITRO

Simona Nardoni¹, Linda Mugnaini¹, Luisa Pistelli², Michele Leonard²,
Veronica Sanna¹, Stefania Perrucci¹, Francesca Pisseri³,
Roberto Papini¹ and Francesca Mancianti¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, viale delle Piagge 2, 56100 Pisa, snardoni@vet.unipi.it

²Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Pisa, Via Bonanno, 33, 56100 Pisa

³Scuola Cimi Koinè, via Ugo Bassi, 00100 Roma

Malassezia pachydermatis è comune agente eziologico di dermatite seborroica nel cane (CMD). Si tratta di una patologia cronica, con frequenti ricadute, molto fastidiose sia per gli animali che per i proprietari (Bond, 2010). Il trattamento convenzionale, per quanto ampiamente praticato, presenta problemi legati alla durata, al costo e a possibili effetti collaterali indesiderati. Si riportano di seguito i risultati di una sperimentazione condotta su 35 cani affetti da CMD, 20 dei quali trattati con una miscela di oli essenziali, presente in commercio (Malacalm®, Flora s.r.l., Lorenzana, Pisa) costituita da *Citrus aurantium* 1%, *Lavandula officinalis* 1%, *Origanum vulgare* 0.5%, *Origanum majorana* 0.5%, *Mentha piperita* 0.5% e *Helichrysum italicum* var. *italicum* 0.5%, in olio di mandorle dolci e olio di cocco, da somministrarsi per via topica due volte al giorno per 30 giorni. Dei restanti 15 animali, 10 sono stati sottoposti a trattamento convenzionale e 5 sono stati utilizzati come gruppo di controllo non trattato. Contemporaneamente, si è proceduto alla valutazione dell'attività antimicotica *in vitro* della miscela *in toto*, di ciascuno degli ingredienti, nonché dei composti quantitativamente più rappresentati, utilizzando un test di microdiluzione (Pistelli *et al.*, 2011). Gli oli sono stati caratterizzati chimicamente con gas cromatografia-spettrometria di massa. Tutti gli animali hanno migliorato il loro stato clinico alla fine dei trattamenti e non si sono registrate reazioni avverse. Al giorno 180 dall'inizio dei trattamenti, però, tutti gli animali trattati convenzionalmente presentavano infezioni recidivanti a differenza di tutti i soggetti trattati con Malacalm®. Gli animali del gruppo di controllo non trattati non hanno presentato significative variazioni nel loro stato clinico. La MIC dell'intera miscela è risultata pari allo 0.3%. L'olio essenziale di *O. vulgare* ha mostrato la massima efficacia con MIC pari a 0.8%, seguito da *M. piperita* (1%), *O. majorana* (1.3%), *C. aurantium* (2%) e *L. officinalis* (4%) mentre *H. italicum* non ha presentato azione antimicotica fino alla concentrazione del 10%. I composti più attivi sono risultati timolo, carvacrolo, p-cimene, 1,8 cineolo, limonene e mentolo. Questo studio rappresenta il primo saggio *in vivo* dell'efficacia di una formulazione a base di oli essenziali nel trattamento della CMD.

Il trattamento fitoterapico si è dimostrato efficace, sia per la riduzione dei segni clinici, che soprattutto per la prevenzione di recidive entro i 6 mesi, dimostrandosi in questo caso migliore

del trattamento convenzionale. La formulazione ha inoltre incontrato il favore dei proprietari degli animali, che hanno approvato la gradevole profumazione del prodotto, utile a contrastare il forte odore di rancido che spesso accompagna queste affezioni dermatologiche.

Bond R, "Superficial veterinary mycoses." *Clin Dermatol* **2010**, 28:226-236.
Pistelli L, Mancianti F, Bertoli A *et al.*, "Antimycotic activity of some aromatic plants essential oils against canine isolates of *Malassezia pachydermatis*: an *in vitro* assay." *Open Mycol J*, **2012**, 6:17-21.

ESTRATTI DI CAPSICUM ANNUM REGOLANO LE ESO-TOSSINE DI ESCHERICHIA COLI E CAMPYLOBACTER JEJUNI, AGENDO SUL SISTEMA BATTERICO DEL QUORUM SENSING

Lorenzo Nissen¹, Paola Mattarelli¹, Lorenzo Barbanti¹, Gianmaria Prati², Fabio Fornari², Barbara Sgorbati¹.

¹DipSA, Università di Bologna, Bologna, ²Dip. Gastroenterologia, AUSL Ospedale di Piacenza, Piacenza.

lorenzo.nissen@unibo.it

La vera fisiopatologia della Sindrome dell'Intestino Irritabile (IBS) rimane sconosciuta, ma un'ipotesi affermata è che il suo sviluppo sia dovuto a precedenti episodi di gastroenterite acuta, IBS Post-Infettiva (PI-IBS). I ceppi tossigenici di *Escherichia coli* e *Campylobacter jejuni* causano PI-IBS e la peggiorano con la capacità di multi-resistenza agli antibiotici. Per contrastare simili patogeni quando gli antibiotici falliscono l'uso terapeutico di prodotti naturali ha spesso successo. Nonostante tutto, si sa poco riguardo alla biologia molecolare alla base della bioattività di questi prodotti.

Il nostro studio ha analizzato la capacità anti-tossigenica di tre estratti metanolici di *Capsicum annuum* ricchi di capsaicina, verso produzione e regolazione di Cytolethal Distending Toxin (CDT) in *E. coli* e *C. jejuni* enteropatogeni, tramite espressione genica.

Il saggio di Minima Concentrazione Inibente è stato svolto per selezionare le concentrazioni sub-inibenti la crescita batterica degli estratti di *C. annuum* "Habanero white", "Tabasco" e "Serrano Green", in paragone con eritromicina e tetraciclina (32 mg/mL). Con tali dosi di estratto, dopo 3 e 6 ore d'incubazione di *E. coli* a 37 °C in aerobiosi e di *C. jejuni* a 42 °C in anaerobiosi, l'RNA batterico è stato isolato e retro-trascritto per condurre l'analisi di espressione genica in Real-Time PCR con saggio 2-Δct. I geni analizzati sono stati: come controllo endogeno, FTs-Z (proteina di divisione cellulare in *E. coli*) e Lpx-A (proteina per sintesi Lipide A in *C. jejuni*); per le tossine, Cdt-B (unità attiva olotossina CDT); per i regolatori delle tossine, LuxS (Quorum Sensing Autoinducer-2), Hns e DksA (regolatori trascrizionali DNA-leganti). Dal momento che l'espressione di LuxS induce virulenza, mentre quella di Hns e di DksA riduce la virulenza, noi ipotizziamo che la sotto-

espressione genica di Cdt-B avvenga assieme alla sotto-espressione di LuxS e sovra-espressione di Hns e DksA.

I nostri risultati dimostrano che gli estratti di *C. annuum* riducono l'espressione di Cdt-B (fino a 60 volte in *E. coli* e 40 volte in *C. jejuni*), riducono l'espressione di LuxS (fino a 24 volte in *E. coli* e 14 volte in *C. jejuni*), e sovra-esprimono Hns e DksA (fino a 15 volte in *E. coli* e 9 volte in *C. jejuni*). Gli estratti di *C. annuum*, in particolare "Tabasco", sono capaci di ridurre la virulenza e quindi la patogenicità dei batteri agenti causali della PI-IBS, come gli antibiotici specifici. La necessità di trovare alternative agli antibiotici è impellente, perché l'abilità dei patogeni di aggirare le molecole sintetiche si sta rapidamente evolvendo.

OLI ESSENZIALI PNEI E CANCRO

Leonardo Paoluzzi

Medico chirurgo, Coordinatore della Commissione dell'Ordine dei Medici di Terni sulle Medicine non Convenzionali, Referente regionale SIROE, Consigliere SIFIT

Nel parlare di tumore e delle eventuali cure alternative, c'è sempre giustamente molta precauzione e noi vogliamo rispettare tale precauzione. In ogni caso va detto che in tutto il mondo si è alla ricerca di nuovi farmaci antitumorali e sempre più a partire da sostanze naturali. La nostra posizione al riguardo è quella del medico che nella sua attività di "prima linea" si pone il problema di come poter ridurre al massimo l'impatto sia psicologico che biologico del paziente nei confronti di tale affezione. Ci sono molte teorie al riguardo data la complessità del problema ma è certo che la cosa migliore da fare è la prevenzione con esami specifici ecc., ma sarebbe meglio secondo il nostro pensiero, e non solo il nostro, intervenire sullo stile di vita puntando maggiormente su una medicina "predittiva" che tiene in considerazione soprattutto l'alimentazione e le diverse scelte, consapevoli e non di mercato, dei vari alimenti. Il cancro si nutre di acidità e di tutto ciò che acidifica i liquidi organici e il sangue. Pertanto la prima cura è a tavola e poi nello stile di vita.

Sapolsky, della Stanford University, ha scritto un testo fondamentale a tale proposito: "Perché alle zebre non viene l'ulcera?" e non solo ma neanche la depressione, la colite, il diabete o altre malattie croniche. In questo volume si mette in risalto il fatto che è lo stress a generare tutto ciò con gli stessi meccanismi uomo/animale e, mentre il secondo li smaltisce con rapidità, nell'uomo diventa cronico, mettendo in moto un percorso che possiamo ritrovare in sintesi nella PNEI. Tali sollecitazioni alterano un equilibrio già difficile e precario per ciò che attiene agli ormoni e agli organi bersaglio, all'immunità e alla gestione del self e tutto ciò porta a malattie croniche e degenerative come il cancro.

Nella gestione generale dello stress un ruolo fondamentale svolgono gli oli essenziali nella terapia olfattiva di regolazione (TOR) e le spezie nell'alimentazione, correggendo i vari squilibri neuro vegetativi, modulando



GreenVet®
fitoterapia veterinaria



Prodotti di Fitoterapia Veterinaria

Fornitura diretta in Farmacia ed Erboristeria.

Distribuito in Farmacia da
VIPROF - Vicenza

APA-CT srl
Via Nicola Sacco, 22 - 47122 Forlì (FC)
Tel 0543 705152 - Fax 0543 707315
dal lunedì al venerdì ore
9,00 - 12,30/14,30 - 17,00
www.greenvet.com
www.erboristeriaveterinaria.it

in prima istanza le risposte simpatico/parasimpatico e successivamente le secrezioni endocrine ed esocrine nel delicato equilibrio ormonale e mucosale. Nel momento in cui si riesce a regolare la risposta primaria istintiva autonoma della struttura limbica e a far circolare l'energia in tutte le parti del corpo, evitando ristagni e accumuli per stasi che innescano processi infiammatori, ci siamo messi nella condizione di non ammalare prima sul piano nervoso emozionale secondo sul piano cellulare strutturale. Ciò è possibile attraverso l'uso razionale degli oli essenziali valutati sotto il profilo di regolatori emozionali e quindi ormonali e immunitari.

“non si può realmente comprendere una malattia in astratto, ma solo nel contesto della persona che soffre”

Robert M. Sapolski

VALUTAZIONE PRELIMINARE DI EFFICACIA DEL TEA TREE OIL PER IL CONTROLLO DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* NEGLI ALIMENTI

Antonello Paparella¹, Giovanni Mazzarrino¹, Annalisa Serio¹,
Clemencia Chaves López¹

¹Università degli Studi di Teramo. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, apaparella@unite.it

Listeria monocytogenes è un importante patogeno alimentare, agente di tossinfezioni con tasso di letalità fino al 30%. L'estrema versatilità e la capacità di adattamento anche a condizioni ambientali sfavorevoli ne determinano l'ampia diffusione in numerosi alimenti (1). In ambito alimentare si stanno valutando strategie di controllo dei microrganismi patogeni che includono anche la bioconservazione mediante composti di origine naturale, tra cui gli oli essenziali. Il Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil (TTO) è un efficace antimicrobico soprattutto nei confronti di *Staphylococcus aureus* ma sono scarsi i dati riguardanti *L. monocytogenes*. L'obiettivo del lavoro ha riguardato la valutazione dell'attività del Tea tree oil (ESI, Albissola Marina, SV) nei confronti di *L. monocytogenes*. La valutazione mediante Disk Diffusion Method sui ceppi tipo ATCC 7644 e ATCC 19114 e su 8 isolati da diverse matrici alimentari, ha mostrato un'inibizione leggermente variabile a seconda dei ceppi. La MIC (Minimal Inhibitory Concentration) valutata mediante microdiluzioni, è risultata di 10 µL/mL per tutti i ceppi. Per comprendere se l'azione inibente del TTO nei confronti del microrganismo fosse battericida o batteriostatica, la dinamica di sviluppo di quattro diversi ceppi di *L. monocytogenes* in presenza di 10 µL/mL (MIC), 20 µL/mL (MIC x 2) e 5 µL/mL (MIC/2) è stata valutata in maniera dinamica per cinque giorni a 30 °C. I risultati sono stati particolarmente interessanti, dal momento che 10 µl/ml (MIC) avevano un effetto batteriostatico nei confronti di Lm17 e Lm 19, e addirittura battericida evidente già nelle prime cinque ore di incubazione,

nei confronti di Lm 4 e di ATCC 7644. La concentrazione di TTO di 20 µL/mL ha avuto effetto battericida nei confronti dei quattro ceppi, mentre 5 µL/mL erano sufficienti per controllarne lo sviluppo nel tempo (azione batteriostatica). Il meccanismo di azione del TTO non è ancora chiaro ma sembra correlato alla presenza di 1,8-cineolo e alla natura idrofobica dei terpeni (2). In conclusione, la valutazione preliminare effettuata consente di considerare il Tea tree oil come efficace nei confronti di *L. monocytogenes*; ulteriori valutazioni sono necessarie prima di una potenziale applicazione del TTO in ambito alimentare.

1) Paparella A, Serio A, Chaves López C *et al.*, “Plant-based intervention strategies for *Listeria monocytogenes* control in foods”, in *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, A. Méndez-Vilas (Ed.) in stampa

2) Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D *et al.*, “Biological effects of essential oils – a review” *Food Chem Toxic.*, **2008**, 46:446-475

OLI ESSENZIALI IN DERMATOLOGIA VETERINARIA, ESPERIENZE CLINICHE E DI LABORATORIO IN MALATTIE CORRELATE A *MALASSEZIA* SPP. E A DERMATOFITI

Francesca Pisseri¹, Veronica Sanna², Simona Nardoni³, Laura Pinto²,
Linda Mugnaini³, Francesca Mancianti³

¹Centro Italiano di Medicina Integrata, info@francescapisseri.it

²Medico Veterinario Libero Professionista

³Dipartimento di Scienze Veterinarie Università di Pisa

In dermatologia veterinaria hanno particolare rilievo le dermatofitosi sia negli animali da affezione, sia negli animali da allevamento e alcune di queste micosi sono trasmissibili all'uomo. Le patologie correlate a *Malassezia* spp. sono importanti nel cane; si tratta di forme dermatologiche per lo più cronicizzanti e di difficile contenimento.

I farmaci convenzionali usualmente prescritti presentano alcune criticità quali farmacoresistenza e tossicità.

In vitro è stata valutata l'attività inibente di diverse diluizioni di oli essenziali, per lo più provenienti da flora mediterranea, su isolati fungini ottenuti da soggetti sintomatici, tramite la tecnica delle microdiluzioni scalari.

Abbiamo testato gli oli essenziali di *Thymus serpyllum*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Citrus limon*, *Melaleuca alternifolia*, nei confronti di isolati di *Mycrosporium canis*, *Microsporium Gypseum*, *Tricophyton equinum*, *Tricophyton mentagrophytes*.

Le MIC (concentrazioni minime inibenti) risultate dai test sono risultate comprese tra lo 0,025% e il 7,5% (valori percentuali di concentrazione minima inibente).

Dal punto di vista clinico sono stati trattati con miscele degli oli essenziali suddetti in olio di mandorle dolci, 49 pazienti sintomatici, di cui 22 cavalli, 13 pecore, 8 gatti e 6 cani. La risoluzione clinica è stata totale in tutti i casi, con tempi compresi tra 10 e 30 giorni. Per quanto riguarda la *Malassezia* sono stati

testati *in vitro* i seguenti oli essenziali: *Citrus limon*, *Lavandula hybrida*, *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare*, *Origanum majorana*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus serpyllum*.

Le MIC risultate dai test sono risultate comprese tra 0,8% e 4% (valori percentuali di concentrazione minima inibente). La MIC risultata dalla miscela di alcuni degli oli suddetti è stata di 0,3%: questo dato fa ipotizzare un effetto sinergico tra gli oli essenziali. Sono stati trattati infine con una miscela di oli essenziali in oli vegetali (Malacalm-ditta Flora-Lorenzana) 20 cani con manifestazioni dermatologiche correlate a *Malassezia* spp. effettuando esame colturale, microscopico e valutazione clinica prima e dopo il trattamento. Dal punto di vista clinico 13 casi si sono del tutto risolti, 3 sono migliorati e uno non si è risolto. Gli esami citologici e colturali hanno messo in evidenza una tendenza alla diminuzione dei lieviti presenti.

F. Pisseri, A. Bertoli, S. Nardoni, *et al.*, Antifungal activity of tea tree oil from *Melaleuca alternifolia* against *Trichophyton equinum*: An *in vivo* assay. *Phytomedicine*, **2009**; 6(11):1056-8.

F. Pisseri, A. Bertoli, L. Pistelli, Essential oils in medicine: principles of therapy. *Parassitologia*, **2008**; 50(1-2):89-91

L. Pistelli F. Mancianti A. Bertoli, *et al.*, Antimycotic ctivity of some aromatic plants essential oils against canine isolates *Malassezia pachydermatis*: an *in vitro* assay. *The Open Mycology Journal*, **2012**; 6:17-21

VOLATILE OIL AND ISOFURANODIENE FROM FLOWERS OF THE FORGOTTEN VEGETABLE ALEXANDERS (*SMYRNIUM OLUSATRUM* L., APIACEAE) TRIGGER APOPTOSIS IN COLON CARCINOMA CELLS

Luana Quassinti¹, Filippo Maggi¹, Luciano Barboni², Manuela Cortese³,
Massimo Ricciutelli³, Fabrizio Papa², Gianni Sagratini¹,
Giovanni Caprioli¹, Sauro Vittori¹, Massimo Bramucci¹

¹ School of Pharmacy, University of Camerino, Italy

² School of Sciences and Technology, University of Camerino, Italy

³ HPLC-MS laboratory, University of Camerino, Italy

Smyrniium olusatrum (Apiaceae, Fig. 1a), well known as Alexanders, is a biennial celery-scented plant used for many centuries as a vegetable, then abandoned after the introduction of celery (Mölleken al. 1998). Nowadays, it is still used somewhere as a fresh vegetable, notably the flower buds as a condiment of salads, to make fritters and pickles, or steamed and eaten in place of broccoli (Phillips, 1977). In the present work, the essential oil obtained from inflorescences (Fig. 1b) and its main constituents, namely isofuranodiene, curzerene and germacrone, were analyzed

LARN

Qualità e servizio

Produzione di integratori erboristici e dietetici conto terzi

- **comprese** di varie misure e forme
- **opercoli** formati "1-0-00"
- **liquidi**: produzione e ripartizione da 10 ml a 500 ml
- **polveri e granulati, bustine e barattoli**
- **confetti** di varie tipologie e colorazioni
- confezionamento in **blister** di vari formati o in pilloliere vetro o plastica
- **filmatura** di compresse, colorazioni varie, gastroresistenti
- **filmatura carbone**, trasparente, filmato colorato, filmato colorato aromatizzato



Macchina compresse
Ronchi AR/90



LARN

Via Fabbriche, 18
15069 - Serravalle Scrivia (AL)
Tel.: 0143 633130/686387; fax 0143 608200.
E-mail: info@larnsrl.it



Visitate
il nostro sito!
www.larnsrl.it

by GC-FID and GC-MS as well as by HPLC-DAD because of their degradation (Cope rearrangement) occurring at high temperatures: isofuranodiene (48.0%) resulted by far the major compound of umbels volatile oil, followed by germacrone (12.7%).

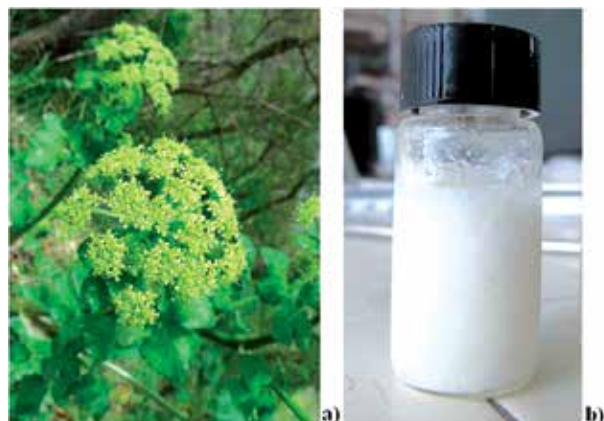


Fig. 1: a) Inflorescences of *Smyrniolus satrum*; b) Hydrodistilled essential oil.

On the basis of the plant traditional culinary use, we selected the colon carcinoma line (HCT116) and on that we evaluated the inhibition power of the essential oil and its main isolated components, such as isofuranodiene, germacrone and curzerene.

Firstly, we carried out the MTT assay for the evaluation of cytotoxicity. Flowers oil and isofuranodiene showed noteworthy activity on tumor cells with IC₅₀ of 10.71 and 15.06 µg/mL, respectively. To characterize the mode of cell death, morphological changes between necrotic and apoptotic processes were analysed by fluorescence light microscopy with differential uptake of fluorescent DNA binding dyes together with analysis of DNA fragmentation after 24 h of incubation by agarose gel electrophoresis. Furthermore, cytofluorimetric analysis using propidium iodide (PI) and AnnexinV-FITC (FACS) was carried out.

Finally, the oil and isofuranodiene were assayed on caspases, which are proteolytic enzymes playing an important role as the central executioners of apoptosis. Results showed that essential oil and isofuranodiene exhibited appreciable caspase 3 activation, reaching a maximum after 6 and 2 hrs, respectively.

In conclusion, our work proved that Alexanders oil and isofuranodiene are able to induce apoptosis in colon cancer cells in a time and concentration-dependent manner suggesting a potential role as a model for the development of chemopreventive agents.

Mölleken U, Sinnwell V, Kubeczka K-H, Essential oil composition of *Smyrniolus satrum*. *Phytochemistry*, **1998**, 49: 1709-1714.
Phillips R, "Wild flowers of Britain" MacMillan, London, **1977**, p. 42.

EFFICACY OF SOME ESSENTIAL OILS ON CONTROLLING GREEN MOLD OF ORANGE AND THEIR EFFECTS ON POSTHARVEST QUALITY PARAMETERS

Badawy F M Ibtesam¹, Sallam Nashwa MA², A Rashad Ibrahim¹

¹ Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Assiut University, 71526 Assiut, Egypt *nashwasallam@yahoo.com

² Plant Pathology Department Faculty of Agriculture, Assiut University, 71526 Assiut, Egypt

The effect of lime, thyme, comphore oils against *Penicillium digitatum* caused post harvest disease of orange fruits (green mould disease) were evaluated for their inhibitory effect *in vitro* and *in vivo* conditions. In vitro experiments, different concentration of each essential oil at 1, 5, 10% (v/v) was tested on the growth of *P. digitatum*. The best concentration at 10% showed high inhibition the growth of *P. digitatum* for all tested oils. Lime oil was significant decrease growth of *P. digitatum* than other oils (5.4, 6.1, 15.2 respectively). *In vivo* experiments in 2009 and 2010 seasons, treating fruits 15 days before harvest and after harvest or only after harvest (natural and artificial infection of fruits) by essential oils at 10% (v/v) significantly reduced the disease severity of fruits compared with untreated fruits (control) at 5 °C. There was no significant difference found between the two methods of applying oils on fruits (natural and artificial infection of fruits). Results also indicated that, treated fruits with lime oil before and after harvest or after harvest significantly decrease disease severity of green mold of orange fruits than other tested oils (natural and artificial infection of fruits). Results indicated that all treatments significantly reduced the undesirable fruits percentage, fruit weigh loss percentage during cooling storage for 14 weeks compared with controls during the two investigated seasons. Also preceding harvest + post harvest spraying with lime essential oil at 10% caused significant increase in TSS % during cold storage for 14 weeks compared with controls, in the two experimental seasons. Prolonged cooling storage at 5 °C for nine weeks slightly increased total soluble solids percentage of both controls and decline towards the end of storage period (14 weeks) of both treatments and controls. At the end of storage period there was no significant differences between the effect of all treatments and controls, on Total acidity (T.A.). Also the two experimental seasons took similar trend. Vitamin C was gradually decreased as storage prolonged, for both control and all treatments.

OLI ESSENZIALI: ADULTERAZIONI, SOFISTICAZIONI E REGOLAMENTAZIONE DEGLI USI

Giuseppe Salvatore

Accademia di Storia dell'Arte Sanitaria, pinsalvat@alice.it

Il Museo Storico Nazionale dell'Arte Sanitaria conserva oggetti per

separare il profumo di piante in poche gocce profumate di essenza, cui si attribuivano virtù magiche e benefiche. La storia ne racconta riti e usi, dalla imbalsamazione ai rimedi salutari e profumi personali e ambientali. Il progresso ne ha continuato la storia con gli oli essenziali (OE). La chimica oggi ne traccia i componenti volatili con la fisiologia *in vivo*, indicandoli come metaboliti secondari, nelle parti fresche o essiccate della pianta, nella composizione dell'OE ottenuto o come posto in commercio.

La lista delle frodi annovera le più grossolane e altre difficili da smascherare per la carenza di laboratori certificati, dotati di strumenti moderni utili per i controlli. I produttori e utilizzatori internazionali di aromi e fragranze, i cui ingredienti comprendono gli OE, hanno attuato un sistema di autoregolamentazione. Il Research Institute for Fragrance Materials (RIFM) valuta la sicurezza degli ingredienti tramite un team di esperti tossicologi, farmacologi, dermatologi e ambientalisti. I risultati sono adottati dall'International Fragrance Association (IFRA) e diffusi in Internet con il Code of Practice. All'IFRA aderiscono associazioni degli Stati Uniti, Messico, Brasile, Argentina, Colombia, Cina, Giappone, Australia, Nuova Zelanda, Indonesia, Singapore. In Europa vi è l'European Flavour and Fragrance Association (EFFA), con la Francia, Germania, Regno Unito, Olanda, Spagna, Svizzera e Italia. Questa ultima con l'Associazione nazionale imprese chimica fine e settori specialistici/Gruppo Aromi e Fragranze (AISPEC, Federchimica), che rappresenta 50 imprese italiane e multinazionali. Requisiti chimico-fisici e di composizione, sono dati dalle farmacopee (p.e., European Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia), da Scientific Committee of the Essential Oil Association (EOA), Food Chemicals Codex, Flavour & Fragrances Houses e da enti di certificazione (International Standards Organisation-ISO Standards TC54, Association Française de Normalisation-AFNOR).

Gli usi in fitoterapia sono supportati da ricerche scientifiche, come pure quelli in erboristeria, aromaterapia, aromacologia e nutripuntura. Al contrario una pur breve visita in Internet mostra numerose applicazioni vantate come salutistiche e benefiche, ma di incerta efficacia. Gli OE entrano nella composizione di prodotti di largo consumo disciplinati da complesse norme: alimenti, bevande, integratori, prodotti farmaceutici, mangimi, cosmetici, prodotti di profumeria e di igiene domestica. Perciò si riferirà sulle norme degli OE comprese nelle direttive, decisioni, regolamenti e inventari comunitari, come pure sulle disposizioni doganali, poiché gli OE sono soprattutto importati nel nostro Paese e in minor quantità e varietà vi sono prodotti.

NUOVE FRONTIERE IN CAMPO FARMACOLOGICO: MICRODOSI DEGLI OLI ESSENZIALI

Marcella Saponaro

Medico specialista in ginecologia, agopuntura, medicina psicosomatica e nutripuntura. Via Chisimaio 9, Roma marcella.saponaro@gmail.com

Più di 25 anni fa il medico messicano Eugenio Martinez Bravo

scoprì che dosi subliminari di rimedi farmacologici e fitoterapici ottenevano lo stesso effetto terapeutico delle dosi ponderali comunemente usate. Da allora migliaia di medici e operatori sanitari hanno applicato e approfondito questa tecnica in vari Paesi dell'America Latina. La cosa è ancora più interessante se si considera che questi rimedi sono completamente privi degli effetti collaterali che normalmente esercitano a dosi maggiori. Viste le spese ingenti in campo sanitario e la percentuale altissima delle sindromi iatrogene, questa tecnica apre una finestra importante nella ricerca farmacologica così come nella medicina naturale.

Esiste infatti un aspetto interessantissimo che qui in Italia sta trovando applicazioni molto estese: l'uso delle microdosi con gli oli essenziali (OE). Se con le piante la diluizione apporta vantaggi relativi, in aromaterapia le microdosi favoriscono finalmente una somministrazione orale che con gli oli era sempre stata vista con prudenza. Le microdosi di OE non risultano irritanti per le mucose, sono semplici da preparare e hanno molte applicazioni cliniche in campo ginecologico, gastro intestinale, immunologico, respiratorio. Preziosi gli effetti antisettici così come quelli psicologici nei disturbi dell'umore. Tra gli oli più utilizzati citiamo la Melissa, l'Origano Hirtum, il Timo Timolo, l'Achillea, il Basilico, la Salvia, la Verbena.

La presentazione vuole condividere l'esperienza clinica di questi anni, con i suoi successi e con le conseguenti potenzialità di ricerca e di applicazione.

Eugenio Martinez Bravo, Maricela Villalta. "Guia terapeutica con microdosis", Editorial Herbal, Universidad de Zacatecas, 1998
Marcella Saponaro, Marco Santello "Microdosi" Marrapese Editore, 2007

UNA CREMA IN FARMACIA: ARTIGLIO DEL DIAVOLO COMPOSTO

Angela Tabarrini¹, Adriana Marquez Bagalà²

¹Farmacista in Roma, ²Farmacista in Roma

Composizione

Arnica E.I., Edera E.I., Boswellia E.S., Artiglio del diavolo E.I., Ginepro O.E., Rosmarino O.E., Maggiorana O.E., Cipresso O.E., Crema base al carbopol

Preparazione

La crema base al carbopol, ci permette di incorporare un quantitativo maggiore di estratti idroalcolici che sono la base di questa formulazione. Pesiamo tutti gli ingredienti e aggiungiamo alla crema base, mescolare fino a ottenere un composto omogeneo.

Caratteristiche e funzionalità

CIPRESSO: *Cupressus sempervirens* - famiglia Cupressaceae. Antireumatico, antisettico, antispasmodico, vasocostrittore,

antinfiammatorio e emostatico. Protegge le membrane cellulari e diminuisce la permeabilità dei vasi. Usato nei reumatismi, crampi muscolari e ferite.

GINEPRO: *Juniperus communis* - famiglia Cupressaceae.

Antisettico, antireumatico, rubefacente, vulnerario, antispasmodico, rubefacente. Utile nella gotta, artrite e reumatismi, nell'ateriosclerosi, negli inestetismi vascolari.

MAGGIORANA: *Origanum majorana* - famiglia Lamiaceae (Labiata).

Può essere confusa con altre specie di Maggiorana e Origano. Possiede azione antisettica, antispasmodica, sedativa, analgesica, vulneraria e vasodilatatrice, e rubefacente. Usato nelle cefalee, emicranie, tensione nervosa, geloni, contusioni, lombaggini, reumatismi, stiramenti e dolori muscolari.

ROSMARINO: *Rosmarinus officinalis* - famiglia Lamiaceae (Labiata).

Azione analgesica, antireumatica, antispasmodica, rubefacente e vulneraria. L'azione revulsiva e analgesica lo rende adatto nelle mialgie e negli stati di ipotonia muscolare e nei reumatismi, insufficienza circolatoria, contusioni e gotta.

ARTIGLIO DEL DIAVOLO: *Harpagophytum procubens* DC. - famiglia Pedaliaceae.

Antinfiammatorio, antidolorifico, antiessudativo. Osteoartrite al ginocchio, nelle artrite gravi, affezioni reumatiche e articolari, nelle affezioni dell'apparato motorio. Migliora la mobilità articolare e agisce sulla rigidità articolare. nei casi di lombalgia, artrosi del ginocchio e dell'anca e in altre patologie artritiche, spesso con efficacia superiore a molti farmaci.

ARNICA foglie: *Arnica montana* L. - famiglia Asteraceae (Composite).

Azione antinfiammatoria, analgesica, antisettica e antieccchimosi. Utile nei casi di dolori reumatici, articolari e muscolari, esiti di traumi, stiramenti, distorsioni. rimedio di elezione per tutti i traumi dell'apparato locomotore, tropismo specifico per la circolazione capillare favorisce riassorbimento di traumi e versamenti.

EDERA: *Hedera helix* - famiglia Araliaceae.

Possiede azione antinfiammatoria, antalgica, specie nelle malattie reumatiche iperalgiche, mialgiche e nevralgiche.

INCENSO INDIANO: *Boswellia serrata* - famiglia Burseraceae.

Pianta della medicina Ayurvedica. Azione antinfiammatoria, analgesica, si osserva una remissione del dolore, edema infiammazione, tumefazioni e rigidità articolare, nelle patologie degenerative.

CARATTERIZZAZIONE FITOCHIMICA E ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DELL'OLIO ESSENZIALE DI CEDRELOPSIS GREVEI H. BAILLON

Roberta Tardugno¹, Federica Pellati¹, Renato Brun²,
Gianni Sacchetti³, Luisa Pecorari⁴, Stefania Benvenuti¹

¹Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio

Emilia, Via G. Campi 183, 41125 Modena, Italy, roberta.tardugno@unimore.it

²Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Parma, Via G.P. Usberti 95/a, 43124 Parma, Italy, renato.bruni@unimore.it

³Dipartimento di Scienze della Vita e Biotecnologie, Università degli Studi di Ferrara, Corso Ercole I d'Este 32, 44121 Ferrara, Italy, gianni.sacchetti@unife.it

⁴Ophera s.r.l., Campogalliano, Modena, Italy, info@ophera.it

Cedrelopsis grevei H. Baillon, noto anche come Katrafay, è una pianta aromatica appartenente alla famiglia delle *Ptaeroxylaceae*, originaria del Madagascar. L'olio essenziale ottenuto dalla corteccia (Fig. 1) è largamente utilizzato nella medicina popolare per curare reumatismi e dolori muscolari; è anche impiegato come agente antibatterico e antimicotico. In Letteratura non è stata descritta un'indagine approfondita della composizione dell'olio essenziale di *C. grevei* e le relative proprietà antimicrobiche non sono state investigate in modo dettagliato.



Fig. 1: Corteccia di *Cedrelopsis grevei* H. Baillon

Questo studio è stato pertanto finalizzato alla caratterizzazione chimica completa dell'olio essenziale ottenuto dalla corteccia di *C. grevei*, insieme alla valutazione delle sue attività antimicrobiche verso batteri fitopatogeni. I campioni di olio essenziale, forniti dalla ditta Ophera s.r.l., sono stati caratterizzati e quantificati rispettivamente mediante tecniche GC-MS e GC-FID.

Utilizzando i dati di ritenzione e gli spettri di massa sono stati identificati 35 composti, che rappresentano l'80% della composizione totale dell'olio essenziale. L'analisi semi-quantitativa è stata effettuata utilizzando le aree sottese ai picchi cromatografici e applicando fattori di risposta relativi (RRFs) pari a 1. I componenti principali determinati nei campioni analizzati in questo studio sono rappresentati da ishwaraene (25.2%), β -elemene (10.3%), α -copaene (8.8%), calamenene (6.2%), β -selinene (3.4%), γ -muurolene (2.6%), α -muurolene (2.3%) e

β -pinene (2.0%). La composizione quantitativa dell'olio essenziale è stata inoltre valutata in modo più approfondito utilizzando i valori di RRFs predetti e i corrispondenti sperimentali, con il metil octanoato come standard interno (Tissot *et al.*, 2012).

In virtù della funzione in genere espletata in natura dagli oli essenziali accumulati nei tessuti tegumentali, l'olio essenziale di *C. grevei* è stato testato per la prima volta per la sua attività antimicrobica nei confronti di batteri fitopatogeni di interesse per l'agricoltura biologica, quali *Agrobacterium tumefaciens*, *A. vitis*, *Clavibacter michiganensis* sub. *michiganensis* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae*.

Tissot E, Rochat S, Debonnville C *et al.*, "Rapid GC-FID quantification technique without authentic samples using predicted response factors." *Flavour Frag. J.*, **2012**, 27:290-296.

POSSIBILE EFFICACIA DEGLI OLI ESSENZIALI DI LAVANDA E DI ALBERO DEL TÉ NEL TRATTAMENTO DELL'IRSUTISMO IDIOPATICO

Giacomo Tirabassi¹, Lara Giovannini¹, Francesca Paggi¹,
Giorgio Panin², Fiorenza Panin², Roberta Papa³, Marco Boscaro¹
and Giancarlo Balercia¹

¹Clinica di Endocrinologia, Dipartimento di Scienze Cliniche e Molecolari, Ospedale Umberto I, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia; ²Hulka S.r.l., Rovigo, Italy; ³Centro di Ricerca Socio-economica e Gerontologica, Area Scientifico-Tecnologica, INRCA (istituto nazionale riposo e cura anziani), Ancona, Italia.

Introduzione: L'irsutismo si definisce come l'eccesso di pelo terminale in aree corporee femminili androgeno-dipendenti. A questo proposito è stato suggerito che gli oli di Lavanda e di albero del Té potrebbero avere un'attività antiandrogenica¹.

Scopo. Valutare l'efficacia degli oli di Lavanda e di albero del Té nell'irsutismo idiopatico lieve.

Materiali e Metodi. È stato effettuato uno studio prospettico, in aperto, placebo-controllato, randomizzato: donne affette da irsutismo lieve idiopatico sono state assegnate casualmente al trattamento con spray contenenti oli essenziali di *Lavanda officinalis* e di *Melaleuca alternifolia* (gruppo T) (n=12) oppure placebo (gruppo P) (n=12) due volte/die per 3 mesi in regioni corporee affette da irsutismo. Una valutazione dell'irsutismo è stata effettuata al basale e dopo 3 mesi tramite il punteggio di Ferriman-Gallwey e misurando il diametro dei peli in alcune regioni corporee (mento, torace, cosce e braccia). Una valutazione ematologica e ormonale è stata eseguita al basale e dopo 3 mesi.

A. MINARDI & FIGLI S.R.L. Via Boncellino 32 - 48012 Bagnacavallo (Ra) - Tel. 0545 61460 - Fax 0545 60686

DAL 1930 LAVORAZIONE E COMMERCIO PIANTE OFFICINALI

www.minardierbe.it info@minardierbe.it

Risultati. Non sono state riscontrate variazioni significative in nessuno degli ormoni studiati nel gruppo T e P tra il basale e 3 mesi. Una diminuzione statisticamente significativa del punteggio di irsutismo e del diametro dei peli è stata trovata nel gruppo T, mentre non vi era un cambiamento significativo in questi parametri nel gruppo P; nel gruppo T la riduzione percentuale del diametro dei peli era significativamente maggiore rispetto al gruppo P (vedi figura 1). Nei due gruppi di soggetti studiati non si verificavano nel corso dello studio né effetti collaterali sistemici né locali né cambiamenti significativi nei valori ematologici.

Conclusioni. Gli oli essenziali di Lavanda e di albero del Té possono essere efficaci nella cura dell'irsutismo idiopatico lieve. Se ulteriori dati dovessero confermare i nostri riscontri, questo trattamento potrebbe rappresentare un sicuro, economico e pratico strumento nella cura di questo disturbo.

Henley DV, Lipson N, Korach KS, *et al.* "Prepubertal gynecomastia linked to lavender and tea tree oils.", 2007, 356:479-85.

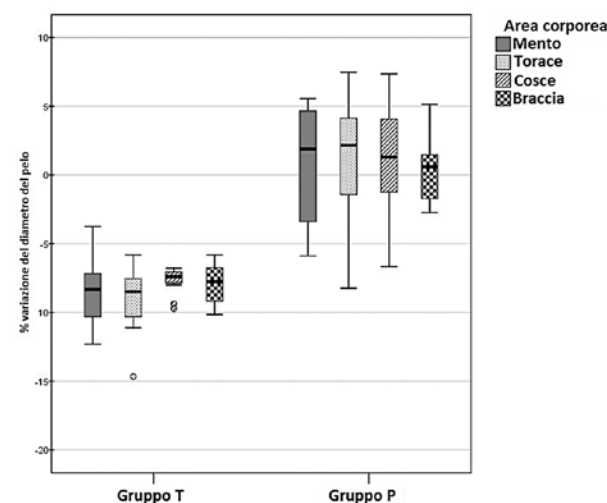


Figura 1: Variazione percentuale dei diametri dei peli tra il valore basale e quello dopo 3 mesi nei due gruppi.

INFLUENZA DEGLI OLI ESSENZIALI SUL SISTEMA IMMUNITARIO INNATO NELL'ERADICARE I LIEVITI INTRACELLULARI: STUDIO COMPARATIVO TRA TIMO ROSSO, FLUCONAZOLO E CASPOFUNGINA

Vivian Tullio, Narcisa Mandras, Valeria Allizond, Daniela Scalas, Janira Roana, Giuliana Banche, Annamaria Cuffini

Dip. Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università di Torino. vivian.tullio@unito.it

Il controllo clinico delle infezioni da lieviti, in particolare da *Candida albicans*, ha compiuto molti progressi negli ultimi anni, con la disponibilità di numerosi farmaci attivi contro i miceti. Tuttavia, l'insorgenza della farmaco-resistenza, la tossicità degli antimicotici e le problematiche associate alle terapie a lungo termine, hanno orientato la ricerca verso soluzioni alternative o di sostegno alla terapia classica, con l'utilizzo di prodotti naturali, come ad es. gli oli essenziali. Benché diano minori effetti collaterali dei farmaci sintetici, gli oli essenziali non sono innocui e la loro attività deve essere accompagnata da una valida base scientifica. Poiché l'efficacia terapeutica di un agente antimicrobico non dipende solo dalla sua azione sul microrganismo, ma anche dall'influenza esercitata sulle funzioni del sistema immunitario dell'ospite, è bene conoscere le interazioni che si instaurano tra miceti, fagociti e oli essenziali per favorire farmaci in grado di stimolare i meccanismi di difesa dell'ospite. Scopo dello studio è stato valutare l'influenza dell'olio essenziale di timo rosso (OE), a concentrazioni sub MIC/MIC, sull'attività di killing intracellulare dei PMN umani nei confronti di *C. albicans* timo-sensibile. L'attività di killing dell'OE è stata confrontata con quella del fluconazolo (FLZ) e della caspofungina (CAS), due dei farmaci antifungini più utilizzati nella profilassi e nel trattamento delle candidosi. Inoltre, per fornire un quadro più ampio di attività, il killing extracellulare di *C. albicans* da parte dell'OE, è stato paragonato con quello di CAS. I risultati mostrano che l'OE stimola significativamente l'uccisione dei lieviti intracellulari da parte dei PMN rispetto a quelli di controllo privi di OE, con percentuali di killing sovrapponibili a quelle osservate con FLZ. I sistemi contenenti CAS inibiscono ulteriormente la sopravvivenza dei lieviti evidenziando attività fungicida superiore a quella di OE e FLZ. In assenza di PMN, l'attività di OE, sovrapponibile a quella di CAS, è risultata solo fungistatica, suggerendo che l'aumentato killing intracellulare da parte dei PMN sia dovuto a un'interazione positiva tra OE e fagociti, analogamente a quanto osservato con FLZ e CAS. Lo studio evidenzia un promettente potenziale applicativo degli OE per lo sviluppo di prodotti non convenzionali con attività antifungina. Ulteriori indagini sono tuttavia necessarie per confermare la validità dei dati.

Tullio V, Mandras N, Allizond V *et al.*, "Positive interaction of thyme (red) essential oil with human PMNs in eradicating intracellular *Candida albicans*". *Planta Med.*, **2012**, 78:1633-35

ESSENTIAL OILS IN THE MANAGEMENT OF MIGRAINE: A PROOF OF PRINCIPLE OF AN AROMATHERAPEUTIC APPROACH

Sara Vecchi, Roberto Maffei Facino, Graziano Perugini, Fabrizio Gelmini

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Milan. vecchisara@tiscali.it; roberto.maffefacino@unimi.it; x.gensy@alice.it; fabrizio.gelmini@unimi.it

Aromatherapy (AT) is the fastest developing complementary medicine and is widely used to ameliorate the quality of life. Nevertheless, a scientific approach to this discipline can be considered still in its infancy, because of the complex chemistry of CNS activity variation (*i.e.* arousal state reduction, cognitive functions improvement, mood modulation) associated to terpene(s) inhalation, as well as to the sub/unconscious processing by limbic system and nonetheless to the pharmacological profile of the actives. Among the neurological disorders, migraine is largely widespread (15% of population) and its etiology can be summarized as follows: i) hypothalamic and glutamatergic pathway activation; ii) hyperresponsive brain cortex activity (inhibition of GABAergic pathway); iii) increased nociceptive signals transmission from the cranial *dura mater* to the brain; iv) a neurogenic inflammation of trigeminovascular nerve endings¹, associated with other symptoms (nausea, anxiety, vomiting, irritability and arousal state increasing). According to the more recent evidences in literature, aim of this work was to set up a mixture of EO's, characterized by GC-MS, for the management of migraine. Among the analgesic/sedative structures we selected: β -Linalool, (5.91%) and Linalyl acetate (7.14%) for their inhibitory effect on glutamatergic and agonistic effect on gabaergic pathways², as well as Borneol (1.04%) and Carvacrol (0.29%)³; Citronellol (0.89%), Geranial (1.51%), 1,8 Cineol (9.44) as anticonvulsant⁴; α - β -Pinene (12.57 -2.21% respectively), Bornyl acetate (2.6%) and Ylangene (0.046%) for decreasing the arousal level (positive fallout on anxiety symptoms)⁵; finally, β -Caryophyllene (6.26%) and Humulene (1.94%) for their anti-inflammatory activity⁶. The mixture, diluted in argan oil (2% w/w), was preliminary tested by 10 volunteers affected by migraine with aura: after application on superior perioral region at the first symptoms appearance, all the volunteers reported to the physician a remarkable reduction of the migraine symptoms (pain relief, calmness, aura attenuation) in the trial period (3 months). In addition they considered NSAIDs assumption no more necessary. We consider this approach as a proof of principle for further and necessary investigations on the potentialities of AT.

¹Restuccia *et al.*, *Cephalalgia* 2013, 33,12, 1035;

²Batista *et al.*, *Neuroscience Letters*, 2008,440, 299

³Lucindo *et al.*, *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(39), 6566

⁴Sousa *et al.*, 2011, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21, 427

⁵Matsubara *et al.*, *Flavour Fragr. J.*, 2011, 26, 204

⁶Fernandes *et al.*, *Eur J Pharmacol.* 2007, 569, 3, 228

ATTIVITÀ ERBICIDA DEGLI OLI ESSENZIALI

Mercedes Verdeguer

Istituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València. merversa@doctor.upv.es

Da quando l'uomo ha iniziato a coltivare le piante, con lo sviluppo dell'agricoltura, ha dovuto lottare contro insetti, malattie ed

erbe infestanti (Freed, 1982). Queste ultime sono sempre state controllate con l'impiego di erbicidi sintetici, però il loro uso indiscriminato ha provocato la comparsa di erbe resistenti con conseguenze negative per l'ambiente e per gli esseri viventi (Vyvan, 2002). La crescente attenzione sia da parte delle istituzioni che dei consumatori verso "alimenti di qualità e protezione ambientale" ha provocato un cambiamento nelle strategie di lotta alle infestanti, ricercando pratiche agricole più rispettose per l'ambiente (Frachiolla e Montemurro, 2007). I prodotti naturali hanno il vantaggio di essere sostanze già presenti nel ciclo della natura, sono più facilmente degradabili, hanno diversi meccanismi d'azione e non provocano problemi di resistenze (Dayan *et al.*, 1999). Gli oli essenziali, in particolare, rientrano tra i meccanismi di difesa delle piante, e la loro attività erbicida viene svolta attraverso l'inibizione della germinazione di semi di piante infestanti e la sua crescita (Tworkoski, 2002; Angelini, 2003). Tuttavia, il loro uso presenta alcuni problemi, come le difficoltà di applicazione e manipolazione e la rapida volatilità, che ne diminuiscono l'attività inibente (Dayan, 2009). Per migliorare le loro possibilità di inserimento in alternativa agli erbicidi sintetici devono essere individuate formulazioni più stabili. In questo lavoro è stata studiata l'attività erbicida di diversi oli essenziali e di un formulato a base di olio di *Thymus capitatus* microincapsulato nei confronti di alcune specie infestanti sia in saggi *in vitro* che in serra.

Angelini LG, Carpanese G, Cioni PL, *et al.*, "Essential oils from Mediterranean lamiaceae as weed germination inhibitors." *J Agr Food Chem.*, **2003**, 51:6158-6164.

Dayan F, Romagni J, Tellez M, *et al.*, "Managing weeds with natural products-harnessing the power of natural products in weed management." *PesticOutlook.*, **1999**, 10:185-188.

Dayan FE, Cantrell, CL, Duke, SO, "Natural products in crop protection." *BioorganMedChem.*, **2009**, 17, 4022-4034.

Frachiolla M, Montemurro P, "Sostanze di origine naturale ad azione erbicida." *Ita. J Agron/RivAgron.*, **2007**, 4:463-476.

Freed VH.; What are pesticides and how they are used?, en: "An agromedical approach to pesticide management: some health and environmental considerations" University of Miami School of Medicine in cooperation with the Agency for International Development (USAID) and Consortium for International Crop Protection, **1982**, pp. 17-49.

Tworkoski T, "Herbicide effects of essential oils." *Weed Sci.*, **2002**, 50:425-431. Vyvan, JR, "Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals." *Tetrahedron.*, **2002**, 58:1631-1646.

COMPOSTI VOLATILI NEGLI OLII ESSENZIALI DI ALCUNE SPECIE ITALIANE CRITICHE APPARTENENTI AL GENERE *CENTAUREA*.

Lucia Viegi¹, Roberta Vangelisti², Aldo Tava³

¹ Dipartimento di Biologia, Unità di Botanica, Università di Pisa, via L. Ghini 13, 56126 Pisa, lviegi@biologia.unip.it;

² Museo Botanico, Università di Pisa, via L. Ghini 13, 56126 Pisa;



Foto di K. L. Sawyer

Centaurea sp.

³ Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura - Centro di Ricerca per le Produzioni Foraggere e Lattiero Casearie, viale Piacenza 29, 26900 Lodi

Il nostro gruppo di lavoro dal 2007 indaga sulla composizione degli oli essenziali di alcune specie endemiche o critiche di *Centaurea* (tribù Cardueae, Asteraceae) della flora italiana. In particolare sono state studiate: *Centaurea arachnoidea* e *C. montis-borlae*, endemiche delle Alpi Apuane; *C. paniculata* subsp. *carueliana* e *C. rupestris* del Monte Ferrato; *Centaurea veneris* dell'Isola Palmaria, *C. gymnocarpa* dell'Isola di Capraia; *C. ilvensis* e *C. aetaliae* dell'Isola d'Elba. I risultati delle analisi gascromatografiche degli oli essenziali ottenuti mediante idrodistillazione di foglie fresche e capolini hanno evidenziato che i maggiori costituenti della frazione volatile sono i sesquiterpeni, che variano a seconda della specie e della parte della pianta analizzata: 18.9-28.3% del totale in *C. arachnoidea*; 57.1-73.2% in *C. montis-borlae*; 25.6% in *C. paniculata* subsp. *carueliana*; 74.5% in *C. rupestris*; 61.7-53.5% in *C. veneris*; 34.3-37.1% in *C. gymnocarpa*; 49.1% in *C. ilvensis*; 49.8% in *C. aetaliae*. Tra questi il germacrene D è risultato essere il costituente

principale, con valori compresi tra il 13.8 e il 46.5% del totale. In tutte le specie esaminate sono stati identificati altri composti quali alcoli, aldeidi, acidi, idrocarburi, esteri e monoterpeni, in quantità minore (Viegi *et Al.*, 2007, 2010, 2011; Tava *et Al.*, 2010). Inoltre, da queste prime indagini sono stati evidenziati anche alcuni composti specie-specifici che sembra possano avere un probabile significato chemotassonomico.

Tava A, Esposti S, Boracchia M *et Al.* "Volatile constituents of *Centaurea paniculata* subsp. *carueliana* and *C. rupestris* s.l. (Asteraceae) from Mt. Ferrato (Tuscany, Italy)". *J Essential Oil Res*, **2010**, 22: 1-5.

Viegi L, Tava A, Esposti S *et Al.* "Essential oil composition of *Centaurea arachnoidea* and *C. montis-borlae* (Asteraceae), from Apuan Alps (Tuscany, Italy)". Abstracts, XII Optima Meeting, 10-16 September, **2007**, Pisa, Italy:196.

Viegi L, Boracchia M, Cecotti R *et Al.* "Volatile components of two endemic species from the Apuan Alps (Tuscany, Italy) *Centaurea arachnoidea* and *C. montis-borlae* (Asteraceae)". *Natural Prod. Commun.*, **2010**, 5(8): 1285-1290.

Viegi L, Tava A, Cecotti R *et Al.* "Essential oil composition of some *Centaurea* sp. (Asteraceae), from different Italian Isles". 2nd Botanical Conference in Menorca, "Islands and Plants: preservation and understanding of flora on Mediterranean Islands", Es Mercadal, Menorca, April, 26th-30th, **2011**