

8

Bioaktivne spojine vodnih in organskih izvlečkov laškega smilja

Katja Kramberger

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



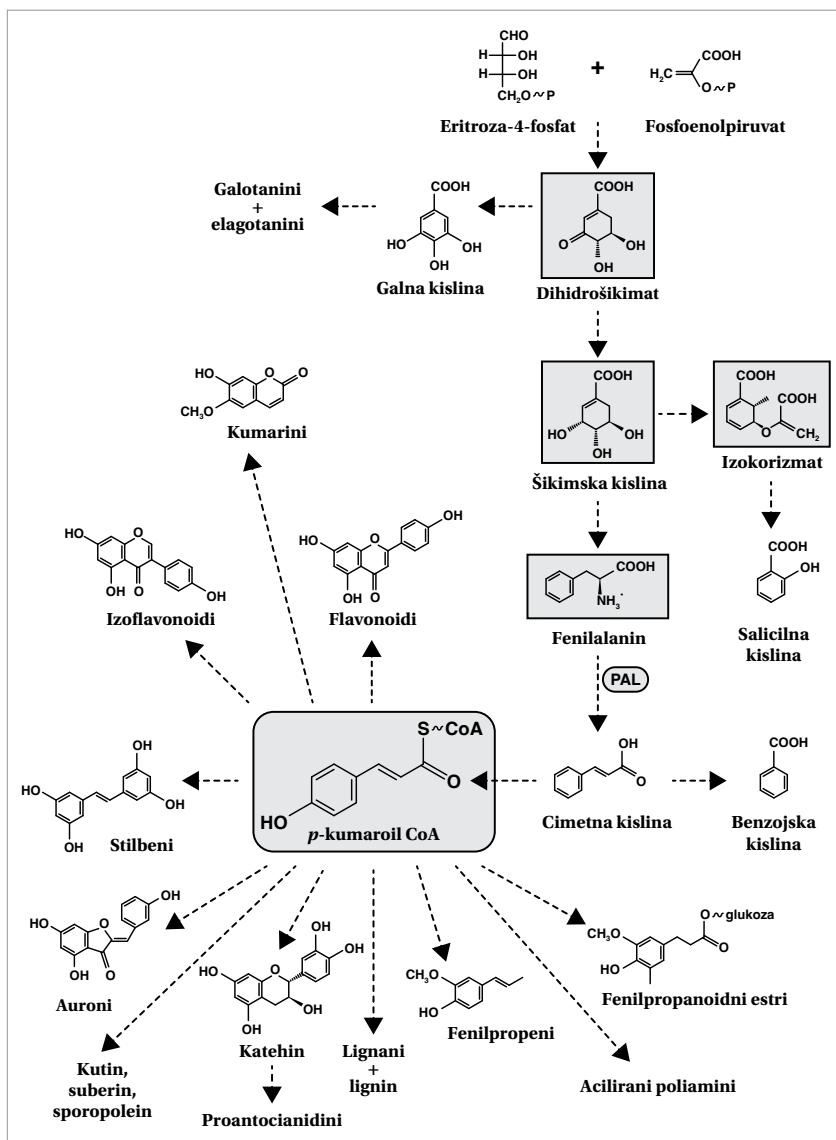
© 2025 Katja Kramberger

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.8>

Uvod

Ekstrakcija s topili je zelo pogost način ekstrakcije bioaktivnih spojin, saj je postopek precej enostaven in daje relativno dobre izkoristke. S to metodo lahko, glede na izbiro ustreznega topila, izoliramo zelo širok nabor spojin. Ekstrakcija z organskimi topili je poleg hidrodestilacije najpogostejši postopek pridobivanja izvlečkov iz laškega smilja.

Glavna skupina spojin, ki je prisotna v izvlečkih smilja, pridobljenih z ekstrakcijo z organskimi topili, so polifenoli. Gre za zelo kompleksno skupino sekundarnih presnovkov rastlin, saj je do danes znanih že prek 8.000 fenolnih spojin (Pandey in Rizvi 2009). Z organskimi topili lahko iz laškega smilja izoliramo: fenolne kisline in estre fenolnih kislin ter njihove derivate, flavonoide, acetofenone, floriglucinoles, lignane, kumarine in kumarate. Drugi razredi spojin so še pironi, tremetoni, terpeni in lipidi. Najpogostejše uporabljana topila so aceton, metanol in etanol, nekateri raziskovalci so uporabili tudi kloroform, petroleter, diklorometan, dietil eter ali vodo (Maksimovic idr. 2017). Sestava izvlečka je tako močno pogojena z izbiro topila – v vodnih izvlečkih smilja so prisotne predvsem polarnejše fenolne spojine (npr. hidroksicimetne kisline in flavonoidi), v etanolnem ali metanolnem izvlečku so lahko prisotne tudi že manj polarne spojine (npr. tremetoni in terpeni),



Slika 1 Biosintezne poti fenolnih spojin (prirejeno po Vogt 2010)

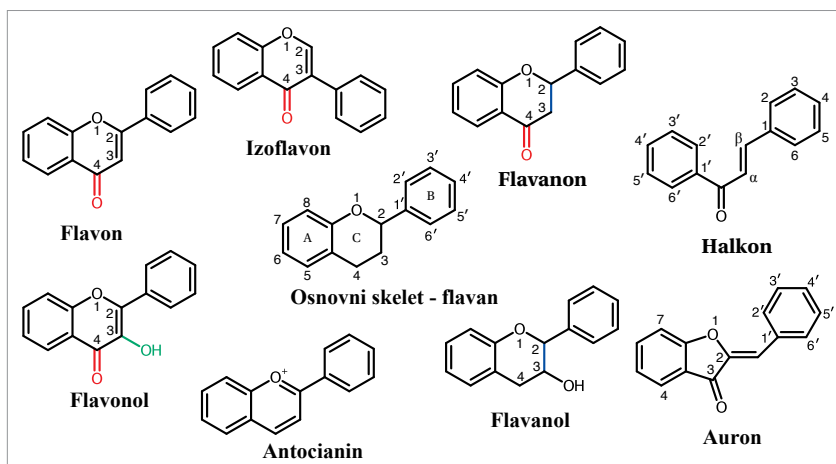
v acetonskem izvlečku pa večinoma bolj nepolarne spojine (npr. pi-
roni, tremetoni, santinoli). V nadaljevanju bomo podrobneje opisali
kemijsko strukturo omenjenih kemijskih razredov in navedli predstavi-
nike, ki so zastopani v vodnih oz. organskih izvlečkih laškega smilja.

Kemijska klasifikacija fenolnih spojin

Osnova vsem fenolnim spojinam je fenol – benzenov obroč, substituiran z eno ali več hidroksilnimi funkcionalnimi skupinami (Lin idr. 2016). Večinoma se nahajajo v konjugirani obliki, torej je na hidroksilno skupino vezana ena ali več enot sladkorja, lahko pa je sladkor vezan tudi neposredno na aromatski obroč. Možne so tudi povezave z drugimi spojinami, npr. karboksilnimi ali organskimi kislinami, amini, lipidi ali drugimi fenoli (Pandey in Rizvi 2009).

Fenolne spojine se v rastlinah sintetizirajo preko skupnega intermedija, šikimske kisline. Šikimatna pot se začne z eritroza-4-fosfatom in fosfoenol-piruvatom (angl. *phosphoenol pyruvate* – PEP), ki sta produkta presnove sladkorjev, in sicer pentoza fosfatne poti in glikolize. Najprej nastane dihidrošikimat, nato šikimska kislina, iz nje pa fenilalanin. Fenilalanin se s fenilalanin-amonijak-liazo (angl. *phenylalanine ammonia lyase* – PAL) pretvori do prvega fenilpropanoida (C_6-C_3), cimetine kisline. Fenilpropanoidna pot se nato nadaljuje do ključnega presnovka para-kumaroil koencima A, ki je izhodiščna molekula za vse ostale fenolne spojine (Vogt 2010). Shema sinteznih poti različnih fenolnih spojin je prikazana na sliki 1.

Fenolne spojine razvrščamo v različne razrede glede na število fenolnih obročev, ki so prisotni v molekuli, in na podlagi strukturnih elementov, ki povezujejo posamezne fenolne obroče med seboj. Glavni razredi so: fenolne kisline, flavonoidi, stilbeni in lignani. Fenolne kisline oz. fenolkarboksilne kisline so aromatske organske spojine, ki v molekuli vsebujejo vsaj eno karboksilno in eno fenolno hidroksilno skupino. Navadno so derivati bodisi benzojske bodisi cimetine kisline, zato jih nadalje delimo na hidroksibenzojske in na hidroksicimetine kisline. Derivati benzojske kisline se lahko pojavljajo v prosti obliki ali v obliki estrov in glikozidov. Pogosti predstavniki so salicilna, galna in vanilna kislina. Derivati cimetine kisline se v rastlinah največkrat pojavljajo v obliki estrov, zelo pogosti so, denimo, estri s kinsko kislino. Najpogostejše proste kisline so kavna, ferulna in p-kumarna kislina (Pandey in Rizvi 2009). Ester med kavno kislino in kinsko kislino je zelo razširjena klorogenska kislina oz. 5-kafeoilkinska kislina. Obstaja več izomerov te spojine, npr. neoklorogenska, kriptoklorogenska kislina, in njihovih derivatov, npr. dikafeoilkinske in trikafeoilkinske kisline (Clifford idr. 2017). Flavonoidi so naslednja velika skupina fenolnih spojin, katerih osnovno strukturo sestavljata dva aromatska obročja, med seboj povezana s tremi ogljikovimi atomi.



Slika 2 Osnovne kemijske strukture flavonoidov

En obroč navadno nastane iz poliketidne verige acetatov (aktivirane malonilne kisline), drugi pa po šikimatni poti. Vsi flavonoidi (znanih je okoli 3.000) imajo enak biosintezni izvor, zato so njihove strukture zelo podobne. Osnova je 2-fenilkromanski skelet (flavan), med seboj pa se razlikujejo po oksidacijski stopnji piranovega obroča. Delimo jih na: flavanone (ketoskupina na 4. mestu piranovega obroča), flavanole (hidroksi skupina na 3. mestu piranovega obroča), flavone (dvojna vez med 2. in 3. mestom), flavonole (dvojna vez med 2. in 3. mestom ter hidroksi skupina na 3. mestu), izoflavone (benzenov obroč na 3. namesto 2. mestu piranovega obroča) in antocianine (dve dvojni vezi v piranovem obroču in pozitivni naboj na kisiku – flavilijev kation) (slika 2). Spojine znotraj posamezne skupine se razlikujejo glede na število in postavitev hidroksilnih skupin in stopnjo alkilacije oz. glikozilacije (Pandey in Rizvi 2009). Sladkorna komponenta je lahko mono-, di- ali trisaharid, najpogostejši sladkorji pa so glukoza, galaktoza, ramnoza in arabinoza. Pri O-glikozidih, ki so najpogostejši, je lahko glikozilirana katera koli hidroksilna skupina, največkrat pa je na 7. ali 3. mestu. Posamezni monosaharidi so lahko acilirani, znanih je tudi nekaj sulfatov. Manj pogosti so C-glikozidi, pri katerih se ogljik sladkorja poveže s 6. ali 8. ogljikom aglikona. Nekateri glikozidi so tudi hkrati O- in C-glikozidi. Poleg omenjenih razredov flavonoidov poznamo še halkone, ki imajo piranski obroč odprt, in aurone, kjer je namesto piranskega furanskega obroč (Beecher 2003). Stilbeni vsebujejo dve fenilni skupini, povezani z metilenskim mostom. Najbolj preučevan stilben je resveratrol. Lignani so difenolne spojine, ki v strukturi

vsebujejo 2,3-dibenzilbutan, ki se tvori z dimerizacijo dveh ostankov cimetnih kislin (Pandey in Rizvi 2009).

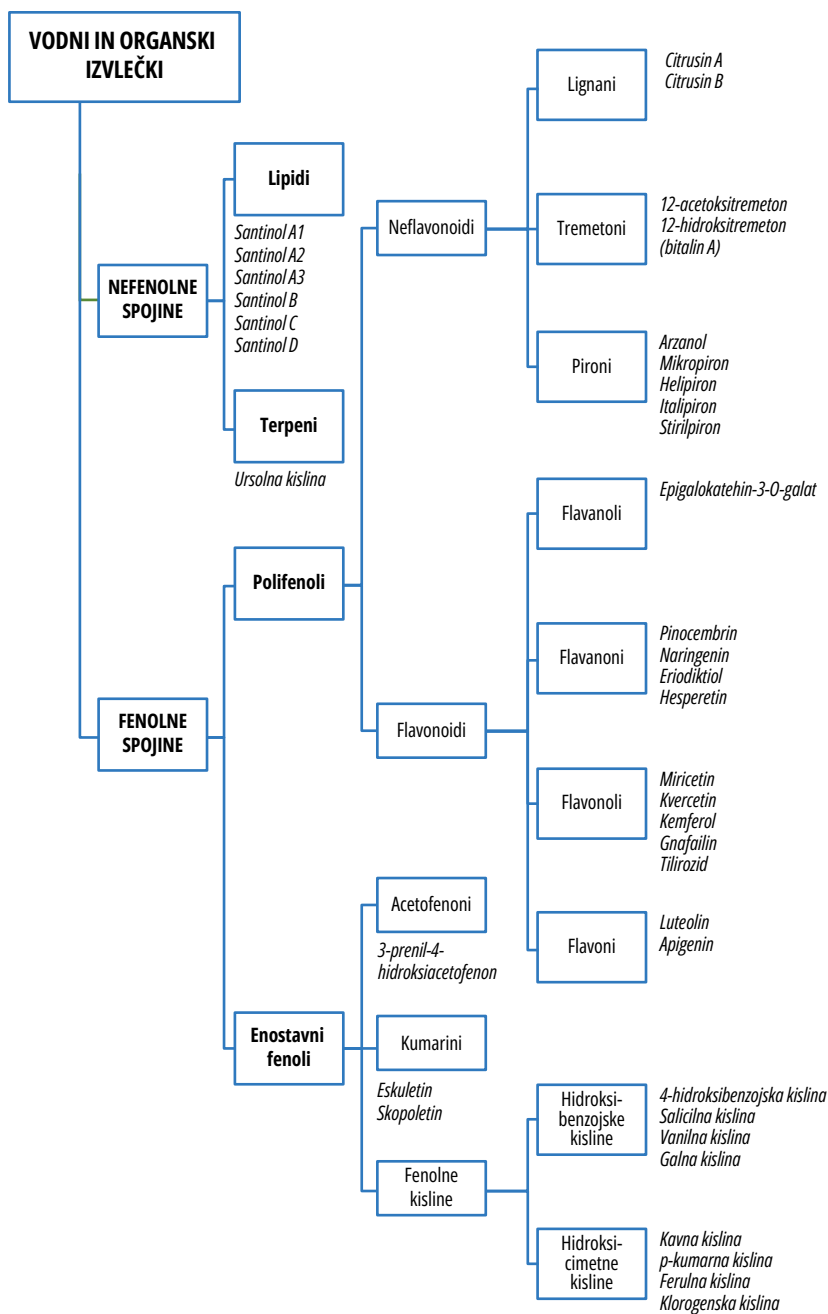
Fenolne in druge spojine v izvlečkih laškega smilja

Vodni izvlečki

Kemijsko analizo vodnih izvlečkov smilja so preučevali Maja Kazazic idr. (2016), Catarina G. Pereira idr. (2017) ter Katja Kramberger idr. (2020). Maja Kazazic idr. (2016) so določili samo količino celokupnih fenolnih spojin v vodnem izvlečku, ki je za laški smilj znašala $1569,00 \pm 17,32$ mg ekvivalentov galne kisline/100 g suhe mase (Kazazic idr. 2016). Catarina G. Pereira idr. (2017) so poleg kvantifikacije celokupnih fenolnih spojin in posameznih kemijskih razredov izvedli še identifikacijo posameznih spojin, prisotnih v poparkih ter prevretkih različnih delov rastline laškega smilja. Prevretki so vsebovali več celokupnih fenolnih spojin, največ jih je bilo v cvetovih. Prevladovala so klorogenska, kinska in dikafeoilkinske kisline ter flavonoida pinocembrin in gnafalin A (Pereira idr. 2017). Podobno sestavo poparkov smo določili tudi v naši raziskavi (Kramberger idr. 2020), kjer so prav tako prevladovali kafeoilkinske kisline in flavonoidi. Naslednji po zastopanosti so bili pironi. Izvlečki, pripravljeni z maceracijo v hladni vodi ob dodatku ultrazvoka, pa so vsebovali predvsem fenolne kisline (Kramberger idr. 2020).

Etanolni izvlečki

Etanol velja za najpogostejše uporabljano topilo za ekstrakcijo spojin iz laškega smilja. Z raziskavami kemijske sestave izvlečkov laškega smilja so se začeli ukvarjati Maffei Facino idr. (1988), Maffei Facino idr. (1990), Pietta idr. (1991) ter Pietta idr. (1992), ki so izolirali predvsem flavonoide (npr. apigenin, luteolin, gnafalin, naringenin) in njihove glikozide (npr. glikozide kvercetina, kemferola, naringenina, luteolina in apigenina) (Maffei Facino idr. 1988; Maffei Facino idr. 1990; Pietta idr. 1991; Pietta idr. 1992). Zapesochnaya idr. (1990) ter Zapesochnaya idr. (1992) so izolirali predvsem hidroksicimetne kisline (kavno, p-kumarno, ferulno kislino) in njihove estre (npr. kafeoilkinske in dikafeoilkinske kisline) (Zapesochnaya idr. 1990; Zapesochnaya idr. 1992). Daniela Rigano idr. (2013) ter Daniela Rigano idr. (2014) so iz etanolnega izvlečka izolirali predvsem derivate acetofenona, tremetone (acilbenzofurane). Med njimi sta po aktivnosti izstopala 12-acetoksitremeton in [2,3-dihidro-2-[1-(hidroksimetil)etenil]-5-benzofuranil]-etanon (Rigano idr. 2013; Rigano idr. 2014).



Slika 3 Kemijski razredi fenolnih in nefenolnih spojin ter njihovi predstavniki, zastopani v izvlečkih laškega smilja

Metanolni izvlečki

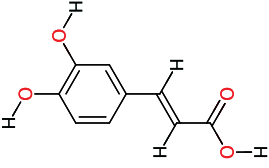
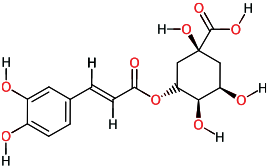
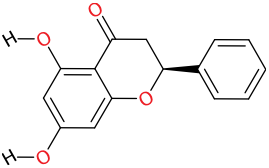
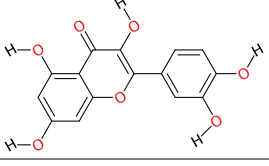
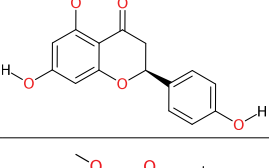
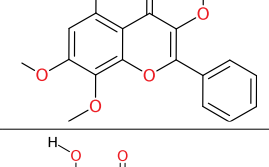
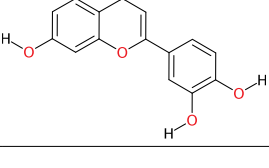
Araceli Sala idr. (2001), Araceli Sala idr. (2002), Ariceli Sala, Maria Carmen Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador Máñez, Rosa M. Giner in Jose-Luis Rios (2003) ter Araceli Sala, Maria Carmen Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador Máñez, Rosa M. Giner, Miguel Cerdá-Nicolás in José Luis Rosí (2003) so preučevali metanolne izvlečke laškega smilja, iz katerih so izolirali flavonoide (pinocembrin, tilirozid, gnafalin) in acetofenone. Izmed acetofenonov sta bila 4-hidroksi-3-(2-hidroksi-3-izopentenil)acetofenon in 4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon najbolj biološko aktivna (Sala idr. 2001; Sala idr. 2002; Sala, Recio, Schinella idr. 2003; Sala, Recio, Schinella, Máñez idr. 2003). Ana Laura De La Garza idr. (2013) so iz metanolnih izvlečkov izolirali tudi številne fenolne kisline (galno, kavno, klorogensko kislino) in flavonoide, flavanone (naringenin in njegove glikozide), flavonole (kemferol in njegove glikozide ter miricetin glikozid), flavone (metoksiluteolin) in flavanole (epigalokatehin-3-O-galat) (De La Garza idr. 2013). Podobno sestavo so metanolnemu izvlečku določili tudi Angela Mari idr. (2014). V izvlečku so bile kavna, klorogenska in dikafeoilkinske kisline, od flavonoidov pa glikozidi kvercetina, kemferola in izoramnetina. Določili pa so še drimanski seskviterpen, 12-hidroksitreton in gnafaliol (Mari idr. 2014). Brigida D'Abrosca idr. (2013) so v metanolnem izvlečku določili predvsem stirilpirone, neolignane in oksineolignane, med katerimi sta bila citruzin A in citruzin B (D'Abrosca idr. 2013).

Iz metanolnega izvlečka so Rosa Tundis idr. (2005) po frakcionaciji z n-heksanom izolirali tudi mono- in seskviterpene (α -terpinolen, trans-kariofilen in neril acetat) (Tundis idr. 2005).

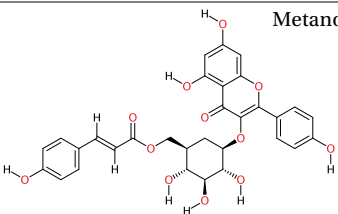
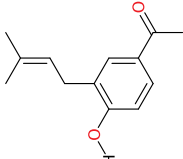
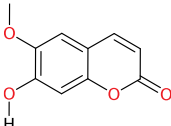
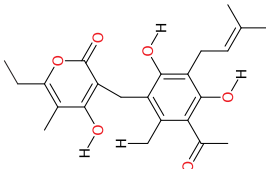
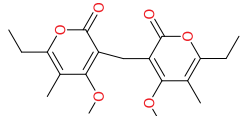
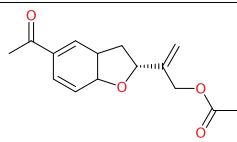
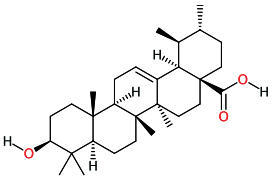
Acetonski izvlečki

Najbolj preučevana spojina, značilna za laški smilj, je arzanol – prenilirani heterodimerni floriglucinol α -piron, ki so ga prvič izolirali Appendino idr. (2007) iz acetonskega izvlečka. Arzanol ima pleiotropno delovanje, aktivni pa so tudi nekateri drugi pironi, npr. helipiron in mikropiron (Rosa idr. 2007). Poleg pironov so bili v acetonskem izvlečku prisotni tudi številni tremetoni (Rosa idr. 2007; Appendino idr. 2007). Tagliatela-Scafati idr. (2013) so poleg pironov in tremetonov izolirali še nekatere druge manj polarne spojine, kot so seskviterpena neril acetat in ω -oleoiloksilinalool, triterpenoid ursolna kislina in neobičajna skupina lipidov, imenovana santinoli. Santinoli so angeolirani gliceridi, za katere je značilna razvejana acilna ali keto-acilna veriga. Gre za nov razred spojin, ki so bile

Preglednica 1 Seznam nekaterih najznačilnejših spojin, izoliranih iz laškega smilja

Ime spojine in razreda	Kemijska struktura*	Ekstrakcijsko topilo**	Izkoristek ekstrakcije***
Kavna kislina (fenolna kislina)		Metanol (De La Garza idr. 2013; Mari idr. 2014), etanol (Zapesochnaya idr. 1990), voda (Pereira idr. 2017)	0,0067 % (NS) (De La Garza idr. 2013), 0,00042 % (cvetovi) (Mari idr. 2014), 0,0057–0,015 % (nadzemni deli ali cvetovi) (Pereira idr. 2017)
Klorogenska kislina (ester fenolne kisliline)		Metanol (De La Garza idr. 2013; Mari idr. 2014), etanol (Zapesochnaya idr. 1990), voda (Pereira idr. 2017)	0,104 % (NS) (De La Garza idr. 2013), 0,045 % (cvetovi) (Mari idr. 2014), 0,52–0,77 % (nadzemni deli ali cvetovi) (Pereira idr. 2017)
Pinocembrin (flavonoid)		Aceton (Wollenweber idr. 2005), metanol (Sala idr. 2002)	NA (NS) (Wollenweber idr. 2005), NA (nadzemni deli) (Sala idr. 2002)
Kvercetin (flavonoid)		Metanol (Mari idr. 2014), voda (Pereira idr. 2017)	0,015 % (cvetovi) (Mari idr. 2014), 0,001–0,0015 % (nadzemni deli ali cvetovi) (Pereira idr. 2017)
Naringenin (flavonoid)		Metanol	0,023 % (NS) (De La Garza idr. 2013)
Gnafalin (flavonoid)		Metanol	0,03 % (nadzemni deli) (Schinella idr. 2007)
Luteolin (flavonoid)		Etanol	NA (cvetovi) (Maffei Facino idr. 1988)

Bioaktivne spojine vodnih in organskih izvlečkov laškega smilja

Ime spojine in razreda	Kemijska struktura*	Ekstrakcijsko topilo**	Izkoristek ekstrakcije***
Tilirozid (glikoziliran flavonoid)		Metanol	0,0063 % (nadzemni deli) (Schinella idr. 2007), 0,0015 % (cvetovi) (Mari idr. 2014)
4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil) acetofenon (acetofenon)		Metanol	0,5 % (nadzemni deli) (Sala idr. 2001)
Skopoletin (kumarin)		Kloroform (Karasartov idr. 1992), superkritični CO ₂ (Jokić idr. 2016)	NA (cvetovi) (Karasartov idr. 1992), 0,001933 % (cvetovi) (Jokić idr. 2016)
Arzanol (piron)		Aceton	0,078 % (nadzemni deli) (Appendino idr. 2007), 0,064 % (nadzemni deli in cvetovi) (Rosa idr. 2007), 0,32 % (nadzemni deli) (Tagliatela-Scafati idr. 2013)
Helipiron (piron)		Aceton	0,025 % (nadzemni deli) (Appendino idr. 2007)
12-acetoksi tremeton (tremeton)		Etanol (Rigano idr. 2013), aceton (Rosa idr. 2007)	0,0026 % (cvetovi) (Rigano idr. 2014)
Ursolna kislina (triterpen)		Aceton (Tagliatela-Scafati idr. 2013), metanol (Sala idr. 2001)	0,40 % (nadzemni deli) (Tagliatela-Scafati idr. 2013), NA (nadzemni deli) (Sala idr. 2001)

Opombe * Slike 2D-struktur spojin smo pridobili iz prosto dostopne podatkovne baze PubChem. ** Navedeno je samo primarno topilo, ki so ga uporabili v postopku ekstrakcije. *** Izkoristke ekstrakcij smo izračunali iz navedenih mas izoliranih spojin glede na količino izhodnega rastlinskega materiala. Navajamo tudi del rastline, ki je bil uporabljen za ekstrakcijo, če so to avtorji zapisali. NA – podatek ni na voljo, NS – ni specficirano.

izolirane samo iz laškega smilja, zato so jih poimenovali po začetniku raziskav te rastline, Leonardu Santiniju (Taglialatela-Scafati idr. 2013). Nasprotno so Wollenweber idr. (2005) iz acetonskega izvlečka izolirali predvsem flavonoide (galangin, gnafalin, pinocembrin in metilni etri galangina, kemferola, herbacetina, kvercetina in gosipetina) (Wollenweber idr. 2005).

Izvillečki, pripravljene z drugimi topili

Tomás-Barberán idr. (1990) ter Karasartov idr. (1992) so za ekstrakcijo topilo uporabili kloroform. Tomás-Barberán idr. (1990) so za glavno bioaktivno spojino v tem izvlečku določili 4-hidroksi-3(izopoenten-2-il) acetofenon, Karasartov idr. (1992) pa so s kolonsko kromatografijo izolirali predvsem kumarine (eskuletin, skopoletin in izoskopoletin) in flavonoide (kemferol in 3,5,7-tihidroksi-8-metoksiflavon ter 3,5-dihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon) (Tomás-Barberán idr. 1990; Karasartov idr. 1992). Antonia Nostro idr. (2000) so za ekstrakcijo uporabili dietil eter. Izvleček je vseboval predvsem kumarine in flavonoide, prisotni pa so bili tudi steroidi (Nostro idr. 2000).

V preglednici 1 so zbrane nekatere najznačilnejše spojine, izolirane iz laškega smilja. Navedeni so podatki o imenu in kemijski strukturi spojine, uporabljenem ekstrakcijskem topilu in izkoristku ekstrakcije (mase izolirane spojine glede na začetno maso rastlinskega materiala).

Viri

- Appendino, G., M. Ottino, N. Marque idr. 2007. »Arzanol, an Anti-Inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol Alpha-Pyrone from *Helichrysum italicum* Ssp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 70 (4): 608–612.
- Beecher, G. R. 2003. »Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake.« *The Journal of Nutrition* 133 (10): 3248S–3254S.
- Clifford, M. N., I. B. Jaganath, I. A. Ludwig in A. Crozier. 2017. »Chlorogenic Acids and the Acyl-Quinic Acids: Discovery, Biosynthesis, Bioavailability and Bioactivity.« *Natural Product Reports* 34 (12): 1391–1421.
- D'Ambrosia, B., E. Buommino, G. D'Angelo idr. 2013. »Spectroscopic Identification and Anti-Biofilm Properties of Polar Metabolites from the Medicinal Plant *Helichrysum italicum* Against *Pseudomonas aeruginosa*.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 21 (22): 7038–7046.
- De La Garza, A. L., U. Etxeberria, M. P. Lostao idr. 2013. »*Helichrysum* and Grapefruit Extracts Inhibit Carbohydrate Digestion and Absorption,

- Improving Postprandial Glucose Levels and Hyperinsulinemia in Rats.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (49): 12012–12019
- Jokić, S., M. Rajić, B. Bilić in M. Molnar. 2016. »Supercritical Extraction of Scopoletin from *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Flowers.« *Phytochemical Analysis* 27 (5): 290–295.
- Karasartov, B. S., V. A. Kurkin in G. G. Zapesochnaya. 1992. »Coumarins and Flavonoids of the Flowers of *Helichrysum Italicum*.« *Chemistry of Natural Compounds* 28 (5): 504–505.
- Kazazic, M., M. Djapo in E. Ademovic. 2016. »Antioxidant Activity of Water Extracts of Some Medicinal Plants from Herzegovina Region.« *International Journal of Pure and Applied Bioscience* 4 (2): 85–90.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, D. Bandelj idr. 2020. »HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS Determination of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Comparison of the Hydroalcoholic and Water Extracts from Two *Helichrysum italicum* Species«. *Metabolites* 10 (10): 403.
- Lin, D., M. Xiao, J. Zhao idr. 2016. »An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes.« *Molecules* 21 (10): 1374.
- Maffei Facino, R., M. Carini, M. Mariani in C. Cipriani. 1988. »Anti Erythematous and Photoprotective Activities in Guinea Pigs and in Man of Topically Applied Flavonoids from *Helichrysum Italicum* g. Don.« *Acta Therapeutica* 14 (4): 323–346.
- Maffei Facino, R., M. Carini, L. Franzoi, O. Pirola in E. Bosio. 1990. »Phytochemical Characterization and Radical Scavenger Activity of Flavonoids from *Helichrysum italicum* G. Don (Compositae).« *Pharmacological Research* 22 (6): 709–721.
- Maksimovic, S., V. Tadic, D. Skala in I. Zizovic. 2017. »Separation of Phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An Analysis of Different Isolation Techniques and Biological Activity of Prepared Extracts.« *Phytochemistry* 138:9–28.
- Mari, A., A. Napolitano, M. Masullo, C. Pizza in S. Piacente. 2014. »Identification and Quantitative Determination of the Polar Constituents in *Helichrysum italicum* Flowers and Derived Food Supplements.« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 96:249–255.
- Nostro, A., M. P. Germanò, V. D'Angelo, A. Marino in M. A. Cannatelli. 2000. »Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity.« *Letters in Applied Microbiology* 30 (5): 379–384.
- Pandey, K. B., in S. I. Rizvi. 2009. »Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease.« *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2 (5): 270–278.

- Pereira, C. G., L. Barreira, S. Bijttebier idr. 2017. »Chemical Profiling of Infusions and Decoctions of *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS and *in vitro* Biological Activities Comparatively with Green Tea (*Camellia sinensis*) and Rooibos Tisane (*Aspalathus linearis*).« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 145:593–603.
- Pietta, P., P. Mauri, R. M. Facino in M. Carini. 1992. »Analysis of Flavonoids by MECC with Ultraviolet Diode Array Detection.« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 10 (10–12): 1041–1045.
- Pietta, P., P. Mauri, C. Gardana, R. M. Facino in M. Carini. 1991. »High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Flavonoid Glucosides from *Helichrysum italicum*.« *Journal of Chromatography A* 537: 449–452.
- Rigano, D., C. Formisano, E. Pagano itd. 2014. »A New Acetophenone Derivative from Flowers of *Helichrysum italicum* (Roth) Don Ssp. *italicum*.« *Fitoterapia* 99:198–203.
- Rigano, D., C. Formisano, F. Senatore idr. 2013. »Intestinal Antispasmodic Effects of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum* and Chemical Identification of the Active Ingredients.« *Journal of Ethnopharmacology* 150 (3): 901–906.
- Rosa, A., M. Deiana, A. Atzeri idr. 2007. »Evaluation of the Antioxidant and Cytotoxic Activity of Arzanol, a Prenylated α -pyrone-phloroglucinol Etherodimer from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*.« *Chemico-Biological Interactions* 165 (2): 117–126.
- Sala, A., M. C. Recio, R. M. Giner idr. 2002. »Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of *Helichrysum italicum*.« *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 54 (3): 365–371.
- Sala, A., M. C. Recio, R. M. Giner, S. Máñez in J. L. Ríos. 2001. »New Acetophenone Glucosides Isolated from Extracts of *Helichrysum italicum* with Antiinflammatory Activity.« *Journal of Natural Products* 64 (10): 1360–1362.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella, S. Máñez, R. M. Giner in J.-L. Ríos. 2003. »A New Dual Inhibitor of Arachidonate Metabolism Isolated from *Helichrysum italicum*.« *European Journal of Pharmacology* 460 (2–3): 219–226.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella, S. Máñez, R. M. Giner, M. Cerdá-Nicolás in J. L. Rosí. 2003. »Assessment of the Anti-inflammatory Activity and Free Radical Scavenger Activity of Tiliroside.« *European Journal of Pharmacology* 461 (1): 53–61.
- Schinella, G. R., H. A. Tournier, S. Máñez, P. M. de Buschiazzo, M. del Carmen Recio in J.-L. Ríos. 2007. »Tiliroside and Gnaphaliin Inhibit Human Low Density Lipoprotein Oxidation.« *Fitoterapia* 78 (1): 1–6.

- Tagliatalata-Scafati, O., F. Pollastro, G. Chianese idr. 2013. »Antimicrobial Phenolics and Unusual Glycerides from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 76 (3): 346–353.
- Tomás-Barberán, F., E. Iniesta-Sanmartín, F. Tomás-Lorente in A. Rumbero. 1990. »Antimicrobial Phenolic Compounds from Three Spanish *Helichrysum* Species.« *Phytochemistry* 29 (4): 1093–1095.
- Tundis, R., G. A. Statti, F. Conforti idr. 2005. »Influence of Environmental Factors on Composition of Volatile Constituents and Biological Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) Don (Asteraceae).« *Natural Product Research* 19 (4): 379–387.
- Vogt, T. 2010. »Phenylpropanoid Biosynthesis.« *Molecular Plant* 3 (1): 2–20.
- Wollenweber, E., M. Christ, R. H. Dunstan, J. N. Roitman in J. F. Stevens. 2005. »Exudate Flavonoids in Some Gnaphalieae and Inuleae (Asteraceae).« *Zeitschrift Für Naturforschung C* 60 (9–10): 671–678.
- Zapesochnaya, G. G., T. V. Dzyadevich in B. S. Karasartov. 1990. »Phenolic Compounds of *Helichrysum italicum*.« *Chemistry of Natural Compounds* 26 (3): 342–343.
- Zapesochnaya, G. G., V. A. Kurkin, T. V. Kudryavtseva idr. 1992. »Dicaffeoylquinic Acids from *Helichrysum italicum* and *Achillea cartilaginea*.« *Chemistry of Natural Compounds* 28 (1): 40–44.