

# Tradicionalna upotreba, bioaktivni spojevi, farmakologija i toksikologija bilja iz roda Thymus

---

Švab, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:958113>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-19**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Odjel za kemiju  
Sveučilišni prijediplomski studij kemije

Petra Švab

**Tradicionalna upotreba, bioaktivni spojevi, farmakologija i toksikologija  
bilja iz roda Thymus**

Završni rad

Mentor: doc.dr.sc. Ana Amić

Osijek, 2023.

## Sažetak

Ljekovito bilje i njegove aktivne komponente uvelike doprinose boljitku čovječanstva. Većina biljaka porodice Lamiaceae ljekovite su biljke koje zbog bioaktivnih komponenti koristimo u borbi protiv gljivica, virusa, bakterija i raznih upala. Rod *Thymus*, koji je član porodice Lamiaceae, sastoji se od oko 250 predstavnika, a neki od najpoznatijih su majčina dušica, timijan, lavanda, bosiljak, ružmarin i dr. Izuzev svoje ljekovitosti, ove biljke se odlikuju i aromatičnošću zbog čega se često koriste kao začini. Jedan od predstavnika roda *Thymus* je timijan, *Thymus vulgaris* L., koji se naširoko koristi u narodnoj medicini, prehrani i pripremi ljekovitih preparata. Iako ljekovito bilje ima niz aktivnih komponenata, eterično ulje se ističe najvećim udjelom bioaktivnih sastojaka. U slučaju biljaka roda *Thymus*, aktivni sastojci eteričnog ulja s najizraženijim djelovanjem pripadaju klasi terpenoida, a to su timol i karvakrol. Stoga terapijski potencijal timijana ovisi o sadržaju timola i karvakrola, ali i drugih bioaktivnih spojeva, kao što su flavonoidi, saponini i flavoni, dok eterično ulje pokazuje antibakterijski, antiseptični, antifungalni i antioksidacijski učinak. Stoga timijan i drugo bilje roda *Thymus* imaju veliki značaj kao funkcionalna hrana i potencijal primjene u liječenju raznih stanja. Cilj ovoga rada je dati kratki pregled tradicionalne uporabe, bioaktivnih spojeva, farmakologije i toksikologije bilja iz roda *Thymus*.

**Ključne riječi:** bioaktivni spojevi, flavonoidi, ljekovito bilje, karvakrol, timijan, timol, tradicionalna medicina

## Summary

Medicinal plants and their active components greatly contribute to the well-being of mankind. Most of the plants of the Lamiaceae family are medicinal plants that, due to their bioactive components, we use in the fight against fungi, viruses, bacteria and various inflammations. The genus *Thymus*, a member of the Lamiaceae family, consists of approximately 250 representatives, and some of the most famous are thyme, lavender, basil, rosemary, etc. Apart from their healing properties, they are also characterized by their aromaticity, which is why they are often used as spices. Thyme, *Thymus vulgaris* L., a plant from the Thyme genus, is widely used in traditional medicine, diet and medicinal preparations production. Although medicinal plants have many active components, essential oil stands out due to the highest content of bioactive ingredients. In the case of *Thymus* genus, the active ingredients of the essential oil with the most pronounced effect belong to the class of terpenoids, namely thymol and carvacrol. Hence, thyme therapeutic effect depends on the content of thymol and carvacrol, and also other bioactive compounds such as flavonoids, saponins and flavons, while the etheric oil has antibacterial, antiseptic, antifungal and antioxidative effect. Hence, thyme and other members of *Thymus* genus have a great importance as functional food and potential in treatment of various conditions. The aim of this thesis is to give a brief overview of the traditional use, bioactive compounds, pharmacology and toxicology of herbs from the *Thymus* genus.

**Keywords:** bioactive compounds, flavonoids, medicinal plants, carvacrol, thyme, thymol, traditional medicine

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Sistematska klasifikacija, morfologija i osnovne karakteristike biljaka roda Thymus .....	3
3. Tradicionalna upotreba biljaka roda Thymus .....	7
4. Bioaktivni spojevi biljaka roda Thymus.....	12
4.1. Sastav eteričnog ulja biljaka roda Thymus .....	14
4.2. Nehlapljivi sekundarni metaboliti biljaka roda Thymus .....	18
4.2.1. Fenolni spojevi .....	22
4.2.2. Terpenoidi i ostali spojevi .....	23
5. Farmakologija i toksikologija biljaka roda Thymus .....	25
5.1. Antimikrobno djelovanje .....	26
5.2. Antioksidacijsko djelovanje .....	28
5.3. Protuupalno djelovanje .....	29
5.4. Antikancerogeno djelovanje.....	30
5.5. Druge farmakološke aktivnosti .....	32
5.6. Farmakokinetika timola .....	33
5.7. Toksičnost i mjere sigurnosti .....	36
6. Zaključak .....	37
7. Literaturna vrela .....	38

## 1. Uvod

Rod *Thymus*, timijan ili majčina dušica, je rod biljaka klasificiran u porodicu Lamiaceae, usnače ili usnjače, a broji oko 250 biljaka, zeljastih trajnica i niskog grmlja. Potječe iz mediteranske regije, iz koje se proširio diljem svijeta, a sastoji se od aromatičnih i medicinski značajnih biljaka koje se koriste u narodnoj (tradicionalnoj, alternativnoj) medicini, prehrani (kao biljni čaj ili kao začinsko bilje za pojačavanje okusa hrane) i proizvodnji farmaceutskih pripravaka. Ovo je jedan od najpopularnijih biljnih rodova diljem svijeta zbog eteričnog ulja, osobito njegovih hlapljivih komponenti. U sastavu eteričnog ulja nalaze se brojni bioaktivni spojevi, poput timola, karvakrola, flavonoida, eugenola, alifatskih fenola, luteolina, saponina i flavona, a zbog kojih eterično ulje biljaka roda *Thymus* ima izraženo antibakterijsko, antiseptičko, antifungalno, antiparazitsko i antioksidacijsko djelovanje [1].

Upotreba roda *Thymus* u narodnoj medicini ima dugu povijest. Ove biljke se koriste za pomoć u liječenju niz tegoba i bolesti kao što su bolesti dišnog sustava (kašalj, bronhitis, astma), najčešće u obliku čaja, tinktura, sirupa, inhalacije ili masti. Osim toga, koriste se i kao ispomoć u slučaju infekcija mokraćnog sustava, ateroskleroze, zubobolje i dispepsije te za jačanje apetita. Danas je upotreba ovih biljaka još jače izražena. Naime, bogate su željezom, kalcijem, manganom i vitaminom K te se pokazalo da imaju pozitivan učinak na stanje cijelog organizma pa pomažu i kod fizičkih i kod mentalnih tegoba, primjerice kod nesаницe. Upravo prethodno spomenuti spojevi utvrđeni u biljkama ovoga roda, odgovorni su za pozitivne učinke na organizam, kao što su na primjer antispazmodički, antimikotički, antibakterijski, protuvirusni, antiseptički, antioksidacijski, spazmolitički, antihelmintički i antikarcinogeni učinak [1].

Zbog velikog značaja biljaka roda *Thymus*, i u povijesti i danas, cilj ovoga rada bio je dati kratki prikaz tradicionalne upotrebe, bioaktivnih spojeva, farmakologije i toksikologije biljaka roda *Thymus*. Biljke ovoga roda mogu se naći i na prostoru RH, gdje je danas prisutno 20 vrsta, od kojih je najpoznatija i u svijetu i kod nas *Thymus vulgaris* L. [2]. Neke od ovih vrsta predmet su opsežnih znanstvenih istraživanja čiji su rezultati prikazani u nastavku rada. U prvom dijelu rada dane su osnovne informacije o klasifikaciji i morfologiji biljaka roda *Thymus* te su opisane osnovne karakteristike ovih biljaka. U idućem dijelu rada opisana je tradicionalna upotreba ovih biljaka, primjerice u liječenju trovanja, zacijeljivanju rana, liječenju kožnih bolesti i bolesti dišnog sustava. Nakog toga slijedi poglavlje s prikazom bioaktivnih spojeva utvrđenih u ovim biljkama, s osvrtom na sastav

eteričnog ulja. U idućem dijelu dane su osnovne informacije o farmakološkom i toksikološkom učinku odabranih biljaka roda *Thymus*, s naglaskom na *T. vulgaris* L.

Biljke roda *Thymus* imaju niz različitih upotreba, osim u svrhu prehrane i liječenja. Zbog izraženog antimikrobnog i antioksidacijskog učinka, eterična ulja ovih biljaka uspješno se dodaju u materijale za pakiranje prehrambenih artikala. Naime, pokazalo se da mogu produžiti rok trajanja svježe hrane i poboljšati sigurnost konzumacije određenih prehrambenih proizvoda. Osim toga, ekstrakti biljaka ovog roda uspješno se koriste kao ekološki prihvatljiva verzija inhibitora korozije [3]. Stoga su biljke roda *Thymus* obećavajuće ne samo medicinski značajne biljke, nego i obećavajuće funkcionalne biljke.

## 2. Sistematska klasifikacija, morfologija i osnovne karakteristike biljaka roda

### Thymus

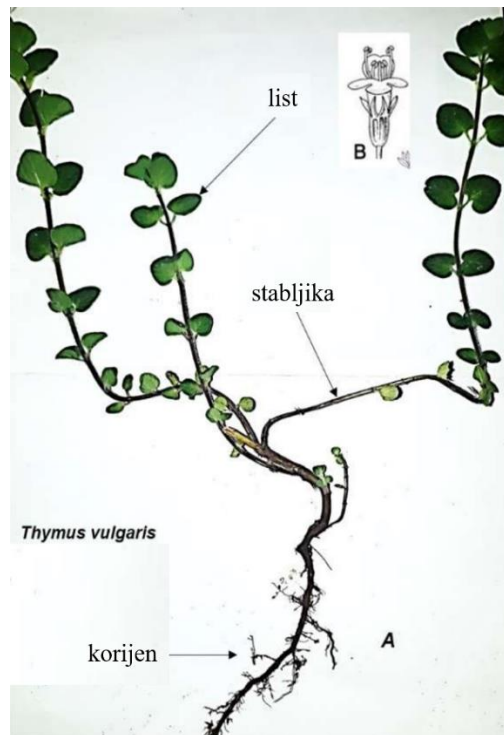
Kao što je prethodno spomenuto, rod *Thymus* sastoji se od aromatičnih biljaka svrstanih u porodicu Lamiaceae, usnače ili usnjače. Porodica Lamiaceae najveća je porodica reda Lamiales s 236 rodova i preko 7000 vrsta rasprostranjenih po cijelom svijetu. Neke od najpoznatijih vrsta ove porodice su lavanda, origano, bosiljak, ružmarin, timijan, itd. [4]. Rod *Thymus* sastoji se od oko 214 vrsta i 36 podvrsta (ukupno 250, no prema nekim izvorima ovaj rod ima oko 350 vrsta) koje su grupirane u osam sekcija: Micantes, Mastichina, Piperella, Teucroides, Pseudothymbra, *Thymus*, Hyphodromi i *Serpyllum*. Neki od najpoznatijih predstavnika su *Thymus serpyllum* L. (babin timijan, babina dušica), *T. vulgaris* L. (pravi timijan, prava majčina dušica) i *T. pulegoides* L. (obični timijan) [2, 5]. Često zbog sličnosti vrsta dolazi do miješanja timijana i majčine dušice, pa je potrebno jasno definirati o kojoj se vrsti radi, što je najlakše uporabom ispravnog latinskog naziva biljke.

Na prostoru RH utvrđeno je 20 vrsta i to: *Thymus bracteosus* Vis. Ex Benth., *T. carstiensis* (Velen.) Ronniger, *T. hirsutus* M. Bieb., *T. longicaulis* C. Presl, *T. longicaulis* C. Presl ssp. *longicaulis*, *T. odoratissimus* Mill., *T. oenipontanus* Heinr. Braun, *T. praecox* Opiz, *T. praecox* Opiz ssp. *polytrichus* (A. Kern. Ex Borbás) Jalas, *T. pulegoides* L., *T. pulegoides* L. ssp. *carniolicus* (Borbás) P. Schmidt, *T. pulegoides* L. ssp. *chamaedrys* (Fr.) Guşul., *T. pulegoides* L. ssp. *effusus* (Host) Ronniger, *T. pulegoides* L. ssp. *montanus* (Benth.) Ronniger, *T. serpyllum* L., *T. serpyllum* L. ssp. *serpyllum*, *T. striatus* Vahl, *T. vulgaris* L., *T. vulgaris* L. ssp. *vulgaris*, *Thymus* × *korbii* Ronniger [2].

Vrsta *Thymus vulgaris* L., na našim prostorima poznatija kao timijan ili mjačina dušica, prema sistematskoj klasifikaciji pripada carstvu Plantae, podcarstvu Tracheobionta, odjeljku Magnoliophyta, razredu Magnoliopsida, podrazredu Asteridae, redu Lamiales, porodici Lamiaceae i rodu *Thymus* [2, 5].

Biljke roda *Thymus* su višegodišnje vazdazelene zeljaste i grmolike vrste. Obično imaju drvenastu, uspravnu stabljiku (Slika 1.). Listovi rastu spiralno oko stabljike, vazadzeleni su, ovalni, nježne teksture i ugodnog mirisa. Oni predstalljaju jestivi dio biljke za čovjeka. Cvjetovi čine cvat, radi se o račvastim (cimoznim) cvatovima, ružičaste ili bijele boje, koji su dvospolni i ugodnog mirisa. Cvjetaju tijekom proljeća i ljeta [5]. Ovim biljkama pogoduje mediteranska klima, najbolje uspijevaju na svijetlim, toplim i suhim mjestima te nadmorskim visinama do 800 m. Traže puno Sunca i obitavaju na kršnom tlu [6].





Slika 1. Skica izgleda biljke *T. vulgaris* L. [5].

Slika A) prikazuje vegetativne dijelove biljke, a B) reproduktivne (cvijet).

*T. vulgaris* L. podrijetlom je iz južne Europe i autohtona je biljka mediteranske regije, no uspijeva i u Africi (Slike 2. i 3.) [7]. Ima umjerenu brzinu rasta, a zrela biljka može dosegnuti visinu 0,5-1 m te pokriti površinu 0,5-1 m (ponekad i 15 m). Raste uz tlo, kao zeleni pokrivač tla. U prosjeku je potrebno 2-5 godina da biljka dosegne maksimalnu visinu. Izuzetno je otporna biljka koja može podnijeti mraz, sušu i visoki salinitet. Raste na ilovači i pjeskovitim tlima, na neutralnom ili blago bazičnom tlu. Ne traži puno vode, traži dobro drenirano tlo i preferira izloženost Suncu [5]. Stabljika je razgranata s drvenastom bazom. Cvjetovi mali, dvousni, bjelkastoružičaste boje, dugi do 5 mm. Vrijeme cvatnje im je od svibnja do rujna ili do pojave prvog mraza. Listići su ovalni, sivkasto zeleni, rastu na malim peteljka, veličine oko 5-10 mm duljine i 0,8-2,5 mm širine. Morfološke karakteristike variraju u ovisnosti o klimatskim uvjetima [7]. Nije invazivna vrsta i može živjeti do 25 godina. Razmnožava se sjemenom, reznicama ili vriježama, a najčešće oboli od bolesti korijena [5].



Slika 2. Cvijet [8] i stabljika s listovima *T. vulgaris* L. [9].

Biljke roda *Thymus* imaju široku primjenu u narodnoj medicini, kozmetičkoj industriji, farmakologiji i prehrambenoj industriji, zbog čega je uzgoj ovih biljaka čest dodatni prihod brojnim poljoprivrednicima (Slika 3.). Prinos te kvaliteta prinosa i esencijalnog ulja ovise o raznim ekološkim čibenicama, a njihov utjecaj nije isti na svaku vrstu. Stoga je ovo područje predmet brojnih istraživanja. Ovisno o uvjetima uzgoja, prinos svježeg biljnog materijala može biti i do 5-6 t/ha [10]. Uzgaja se u komercijalne svrhe zbog suhog lišća, biljnih ekstrakata i eteričnog ulja. Listovi se koriste kao začim ili čaj, budući da je u narodnoj medicini od davnina poznat njihov pozitivan učinak na zdravlje. Terapeutski potencijal ovih biljaka rezultat je spojeva poput timola, karvakrola, flavonoida, saponina i flavona [11, 12]. *T. vulgais* L. ne treba često gnojenje, a pretjerano gnojenje usporava rast biljke. Ipak, koristi se gnojivo na bazi N, P, K i S, a primijenjuje se svake godine budući da utječe na koncentraciju aktivnih tvari, a time i na kvalitetu esencijalnog ulja [10].



Slika 3. Polje *T. vulgaris* L. u Keniji [13].

*T. vulgaris* L. bogat je fitonutrijentima, mineralima i vitaminima nužnima za dobro zdravlje. Ovi spojevi pomažu u sprečavanju bolesti i održavanju zdravlja pa su oni odgovorni za pozitivne učinke timijana na zdravlje. Timijan je osobito bogat vitaminima A i C. Vitamin A je antioksidans koji pomaže u očuvanju zdravlja mukoznih membrana i kože te vida. Vitamin C pomaže u borbi protiv zaraznih bolesti i štetnih slobodnih radikala. Osim njih, timijan sadrži i vitamine B kompleksa, prvenstveno B6 (aktivni oblici su piridoksin, piridoksal i piridoksamin), koji pomaže u održavanju koncentracije  $\gamma$ -aminomaslačne kiseline u mozgu i djeluje antistresno. Uz njih, timijan sadrži vitamine K i E te folnu kiselinu (vitamin B9). Stoga ne čudi da timijan ima jako antioksidacijsko djelovanje [5].

Od minerala, listovi timijana sadrže K, Ca, Fe, Mn, Mg i Se. Kalij sudjeluje u izgradnji stanica i tjelesnih tekućina, kontrolira srčani ritam i krvni tlak. Željezo je neophodno za formiranje eritrocita, dok je mangan kofaktor antioksidacijskog enzima superoksid-dismutaze [5]. Osim toga, timijan je bogat flavonoidima i fenolnim antioksidansima, kao što su zeaksantin, lutein, naringenin, luteolin i timonin. Glavna komponenta eteričnog ulja je timol, koji pokazuje snažno antioksidacijsko i antibakterijsko djelovanje. Uz to cvjetna stapka timijana sadrži još neke derivate flavonoida, kao što su apigenol i luteolol, te fenolne kiseline (npr. kavena i ružmarinska kiselina) i tanine [1].

### 3. Tradicionalna upotreba biljaka roda *Thymus*

Rod *Thymus* se naširoko koristio u medicinske svrhe i u prehrani još od davnina, a prvi zapis o njegovoj upotrebi je u djelu grčkog liječnika, farmakologa i botaničara Pedaniusa Dioscoridesa. Suhi dijelovi biljke koristili su se za liječenje respiratornih problema, prehlade, gripe, vrućice, faringitisa, ranica u ustima i sl. Zbog ublažavanja gastrointestinalnih grčeva, koristili su se kao pomoć za probavu [3]. U Tablici 1. dan je sažeti prikaz tradicionalne upotrebe biljaka roda *Thymus*.

Vjeruje se da su Rimljani konzumirali vodeni ekstrakt biljke prije ili za vrijeme obroka kako bi se zaštitili od trovanja. Smatrali su da kupanje u toploj vodi obogaćenoj *T. vulgaris* L. može zaustaviti učinke otrova, čineći je omiljenom biljkom careva [14]. Ovi primjeri ukazuju na učinkovitost *T. vulgaris* L. kao prirodnog protuotrova. U prilog tome, Isakakroudi i sur. (2018) utvrdili su prisutnost spojeva poput timola i karvakrola, koji mogu poslužiti kao protuotrov [15].

U Egiptu se *T. decussates* Benth. koristi za liječenje mučnine, a u Pakistanu se *T. linearis* Benth. koristi kao sredstvo protiv dizenterije. Ovaj se rod na sličan način koristi i u tradicionalnoj kineskoj medicini, za pomoć kod povraćanja, bolova u želucu, proljeva i za poticanje apetita [3].

Mozaffarian i sur. (2007) prikazali su da vrste roda *Thymus* imaju snažno antibakterijsko, antifungalno, antivirusno, antiparazitsko, spazmolitičko i antioksidacijsko djelovanje [16]. Stoga ne čudi što esencijalna ulja i ekstrakti biljaka ovog roda pokazuju niz različitih bioloških učinaka, poput antioksidacijskog, antibakterijskog, antifungalnog, antivirusnog, citotoksičnog, antiparazitskog i sl. U narodnoj medicini koriste se oralno za liječenje brojnih stanja, kao što su kašalj, bolesti gornjih dišnih puteva, akutni i kronični bronhitis, hripavac i fibrilni respiratorni katar. Liječenju ovih stanja pridonijela su antitusična, ekspektorantna, antioksidacijska, protuupalna i antimikrobna svojstva ovih biljaka [10]. Fitokemijska analiza biljnih ekstrakata otkrila je prisutnost karvakrola i  $\gamma$ -terpinena koji posjeduju antivirusno i protuupalno djelovanje, što bi dijelom mogao biti razlog uočenih učinaka tradicionalne uporabe [17].

Ekspektorantni učinak rezultat je saponina prisutnih u ovim biljkama. *T. vulgaris* L. se koristila u liječenju dispepsije i drugih gastrointestinalnih poremećaja, zbog karminativne i spazmolitičke aktinosti timola i flavona. Osim toga, pomaže u borbi protiv crijevnih parazita i infekcija mokraćnog sustava, a pomaže i u odvikavanju od pušenja [10]. Ekstrakt

se davao za liječenje glista kod djece [18]. Isakakroudi i sur. (2018) izvijestili su o antiparazitskoj/antihelminthičkoj ulozi *T. vulgaris* L., koja se pripisuje prisutnosti monoterpena i fenolnih spojeva [19].

Ove se biljke mogu koristiti i topikalno, primjerice u vodicama za ispiranje usne šupljine, kao pomoć u liječenju laringitisa, za liječenje akni i stomatitisa te za liječenje manjih ozljeda [10]. Fachini-Queiroz i sur. (2012) smatraju da esencijalno ulje, zapravo njegova glavna komponenta – karvakrol, pokazuje protuupalno djelovanje koje pridonosi smanjenju upalnih procesa [10]. Topikalna uporaba ulja *T. vulgaris* L., gdje je putem aromaterapije korišteno ulje za liječenje reume i išijasa, smanjuje reumatske bolove i išijas. Ovo svojstvo smanjenja boli uglavnom se pripisuje timolu, koji posjeduje najveći protuupalni potencijal među svim sastojcima biljke [18].

*T. vulgaris* L. se koristio i kao dezinficijens, pri čemu su se osušeni snopovi biljaka spaljivali kako bi se pročistila okolina. Medicinske sestre su u 19. stoljeću stavljale obloge natopljene vodenim ekstraktom timijana izravno na rane, jer se vjerovalo da je ova biljka prirodni iscjelitelj i antiseptik [20].

*T. vulgaris* L. se intenzivno koristio protiv kuge u kasnim 1340-ima, u razdoblju koje je bilo poznato kao doba crne smrti. *T. vulgaris* L. izravno je primijenjivan na kožu u obliku vodenog ekstrakta. Kasnije je utvrđeno da su korisni učinci takve primjene posljedica prisutnosti timola, koji se danas koristi u sredstvima za dezinfekciju ruku, tekućinama za ispiranje usta i lijekovima protiv akni. Također, Stahl i sur. (2002) su dokazali napredak u primjeni *T. vulgaris* L. kod liječenja kožnih problema poput dermatitisa. Ovi se učinci opažaju zbog prisutnosti hlapljivih ulja, koja se uglavnom sastoje od linaloola,  $\alpha$ -pinena i timola [21].

U Španjolskoj, Rumuniji, Bosni i Hercegovini, Turskoj i Etiopiji, rod *Thymus* se uglavnom koristi u liječenju kardiovaskularnih oboljenja, kao što je visoki krvni tlak, srčani problemi, hematom i hiperkolesterolemija. Uz to, brojna istraživanja su pokazala da ovaj rod ima dobar učinak u liječenju upalnih procesa i stanja kao što su upaljenje desni, upale kože, akne i artritis [3].

Rod *Thymus* se koristio i za liječenje stanja kao što su bubrežni kamenci, nefritis, urinarne infekcije, cistitis, rane, ulceracije, bradavice, astenija, ekcemi, glavobolja i dijabetes. A može se koristiti i kao antiseptik, diuretik, antihelminthik, antispazmodik, sedativ, oftalmički dekongestant i stimulans. U Španjolskoj se *T. vulgaris* L. koristi nakon poroda, a u Tunisu se *T. algeriensis* koristi za sprečavanje pobačaja i komplikacija u trudnoći. U Indiji se za liječenja menstrualnih poremećaja koristi *T. serpyllum* L. [3].

Osim toga, rod *Thymus* se tradicionalno koristi u prehrani, na primjer u pripremi napitaka i kao začim za meso, pekarske proizvode, umake, salate i dr. Koristi se u pripremi raznih poslastica, vegetarijanskih jela, desertu, sladoleda, marinada i sl. [3]. Samostani su dodavali ove biljke hrani radi uklanjanja kontaminacije mikrobima [22]. Timijan pomaže u probavi masne hrane, pa se vrlo često koristi uz jela od mesa i peradi ili uz pečeno povrće i gljive [23]. Benameur i sur. (2019) ispitivali su antimikrobno djelovanje ekstrakta *T. vulgaris* L. (etanol i voda) i upotrebu eteričnog ulja protiv patogena koji se prenose hranom. Utvrdili su da se uz timol i karvakrol, antimikrobno djelovanje pripisuje i fenolnim spojevima prisutnima u ekstraktima [24]. Osim toga, u Italiji se još prave i mješavine od suhih listova biljaka roda *Thymus* i drugog bilja za parfimiranje odjeće i prostorija [3].

Tablica 1. Tradicionalne upotrebe biljaka roda *Thymus* [3].

Vrsta	Dio biljke	Upotreba	Zemlja	Ref.
<i>T. algeriensis</i>	-	respiratorne i probavne tegobe, antiabortiv, komplikacije u trudnoći	Libija, Tunis, Alžir, Maroko	[25, 26]
<i>T. aff. comosus</i> Heuffel ex. Griseb	-	sedativ, pročišćavanje krvi, bubrežni kamenci, astma, dijareja, nadutost želučani grčevi	Bosna i Hercegovina	[27]
<i>T. bovei</i> Benth.	-	respiratorne i probavne tegobe	Jordan	[28]
<i>T. broussonetii</i> Bioss.	list, cvijet	dijareja, vrućica, kašalj, rane, infekcije	Maroko	[29]
<i>T. capitatus</i>	list	ekspektorant, spazmolitik, antiseptik, čirevi, dermatitis, reuma	Portugal, Španjolska, Italija, Cipar, Grčka	[30-32]
<i>T. cilicicus</i> Bioss. et Bal.	nadzemni dijelovi biljke	bolovi u želucu, zubobolja, sedativ	Turska	[33]

<i>T. daenensis</i> Celak	list, cvijet	antiseptik, antitusik, karminativ, prehlada, antispazmodik, ekspektorant, protuupalno	Iran	[34-36]
<i>T. longitudentatus</i> Ronniger	-	sedativ, pročišćavanje krvi, bubrežni kamenci, astma, dijareja, nadutost, želučani grčevi	Bosna i Hercegovina	[27]
<i>T. longicaulis</i> C. Presl.	list, cvijet	prehlada, gripa, kašalj, nefritis, abdominalni bolovi, reuma, umor, loša probava	Mediteran, Italija	[37-39]
<i>T. macroccanus</i> Ball	list, cvijet	dijareja, vrućica, kašalj, rane, infekcije	Maroko	[29]
<i>T. praecox</i> Opiz.	list	sedativ, pročišćavanje krvi, bubrežni kamenci, astma, dijareja, nadutost, želučani grčevi, prehlada	Bosna i Hercegovina, Srbija, Turska	[27, 40, 41]
<i>T. pubescens</i> Bioss.	nadzemni dijelovi biljke	spazmolitik, antiseptik, antitusik, ekspektorant	Iran	[42]
<i>T. pulegioides</i> L.	nadzemni dijelovi biljke	sedativ, pročišćavanje krvi, bubrežni kamenci, astma, dijareja, nadutost, želučani grčevi, dezinficijens, čirevi, prehlada, digestiv	Bosna i Hercegovina, Italija	[27, 43, 44]
<i>T. satureioides</i> Coss.	List, cvijet	dijareja, vrućica, kašalj, rane, infekcije	Maroko	[29]
<i>T. serpyllum</i> L.	nadzemni dijelovi biljke	spazmolitik, antiseptik, antitusik, ekspektorant, sedativ, reumatizam, menstrualni poremećaji, antihelmitik, rane, ekcem, dijareja, bronhitis, kašalj,	Iran, zapadni Balkan, Italija, Indija, Pakisatn, Španjolska, Irak,	[14, 25 42, 45]

		hripavac, faringitis, laringitis, reumatizam, alopecija, seboreja, masna koža, pranje kose	Bugarska, Rumunija, Katalonija, Baleari	
<i>T. sp.</i> L.	nadzemni dijelovi biljke	protuupalno, antispazmodik, antitusik	Španjolska	[46]
<i>T. spicata</i> L. var. <i>spicata</i>	-	dijabetes, hiperkolesterolemija, glavobolja, probavne tegobe, respiratorne tegobe, gripa, ateroskleroza	Turska	[47]
<i>T. vulgaris</i> L.	nadzemni dijelovi biljke	ekspektorant, antitusik, antibronholitik, antispazmodik, antihelminetik, karminativ, diuretik, hripavac, probavne tegobe, akne, upalni procesi, stomatitis, prehlada, upala grla, upala kože, visoki krvni tlak, srčani problemi, pročišćavanje krvi, zadržavanje tekućine, reumatizam, artritis, cistitis, relaksant, rane, čirevi, hematomi, bradavice, antiseptik, laksativ, digestiv, zubobolja, hripavac, urinarne infekcije	Irak, Španjolska, Francuska, Portugal, Grčka, Italija, Iran, Novi Zeland, Rumunija	[45, 46, 48-51]
<i>T. × citriodorus</i>	-	prehrana i čaj	Portugal	[52]
<i>T. zygoides</i> Griseb.	-	probavne tegobe, respiratorne tegobe, gripa	Turska	[47]



#### 4. Bioaktivni spojevi biljaka roda *Thymus*

Biljke roda *Thymus* sadrže brojne bioaktivne spojeve, a to su flavonoidi, organske kiseline, tanini, lignani, terpenoidi te druge komponente koje se mogu naći u eteričnom ulju. Čest predmet istraživanja upravo su komponente eteričnih ulja. Osim njih, istražuju se i nehlapljivi sekundarni metaboliti ovih biljaka, na primjer ružmarinska kiselina, ursolična kiselina i oleanolična kiselina [3].

Sefidkon i sur. (2002) u dvije odvojene studije istraživali su eterično ulje *T. vulgaris* L. i otkrili da eterično ulje sadrži karvakrol, timol,  $\gamma$ -terpinen, *p*-cimen i borneol [53]. Timol i karvakrol glavni su fenolni spojevi eteričnog ulja, a glavni nefenolni spojevi su linalool i *p*-cimen [54]. Uz njih, eterično ulje *T. vulgaris* L. sadrži oleanoličnu kiselinu, ružmarinsku kiselinu, triterpen i kavenu kiselinu, ali i druge komponente kao što su borneol, gerniol, pinen, sabinen, mircen i limonen [55]. U Tablici 2. dan je sažeti prikaz fitokemikalija prisutnih u *T. vulgaris* L. i njihovog farmakološkog značaja.

Tablica 2. Fitokemikalije prisutne u *T. vulgaris* L. i njihov značaj [56].

Klasa spojeva	Spoj	Farmakološko djelovanje
Fenolni spojevi	Kininska kiselina	Antikarcinogeno, imunomodulatorno, antifungalno, antioksidativno, neuroprotektivno
	Ružmarinska kiselina	Protiv Alzheimerove bolesti, antikarcinogeno, antidijabetičko, antimikrobno, kardioprotektivno, nefroprotektivno, protiv starenja, hepatoprotektivno, protuupalno, antialergijsko, antidepresivno
	Kavena kiselina	Antioksidativno, antimikrobno, antikarcinogeno, antidijabetičko, kardioprotektivno, hepatoprotektivno, antiaterosklerotsko
	<i>p</i> -Kumarinska kiselina	Imunomodulatorno, protuupalno, antioksidativno, gastroprotektivno, antidijabetičko, antikarcinogeno, hepatoprotektivno
	<i>p</i> -Hidroksibenzojeva kiselina	Antikarcinogeno, antimikrobno

	Gentizinska kiselina	Antikarcinogeno, antioksidativno, antimikrobno, kardioprotektivno, protuupalno, analgetsko, nefroprotektivno, hepatoprotektivno, neuroprotektivno, opuštajuće za mišiće
	Siringična kiselina	Antikarcinogeno, antioksidativno, antidijabetičko, protuupalno, neuroprotektivno, antimikrobno, hepatoprotektivno, antiosteoporotično
	Ferulična kiselina	Antikarcinogeno, antidijabetičko, antioksidativno, kardioprotektivno, neuroprotektivno
Terpenoidi	Timol	Antibakterijsko, antifungalno, antispazmodičko, antitusivno, anksiolitično, neuroprotektivno, antihipertenzivno, antioksidativno, antihiperlipidemično, protuupalno, imunomodulatorno, antikarcinogeno, analgetsko
	Karvakrol	Antimikrobno, antimutageno, antitumorsko, analgetsko, protuupalno, antihepatotoksično, antiparazitsko, antispazmodičko, hepatoprotektivno
	Geraniol	Antikarcinogeno, protuupalno, antioksidativno, hepatoprotektivno, antimikrobno, kardioprotektivno, antidijabetičko, neuroprotektivno
	Linalool	Sedativno, antivirusno, protuupalno, antioksidativno, analgetsko, anestetičko, antimikrobno, anksiolitično, antihiperlipidemično, antidepresivno, neuroprotektivno
	$\rho$ -Cimen	Antimikrobno, protuupalno, antioksidativno, anksiolitično, antikarcinogeno, vazorelaksantno, imunomodulatorno
	$\gamma$ -Terpinen	Antibakterijsko, antioksidativno, protuupalno
	Limonen	Antibakterijsko, antifungalno, protuupalno, antioksidativno
	$\beta$ -Kariofilen	Antimikrobno, kardioprotektivno, hepatoprotektivno, gastroprotektivno, neuroprotektivno, nefroprotektivno, antioksidativno,

		protuupalno, imunomodulatorno
	$\beta$ -Pinen	Antikarcinogeno, antimikrobno, antioksidativno, protuupalno, analgetsko, gastroprotektivno, anksiolitično, citoprotektivno, antikonvulzivno, neuroprotektivno
	$\alpha$ -Terpineol	Antikarcinogeno, antioksidativno, gastroprotektivno, kardioprotektivno, antihipertenzivno, sedativno
Flavonoidi	Apigenin	Antidijabetičko, antikarcinogeno, protiv depresije, protiv nesаницe, protiv amnezije, protiv Alzheimerove bolesti, antivirusno
	Luteolin	Protiv Alzheimerove bolesti, antikarcinogeno
	Cirsimaritin	Antioksidativno, protuupalno, antimikrobno, antidijabetičko, antikarcinogeno, neuroprotektivno, hepatoprotektivno
	Ksantomikrol	Protuupalno, antispazmodičko, antikarcinogeno

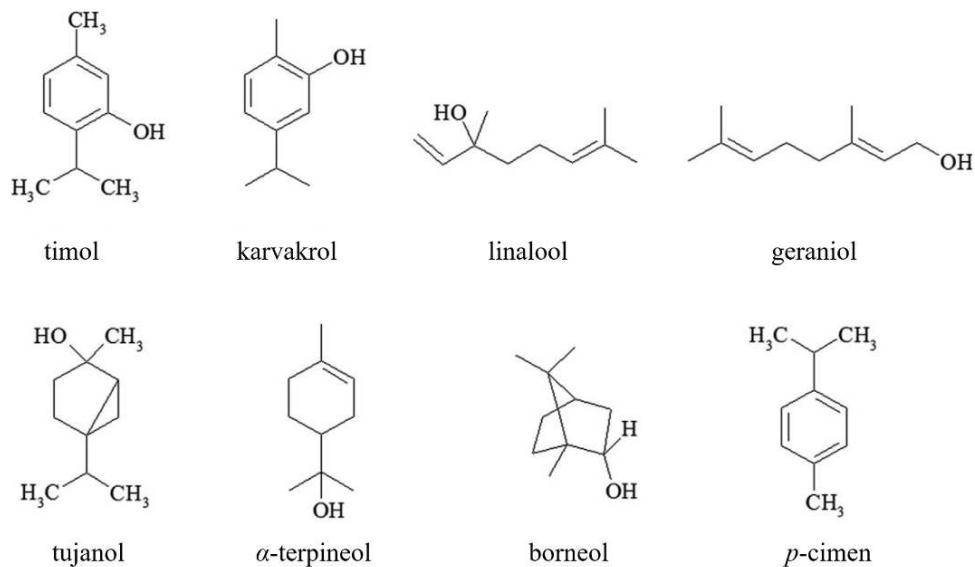
#### 4.1. Sastav eteričnog ulja biljaka roda *Thymus*

Biljke roda *Thymus* proizvode velike količine hlapljivih ulja, koja se naveliko koriste u medicini, kozmetičkoj industriji, njezi, prehrambenoj industriji i drugdje. Sastaje se od biljnih sekundarnih metabolita koje biljka sintetizira kako bi se obranila od raznih napadača, a proizvode ih svi dijelovi biljke [3].

Glavne klase kemijskih spojeva pronađenih u eteričnom ulju biljaka roda *Thymus* su terpeni, terpeni alkoholi, fenolni spojevi, aldehidi, ketoni, eteri i esteri, s tim da sastav varira ovisno o biljnoj vrsti i kemotipu. Kemotip definira glavna komponenta esencijalnog ulja, kao što je timol, karvakrol, linalool, geraniol, tujanol,  $\alpha$ -terpineol, borneol i *p*-cimen (Slika 4.). Na primjer, dominantne komponente u *T. vulgaris* L. su timol (43, 8 %) i *p*-cimen (15,2 %). Timol, karvakrol,  $\gamma$ -terpinen i *p*-cimen glavne su komponente biljaka roda *Thymus* koje su odgovorne za antibakterijski učinak eteričnog ulja [10].

Timol, bijela kristalna tvar izolirana iz esencijalnog ulja i ekstrakta timijana, antispetik je odgovoran za miris ove biljke. To je prirodni monoterpen, fenolni derivat cimena i izomer karvakrola. Ima niz pozitivnih učinaka na zdravlje kao što je antimutageni, antitumorski, antioksidacijski, protuupalni učinak i sl. [10]. Timol karakterizira dobra

topljivost u organskim otapalima i mala topljivost u vodi. Vrlo se brzo apsorbira i u organizmu se zadržava do 24 h u obliku sulfata u plazmi i u obliku sulfata i glukuronida u urinu [57].



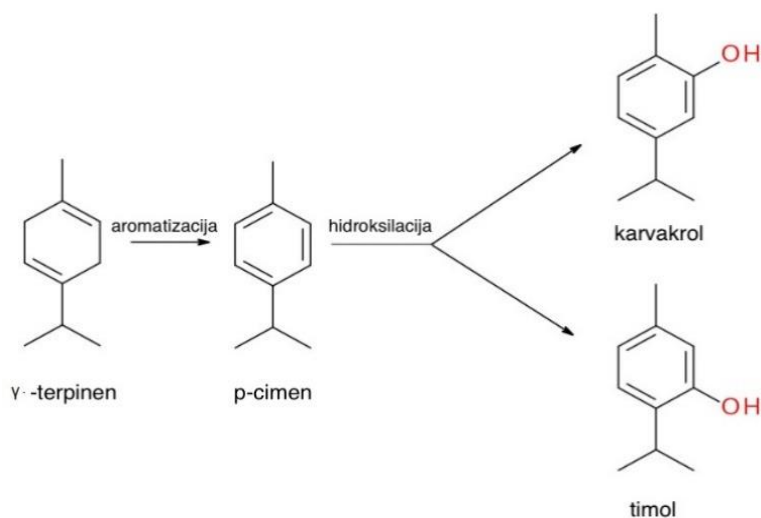
Slika 4. Kemijska struktura glavnih spojeva utvrđenih u biljkama roda *Thymus* [10].

Karvakrol je spoj odgovoran za miris origana. Može se naći u timijanu, origanu, bergamotu i poljskoj grbici. Pokazuje niz bioloških aktivnosti, kao što je antibakterijska, antifungalna, antioksidacijska, antikarcinogena aktivnost i sl [10]. Karvakrol je blijedožuta tvar, dobro topljiva u etanolu, detil-eteru i acetonu, a netopljiva u vodi [57].

*p*-Cimen je prekursor karvakrola, a može se naći u timijanu i kimu.  $\gamma$ -Terpinen se može naći u brojnim medicinskim i aromatičnim biljkama te je glavna komponenta esencijalnog ulja biljaka roda *Thymus* odgovorna za antibakterijsko i antioksidacijsko djelovanje [10].

Biosintetski putevi terpenoida u biljkama odvijaju se putem dva glavna reakcijska puta – mevalonatnim (MVA) putem u citosolu i metileritriol fosfatnim (MEP) putem u plastidima. Monoterpeni se sintetiziraju u plastidima, a biosinteza započinje s proizvodnjom geranil pirofosfata (GPP), koji doprinosi vrlo nestabilnom međuproizvodu,  $\alpha$ -terpenil kationu. Kasnije slijedi konverzija u monoterpen, kao što su  $\gamma$ -terpinen, 1,8-cineol ili  $\alpha$ -terpinen, kao rezultat složene terpen sintaze [3]. Kowalczyk i sur. (2020) proučavali su biosintetske puteve glavnih komponenti eteričnog ulja timijana, monoterpena timola i karvakrola. Do biosinteze ovih bioaktivnih komponenti eteričnog ulja timijana dolazi pri

hidroksilaciji *p*-cimena nakon aromatizacije  $\gamma$ -terpinena u *p*-cimen (Slika 5.) [57].



Slika 5. Shematski prikaz biosinteze timola i karvakrola [57].

Razlike u komponentama esencijalnog ulja biljaka roda *Thymus* rezultat su i hibridizacije i poliploidizacije te pojave samooprašivanja. Intraspecifični hibridi imaju srednji (prijelazni) sastav esencijalnog ulja u usporedbi s roditeljskim biljkama. U ulju se mogu naći i polifenolne kiseline (npr. kavenska kiselina), triterpeni te borneol, geraniol, pinen, linalool, cineol, sabinen, mircen, limonen i dr. [1].

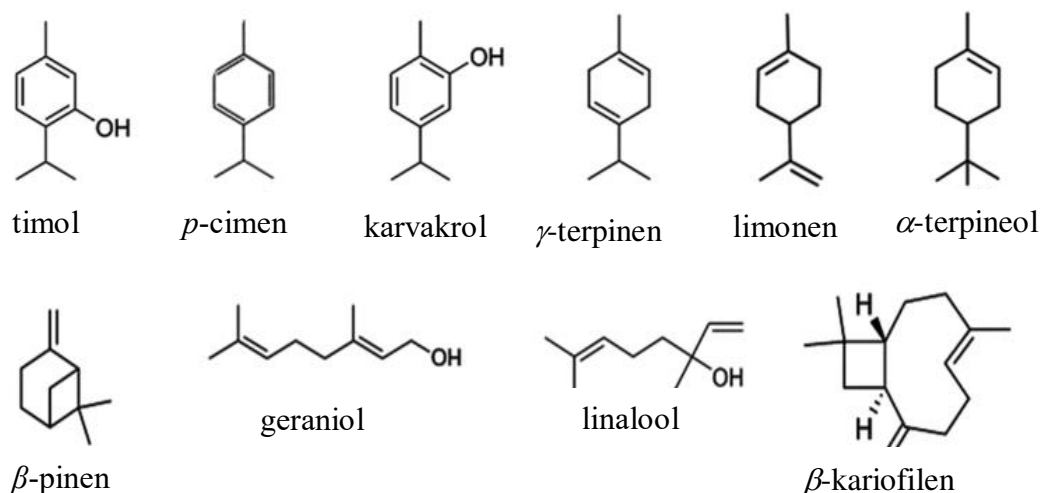
Sastav eteričnog ulja *T. vulgaris* L. varira ovisno o klimi i geografskom podneblju, ali prema istraživanjima monoterpeni čine 56,53 % sastava eteričnog ulja timijana, monoterpeni ugljikovodici čine 28,69 %, seskviterpeni ugljikovodici čine 5,04 %, a oksigenirani seskviterpeni 1,84 % [1]. Esencijalna ulja su prirodne mješavine brojnih spojeva u različitim koncentracijama, koji su za *T. vulgaris* L. prikazani u Tablici 3.

Tablica 3. Kemijski sastav esencijalnog ulja timijana [1].

Spoj	Koncentracija (%)	Spoj	Koncentracija (%)
3-heksanol	0,10	<i>p</i> -cimen	7,61
$\alpha$ -tujen	1,52	silvestren	0,34
$\alpha$ -pinen	1,31	1,8-cineol	0,57
kamfen	0,75	<i>cis</i> -oimen	0,22

sabinen	0,84	$\beta$ -oimen	0,20
3-otenol	0,36	$\gamma$ -terpinen	9,50
3-otanon	0,20	<i>cis</i> -sabinen	0,10
B-mircen	0,67	timol	54,26
3-otanol	0,21	karvakrol	4,42
$\alpha$ -pelandren	0,10	oktadienonska kiselina	0,10
$\delta$ -3-karen	0,11	geranična kiselina	0,30
$\alpha$ -terpinen	2,36		

Istraživanja eteričnog ulja *T. vulgaris* L. utvrdila su prisustvo raznih ugljikovodika, oksida, alkohola/estera i aldehida/ketona. Među svim prijavljenim hlapljivim spojevima, timol, karvakrol, geraniol, linalool,  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, *p*-cimen i  $\gamma$ -terpinen imaju najveći farmakološki značaj [58]. Osim toga, prisutni su ugljikovodici kao što su 2,6-oktadienal, *cis*-sabinen hidrat, germakren D, limonen,  $\beta$ -ocimen, mircen,  $\beta$ -kariofilen,  $\alpha$ -tujen,  $\alpha$ -felandren i  $\alpha$ -humulen. Utvrđeni su oksidi poput 1,8-cineola, kariofilen oksida; alkohol/esteri uključujući  $\alpha$ -terpineol, borneol, 1-okten-3-ol, 3-oktanol, *p*-cimen-8-ol, terpinen-4-ol, timol metil-eter, karvakrol metil-eter; prisutni su aldehidi/ketoni poput 3-oktanaona, kamfora, timokinona i geraniola. Plinska kromatografija - masena spektrometrija (engl. Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) analiza također je pokazala prisutnost estera uključujući butansku kiselinu, bornil acetat i geranil propanoat [56] (Slika 6.).



Slika 6. Farmakološki značajni terpenoidi identificirani u *T. vulgaris* L. [56].

## 4.2. Nehlapljivi sekundarni metaboliti biljaka roda *Thymus*

Flavonoidi, fenilpropanoidi, derivati benzojeve kiseline i terpenoidi su nehlapljivi sekundarni metaboliti važni za biljke roda *Thymus* [3]. U Tablici 4. prikazani su glavni spojevi izolirani iz biljaka roda *Thymus* i vrsta iz koje su izolirani.

Tablica 4. Glavni kemijski spojevi utvrđeni u biljkama roda *Thymus* [3].

Spoj	Vrsta	Spoj	Vrsta
<b>Flavonoidi</b>			
luteolin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. quinquecostatus</i>	5-desmetil-sinensetin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. numidicus</i>
apigenin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i>	siderolavon	<i>T. vulgaris</i>
baikalin	<i>T. vulgaris</i>	gardenin B	<i>T. vulgaris</i>
baikalein	<i>T. vulgaris</i>	rutin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i> , <i>T. quinquecostatus</i>
krizin	<i>T. vulgaris</i>	izoramnetin	<i>T. vulgaris</i>
timonin	<i>T. vulgaris</i>	izoramnetin-3- <i>O</i> -glukozid	<i>T. vulgaris</i>
timusin	<i>T. vulgaris</i>	kemferol	<i>T. vulgaris</i>
ksantomikrol	<i>T. vulgaris</i>	kemferol-3- <i>O</i> -glukuronid	<i>T. vulgaris</i>
salvigenin	<i>T. vulgaris</i>	kemferol-3- <i>O</i> -rutinozid	<i>T. vulgaris</i>
krizimartin	<i>T. vulgaris</i>	kvercetin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i>
cirsilineol	<i>T. vulgaris</i>	kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	<i>T. vulgaris</i>
8-metoksi-cirsineol	<i>T. vulgaris</i>	kvercetin-3- <i>O</i> -glukuronid	<i>T. vulgaris</i>

skutelarein	<i>T. quinquecostatus</i>	mircetin	<i>T. vulgaris</i>
skutelarlin	<i>T. quinquecostatus</i>	naringenin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. webbianus</i>
skutelarein 4'-metil-eter	<i>T. quinquecostatus</i>	naringin	<i>T. vulgaris</i>
4'-metoksiluteolin	<i>T. quinquecostatus</i>	sakuranetin	<i>T. vulgaris</i>
6-hidroksiluteolin	<i>T. vulgaris</i>	naringenin-7-O-glukozid	<i>T. vulgaris</i>
luteolin-7-O- $\beta$ -D-glukozid	<i>T. quinquecostatus</i> , <i>T. vulgaris</i>	naringenin-7-O-rutinozid	<i>T. vulgaris</i>
luteolin-7-rutinozid	<i>T. vulgaris</i>	hesperetin-7-O-rutinozid	<i>T. vulgaris</i>
luteolin-7,3'-diglukozid	<i>T. vulgaris</i>	eriodiktiol	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i>
luteolin-3'-O- $\beta$ -D-glukuronid	<i>T. broussonettii</i>	eriocitrin	<i>T. vulgaris</i>
luteolin-5-O- $\beta$ -glukopiranozid	<i>T. sipyleus</i>	eriodiktiol-7-O-gukozid	<i>T. vulgaris</i>
luteolin-7-O-glukuronid	<i>T. vulgaris</i>	eriodiktiol-7-O-gukuronid	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i>
apigenin-6,8-di-C-glukozid	<i>T. vulgaris</i>	2(s)-5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon	<i>T. quinquecostatus</i>
apigenin-7-O-rutinozid	<i>T. vulgaris</i>	hesperidin	<i>T. vulgaris</i>
apigenin-7-O-glukozid	<i>T. serpyllum</i>	8-prenilnaringenin	<i>T. serpyllum</i>
apigenin-7-O-glukuronid	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i>	taksifolin	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i> , <i>T. quinquecostatus</i>
genkvanin	<i>T. vulgaris</i>	aromadendrin	<i>T. quinquecostatus</i>
hidroksigenkvanin	<i>T. vulgaris</i>	katehin	<i>T. serpyllum</i>
5-demetil-nobiletin	<i>T. vulgaris</i>	florizin	<i>T. vulgaris</i>
<b>Fenilpropanoidi</b>			
cinamična kiselina	<i>T. vulgaris</i>	melitrična kiselina A	<i>T. vulgaris</i>
ferulična kiselina	<i>T. vulgaris</i> ,	izomelitrična kiselina	<i>T. vulgaris</i>



	<i>T. serpyllum</i> , <i>T. quinquecostatus</i>	A	
dodecil ester ferulične kiseline	<i>T. quinquecostatus</i>	salvianolna kiselina K	<i>T. vulgaris</i>
<i>p</i> -kumarinska kiselina	<i>T. serpyllum</i>	danshensu	<i>T. quinquecostatus</i>
kavena kiselina	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. quinquecostatus</i>	litospermična kiselina	<i>T. vulgaris</i>
sinapična kiselina	<i>T. vulgaris</i>	derivat kafeoilkininske kiseline	<i>T. vulgaris</i>
etil-ester kavene kiseline	<i>T. serpyllum</i>	sevanol	<i>T. armeniacus</i>
glukozid kavene kiseline	<i>T. vulgaris</i>	medioresinol	<i>T. vulgaris</i>
klorogena kiselina	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. serpyllum</i> , <i>T. quinquecostatus</i>	sezamin	<i>T. mongolicus</i>
3,5-dikafeoilkininska kiselina	<i>T. vulgaris</i>	5,5'-diizopropil-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-3,4-dion	<i>T. vulgaris</i>
ružmarinska kiselina	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. quinquecostatus</i>	5,5'-diizopropil-2,2'-dimetil-[1,1'-bi(cikloheksan)]-1,1',5,5'-tetraen-3",4,4'-tetraon	<i>T. vulgaris</i>
ružmarinska kiselina glikozid	<i>T. vulgaris</i>	4,4'-dihidroksi-3,5'-diizopropil-2',6'-dimetil-[1,1'-bifenil]-2,5-dion	<i>T. vulgaris</i>
metil rozmarinat	<i>T. vulgaris</i>	<i>p</i> -cimen-2,3-diol 6,6'-dimer	<i>T. vulgaris</i>
5,5'-diizopropil-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-	<i>T. vulgaris</i>		

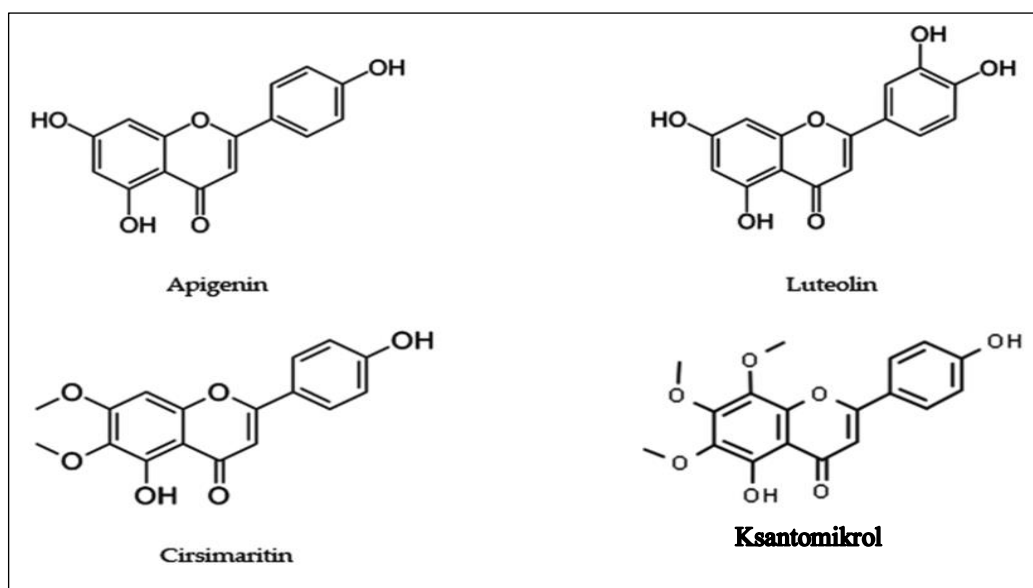
3,3',4-triol			
<b>Organske kiseline</b>			
protokatehnična kiselina	<i>T. quinquecostatus</i> , <i>T. vulgaris</i>	<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina- <i>O</i> -glukozid	<i>T. vulgaris</i>
galna kiselina	<i>T. vulgaris</i>	protokatehnični aldehid	<i>T. quinquecostatus</i>
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. capitatus</i>	priogalol	<i>T. vulgaris</i>
genistična kiselina	<i>T. vulgaris</i>	arbutin	<i>T. vulgaris</i>
siringična kiselina	<i>T. vulgaris</i>	3,4-dihidroksifeniloctena kiselina	<i>T. vulgaris</i>
vanilinska kiselina	<i>T. vulgaris</i> , <i>T. quinquecostatus</i>		
<b>Terpenoidi</b>			
<i>p</i> -cimen-9-il-glukopiranozil	<i>T. vulgaris</i>	oleanolična kiselina	<i>T. quinquecostatus</i> , <i>T. vulgaris</i>
5-glukopiranoziltimokinol	<i>T. vulgaris</i>	ursolična kiselina	<i>T. quinquecostatus</i>
2-glukopiranoziltimokinol	<i>T. vulgaris</i>	epifriedelinol	<i>T. quinquecostatus</i>
2,6-dihidroksi-4-izopropilfenil- $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozid	<i>T. quinquecostatus</i>	friedelinol	<i>T. mongolicus</i>
(-)-angelikoidenol-2- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranozid	<i>T. vulgaris</i>	friedelin	<i>T. mongolicus</i>
epirosmanol	<i>T. vulgaris</i>	daukosterol	<i>T. quinquecostatus</i>
karnozol	<i>T. vulgaris</i>	sitosterol	<i>T. quinquecostatus</i> , <i>T. mongolicus</i>
metil-karnozat	<i>T. vulgaris</i>	24( <i>S</i> )-stigmasterol-4-en-3-on	<i>T. quinquecostatus</i>

karnozinska kiselina	<i>T. vulgaris</i>		
<b>Ostalo</b>			
kininska kiselina	<i>T. vulgaris</i>	dotriakontan alkohol	<i>T. quinquecostatus</i>

#### 4.2.1. Fenolni spojevi

Do danas je u biljkama roda *Thymus* identificirano i izolirano oko 60 flavonoida, među kojima ima najviše flavona, flavonola i dihidroflavonoida (Slika 7.). Osim toga, pronađeni su flavanonoli, dihidročalkon i flavan-3-ol. Glavni flavoni u rodu *Thymus* su luteolin i apigenin, koji su supstituirani s različitim glikozilnim skupinama te tako čine brojne glikozide. Jedan od njih, apigenin-6,8-di-*C*-glikozid, je kemotaksomski marker roda *Thymus*. Pojavljuje se samo u određenim taksonomskim sekcijama, kao što su prethodno spomenuti *Pseudothymbra* i *Thymus*. Uz njega, cirsilineol i 8-metoksicirsilineol se također mogu smatrati kemotaksomskim markerima [3].

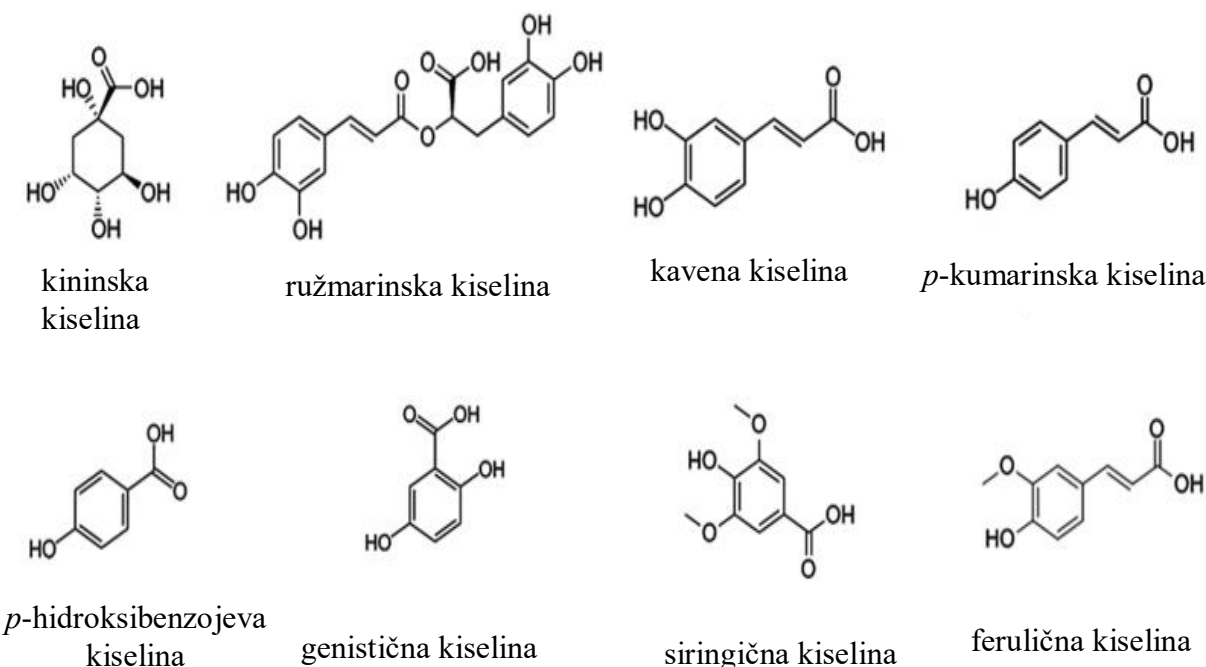
Studije o farmakološkom djelovanju ovih spojeva nisu brojne, osim u slučaju apigenina, luteolina, cirsimaritina, genkvanina i ksantomikrola, za koje je utvrđeno da pokazuju brojne medicinski značajne aktivnosti (Slika 7.). Istraživanja bi trebalo usmjeriti na ekstrakciju i biosintezu pojedinačnih spojeva koji dalje mogu postati osnova za fitolijekove [56].



Slika 7. Farmakološki značajni flavonoidi identificirani u *T. vulgaris* L. [56].

Glavni flavonoli izolirani iz biljaka roda *Thymus* su rutin, kvercetin i kempferol. Dihidroflavona je utvrđeno 14, 2 flavanonola, 1 flavan-3-ol i 1 dihidročalkon, a od njih se ističu naringenin i prenilnaringenin, kao i naringenin glikozidi. Osim njih, jedan od glavnih spojeva je eriodiktiol, zatim katehin i florizin [3].

Među fenilpropanoidima ističu se ferulična kiselina, kavena kiselina, klorogena kiselina, 3,5-dikafeoilkininska kiselina, derivati ružmarinske kiseline i salvianolična kiselina K. Utvrđena je prisutnost 8 lignana te 5 neolignana, koji su izolirani iz acetonskog ekstrakta *T. vulgaris* L. Uz to, utvrđeno je i nekoliko derivata benzojeve kiseline – protokatehnična kiselina, galna kiselina, *p*-hidroksibenzojeva kiselina, genistična kiselina, siringična kiselina, vanilinska kiselina i *O*-glikozid *p*-hidroksibenzojeve kiseline (Slika 8.) [3].



Slika 8. Farmakološki značajni fenoli identificirani u *T. vulgaris* L. [56].

#### 4.2.2. Terpenoidi i ostali spojevi

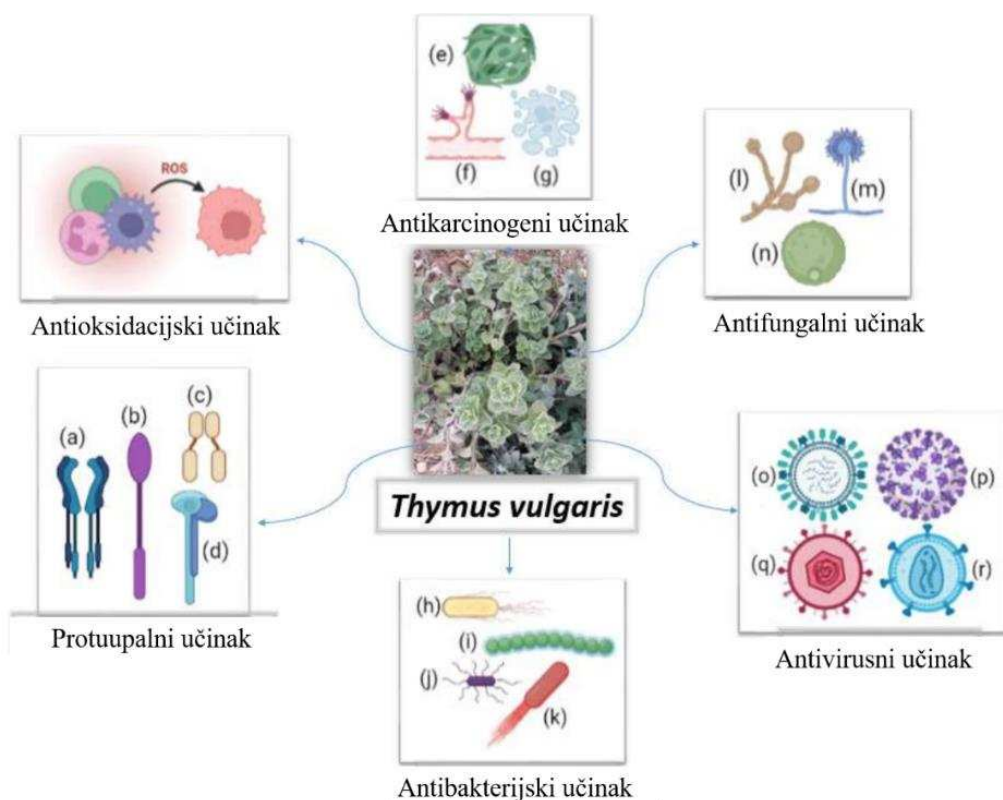
U biljkama roda *Thymus* otkriveni su triterpenoidi. U *T. vulgaris* L. su pronađeni monoterpeniski glikozidi i diterpenoidi. Oleanolična kiselina i ursolična kiselina pronađene su u *T. quinquecostatus*, kao i epifriedelinol (triterpeni). Još neki triterpeni pronađeni su u *T. mongolicus*, i to friedelinol i friedelin. U rodu *Thymus* nađeni su i fitosteroli, npr. daukosterol i sitosterol [3].

Aljarah i Hameed (2018) utvrdili su da metanolni ekstrakt *T. vulgaris* L. sadrži 9 alkaloida, 14 saponina, 12 steroida i 8 tanina. Međutim, razjašnjene su samo vrste spojeva, ali ne i njihova uloga. Naime, metaboliti poput steroida, tanina, alkaloida i saponina nisu detaljno istraženi, zbog čega je bitno usredotočiti fokus daljnjih istraživanja na biološki značaj ovih spojeva [59].

Banerjee i sur. (2019) su opisali kemijski profil jedinstvenog ramnogalakturonana I tipa polisaharida koji posjeduje esterski povezane fenolne kiseline. Radi se o polisaharidu izoliranom iz lista *T. vulgaris* L., a koji pokazuje značajnu antioksidacijsku aktivnost [60]. Međutim, mnogo toga ostaje nepoznato o drugim spojevima prisutnima u *T. vulgaris* L., a njihova identifikacija mogla bi dovesti do razjašnjenja nutritivnog profila ove biljke.

## 5. Farmakologija i toksikologija biljaka roda *Thymus*

Biološka aktivnost biljaka roda *Thymus* predmet je brojnih istraživanja, kojima se potvrđuje učinak ekstrakta i samih spojeva izoliranih iz ovih biljaka. Provođe se istraživanja *in vitro* i *in vivo*, a naglasak je na antioksidacijskoj aktivnosti, antimikrobnoj aktivnosti, antikarcinogenoj aktivnosti, protuupalnom učinku i sl. [3]. Sažeti prikaz bioloških učinaka *T. vulgaris* L. prikazan je na Slici 9.



Slika 9. Biološki učinci *T. vulgaris* L. [5].

Legenda: ROS – reaktivne kisikove vrste; (a) interferon; (b) faktor nekroze tumora, (TNF- $\alpha$ ); (c) nuklearni faktor-kappa B (NF- $\kappa$ B); (d) interleukin; (e) proliferacija; (f) angiogeneza; (g) apoptoza; (h) *Escherichia coli*; (i) *Streptococcus*; (j) *Bacillus*; (k) *Listeria*; (l) *Candida*; (m) *Aspergillus*; (n) *Cryptococcus*; (o) influenza virus (tj. virus gripe); (p) koronavirus-2 (SARS-CoV-2); (q) herpes virus; (r) virus humane imunodeficijencije (HIV).

## 5.1. Antimikrobno djelovanje

Rod *Thymus* pokazuje brojne antimikrobne aktivnosti, pogotovo esencijalna ulja i sam timol. Dokazan je antimikrobni učinak na 36 gram-pozitivnih bakterija, 34 gram-negativne bakterije, 62 gljivice i 27 kvasaca. Pokazuju inhibitorni učinak i na rezistentne i nerezistentne sojeve te sinergistički učinak s drugim antimikrobnim lijekovima [3].

Načini na koje biljke ovog roda djeluju na mikroorganizme su brojni. Smatra se da narušavaju ravnotežu između anabolizma i katabolizma, što u konačnici dovodi do smrti bakterija. Vjeruje se da reduciraju formiranje staničnih membrana i povećavaju njihovu dezintegraciju. Osim timola i karvakrola, drugi sekundarni metaboliti također imaju antibakterijsko djelovanje, kao na primjer luteolin i apigenin [3].

*T. vulgaris* L., točnije timol, pokazuje veliki potencijal u borbi protiv bakterija. To svojstvo je značajno jer je prekomjerna uporaba antibiotika dovela do sve veće pojave rezistentnosti sojeva bakterija. Preedy i sur. (2015) istraživali su antibakterijski potencijal eteričnog ulja i drugih derivata timijana. Primjetili su da je eterično ulje timijana učinkovitije naspram vodenih i etanolnih ekstrakata, kao i nekih antibiotika [18]. Arshad i sur. (2017) dokazali su *in vivo* učinkovitost metanolnog ekstrakta *T. vulgaris* L. na *Staphylococcus aureus*, i to na soj rezistentan na meticilin (*engl.* Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*, MRSA) [61].

Ulje timijana primijenjeno u obliku pare i tekućine pokazalo se učinkovitim protiv virusa gripe. Međutim, uočena je djelomična aktivnost u parnoj fazi, dok je tekuća faza pri koncentraciji od 3,1  $\mu\text{L/mL}$  potpuno inhibirala rast virusa, što je bilo bolje od korištene kontrole. Osim protiv gripe, pokazalo se da je ulje timijana učinkovito i na uzročnike spolno prenosivih bolesti, kao što su herpes simplex virus (HSV) i virus humane imunodeficijencije 1 (HIV-1). HSV posjeduje dva antigenska tipa, tip 1 (HSV-1) i tip 2 (HSV-2), što rezultira simptomima sličnim gripi kod ljudi. Ulje timijana s naglaskom na njegove glavne monoterpeneske spojeve,  $\alpha$ -terpinenom, terpinen-4-olom,  $\alpha$ -terpineolom,  $\alpha$ -pinenom, *p*-cimenom, timolom, citralom i 1,8-cineolom učinkovito djeluje na ove viruse [62].

Feriotto i sur. (2018) ciljali su na protein koji pomaže u transkripciji virusnog genoma. Ispitivanje je pokazalo značajan inhibicijski potencijal (3-6  $\mu\text{g/mL}$ ) u usporedbi s kontrolom. Test redukcijske aktivnosti protiv HIV-1 LTR transkripcije izazvane Tat-om rezultirao je  $\text{RT}_{50} = 0,83 \mu\text{g/mL}$  ( $\text{RT}_{50}$  – koncentracija koja određuje 50 % redukcije transkripcije), značajnim inhibicijskim potencijalom koji je smanjio virusnu transkripciju na

52 %. [63] S druge strane, metanolni ekstrakt biljke procijenjen je na inficiranim PBMC (mononuklearne stanice periferne krvi) s HIV-1 podtipom A. Utvrđeno je da vrijednost citotoksičnosti na PBMC iznosi 200 µg/ml. Antivirusni test je otkrio vrijednost  $EC_{50} > 500$  µg/mL ( $EC_{50}$  – pola maksimalne efektivne koncentracije). Studija se također usredotočila na ekspresiju glikoproteina CD4, gdje je srednji fluorescentni intenzitet stanica bio 22,72 u PBMC [64].

Studije su prvenstveno usmjerene na određivanje vrijednosti citotoksičnosti korištenjem životinjskih modela, koji možda neće dati točan prikaz u slučaju ispitivanja na ljudima [64]. Stoga postaje bitno provoditi pokuse s ljudskim staničnim linijama. Ljudske stanice mogu se tretirati ekstraktima, uljima i pojedinačnim spojevima kako bi se pružili uvjerljivi dokazi o njihovim učincima na ljudski organizam. Učinak biljnih frakcija na virusni genom i sintezu proteina treba proučavati zajedno s razinama ekspresije gena. Korištenje bioinformatičkih alata poput proučavanja učinkovitosti vezanja spojeva biljnog podrijetla na virusne proteine mogao bi biti izvediv pristup. Na primjer, Feriotta i sur. (2018) zaključili su ulogu kompleksa TAT/TAR-RNA u virulenciji HIV-1. Isti bi se kompleks mogao procijeniti u smislu njegove interakcije s biljnim fitokemikalijama [63].

Sve učestalije gljivične infekcije posljedica su modernog načina života zbog prekomjernog stresa, neadekvatne prehrane, premalo fizičke aktivnosti i sl. Sve to utječe na imunološki sustav koji je narušen i samim time onemogućen za učinkovitu obranu od patogenih mikroorganizama. Gljivične infekcije narušavaju kvalitetu života i jako sporo se liječe, zbog čega antigunfalni spojevi imaju sve veći značaj. Antifungalni učinak timijana pripisuje se fenolnim spojevima, timolu i karvakrolu [5].

Diánez i sur. (2018) utvrdili su da je eterično ulje timijana učinkovito protiv gljivičnih vrsta uključujući *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora parasitica*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria brassicae*, *Trichoderma aggressivum f.sp. europaeum* i *Cladobotryum mycophilum*. Osjetljivost ovih gljivičnih vrsta procijenjena je testom radialne inhibicije rasta, koji je otkrio inhibitornu vrijednost u rasponu 13,9-41,4 mm pri 5 % koncentraciji i vrijednosti  $ED_{50} = 9,3-18,0$  % za sve ispitane vrste [65].

183 izolata *Candida albicans* i 76 izolata *C. glabrata* testirano je na osjetljivost na ekstrakt *T. vulgaris* L. Utvrđeno je da su minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) i minimalna fungicidna koncentracija (MFC) u rasponu od 0,04-22,9 mg/mL za sve izolate. Ulje timijana smanjilo je rast gljivica u prvim satima (4-8 h). Zanimljivo je da je ulje timijana



inhibiralo rast gljivica uz dodatak sorbitola, osmoprotektora s mnogo nižom minimalnom inhibitornom koncentracijom (0,08 mg/mL). Osim toga, *in vivo* procjena korištenjem timola na *C. albicans* i *Caenorhabditis elegans* (oblič) rezultirao je potpunom inhibicijom gljivica pri 64 mg/l i 128 mg/ml, što je bolje nego kod standardnih korištenih lijekova [66].

Scalas i sur. (2018) procijenili su antifungalno djelovanje protiv *Cryptococcus neoformans* gdje su MIC i MFC bili u rasponu od 0,56-1,12 mg/mL, u skladu sa standardima (flukonazol (FLC), itrakonazol (ITC) i vorikonazol (VRC)). Ali pojedinačni antifungalni test pokazao je izvrsne rezultate s timolom (0,02-0,08 mg/mL) Eterično ulje timijana u parnoj i tekućoj fazi također se pokazalo učinkovitim protiv gljivica, gdje je otkriveno ukupno smanjenje rasta micelija pri koncentracijama od 20 odnosno 400 µg/mL za *Aspergillus flavus*. Također, tretman s 10 µg/mL ulja smanjio je proizvodnju aflatoksina za 97,0 odnosno 56,4 % kroz parnu i tekuću fazu [67].

Važno je napomenuti da je većina studija izvršila i fungistatičke i fungicidne procjene koje određuju potpunu inhibiciju gljivica. Nekoliko je studija provelo test vremena ubijanja i testove *in vivo* inhibicije kako bi se učinkovito odredilo antifungalno djelovanje. Međutim, postoji nedostatak provedenih antifungalnih studija, koristeći ekstrakte i spojeve na MDR vrstama (*engl.* Multiple Drug Resistance). S otpornošću gljivica treba se pozabaviti korištenjem različitih doza ekstrakata uz brigu o njihovoj citotoksičnosti. Nedostaju informacije o fungicidnom i fungistatičkom mehanizmu biljnih ekstrakata i eteričnog ulja. Zbog nedostatka studija o interakciji domaćin-patogen, potrebno je provesti napredne studije za dešifriranje ovog mehanizma kako bi se identificirala optimalna doza. Ove studije trebaju procijeniti citotoksične učinke kao i preživljavanje stanica kako bi se mogla izvesti klinička ispitivanja s biljnim frakcijama [68].

## 5.2. Antioksidacijsko djelovanje

Slobodni radikali kao produkti fizioloških procesa u organizmu imaju značajnu ulogu. Međutim, zbog njihovog prekomjernog stvaranja (ili unosa u organizam) može doći do narušavanja ravnoteže u organizmu i nastanka oksidacijskog stresa, što posljedično može pridonijeti disfunkciji stanica, tkiva i organa. Ekstrakt i monomerne komponente izolirane iz biljaka roda *Thymus* pokazali su se kao snažni prirodni antioksidansi, s pozitivnim učincima na oksidacijski stres (osobito kada su u pitanju jetra i srce). Smatra se da su za ovakvu aktivnost zaslužni timol i ružmarinska kiselina [3].

U regulaciji oksidativnog stresa sudjeluju i antioksidacijski enzimi poput katalaze,

glutaciona, glutation-*S*-transferaze i superoksid dismutaze. Abdel-Gabbar i sur. (2019) istražili su aktivnost ovih enzima *in vivo* na pokusnim kunićima, primjenom vodenog ekstrakta *T. vulgaris* L. Utvrdili su da su razine enzima povećane za 14,12 %, 27,69 %, 98,75 % i 78,29 % u odnosu na kontrolnu tvar (voda). Ukupni antioksidacijski kapacitet povećan je pri koncentraciji od 100 mg/kg i 50 mg/kg kod kunića, bez štetnih učinaka na mjerene parametre bubrega i jetre [69].

Razine enzima alanin aminotransferaze, aspartat aminotransferaze i alkalne fosfataze povećane su nakon primjene 500 mg/kg vodenog ekstrakta *T. vulgaris* L. tijekom 14 dana za 2 jedinice/ml. U kombinaciji s paracetamolom (200 mg/kg), razine enzima porasle su za 15-20 jedinica/ml u usporedbi s kontrolnom tvari [70].

### 5.3. Protuupalno djelovanje

Biljke roda *Thymus* pokazale su protuupalno djelovanje u brojnim *in vitro* i *in vivo* životinjskim i staničnim modelima. Ekstrakt timijana učinkovito inhibira CII-induciran odgovor u štakora s reumatoidnim artritismom, uz smanjenje koncentracije serumskog TNF- $\alpha$  i interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Uz to, smanjuje proizvodnju proupalnih citokina, interferona- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukina-6 (IL-6) i interleukina-17 (IL-17), te povećava protuupalne citokine, interleukin-10 (IL-10) i transformirajući faktor rasta- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). U tome je glavna aktivna komponenta karvakrol [3].

Eterično ulje *T. vulgaris* L. smanjuje porast koncentracije NF- $\kappa$ B, inducibilne sintaze dušikova oksida (iNOS), ciklooksigenaze 2 (COX-2), TNF- $\alpha$ , NO i oksidacijskog stresa. Timol smanjuje upalni odgovor tako što regulira proizvodnju citokina i signalnih puteva protein kinaza *in vitro* i *in vivo*. Sevanol, novi lignan, uglavnom inhibira kiselinski-osjetljive ionske kanale (*engl.*, acid-sensing ion channel, ASIC3) i mogao bi imati odlična analgetička i protuupalna svojstva [3].

Iako radikali dušikovog oksida (NO) djeluju kao unutarstanični glasnici u normalnim uvjetima, njihov povišeni broj može dovesti do problema citotoksičnosti i upale. Tsai i sur. (2011) istražili su protuupalni potencijal vodenog ekstrakta *T. vulgaris* L. Uočeno je značajno uklanjanje NO radikala s 80,3 % aktivnosti pri koncentraciji od 16  $\mu$ g/mL u skladu s vrijednostima dobivenima uporabom deksametazona u staničnoj liniji mišjih makrofaga J774A.1. Tsai i sur. (2011) ciljali su na inhibiciju 5-LOX, pokazujući inhibiciju na 0,005  $\mu$ g/mL (IC<sub>50</sub> – pola maksimalne inhibitorne koncentracije) koncentracije ulja timijana. Ovo je bilo učinkovitije od  $\alpha$ -bisabolola (0,049  $\mu$ g/mL) [71].

Abdelli i sur. (2017) analizirali su *in vivo* djelovanje ulja (100, 200 i 400 mg/kg) u miševa s edemom šape izazvanim karagenanom kako bi odredili protuupalnu aktivnost. Utvrđeno je da se debljina šape smanjuje pri dozi od 400 mg/kg. Rezultati su bili u skladu s kontrolama Tween 80 i diklofenakom ( $p < 0,001$ ). Studija je također odredila razinu toksičnosti ulja (4500 mg/kg), gdje je sedacija uočena pri 5000 mg/kg [72].

Slično, u modelu pleuritisa izazvanog karagenanom, ulje timijana u dozama od 250, 500 i 750 mg/kg smanjilo je upalne eksudate kao i migrirane leukocite u edemu uha. Pojedinačne procjene otkrile su da su bioaktivne komponente timol (34,2 %) i karvakrol (47,3 %) odgovorne za protuupalno djelovanje. Tsai i sur. (2011) istražili su razinu toksičnosti ulja timijana od 4000 mg/kg, što je u skladu s istraživanjima Abdelli i sur. (2017) [73].

#### 5.4. Antikancerogeno djelovanje

Biljke roda *Thymus* pokazuju citotoksično djelovanje na brojne stanične linije, npr. stanične linije raka dojke, raka debelog crijeva, raka jetre, raka prostate, raka pluća, raka jajnika i dr. Dokazan je pozitivan učinak na stanične linije leukemije i neuroblastoma. U ovome glavnu ulogu imaju fenolni spojevi eteričnog ulja, primjerice ružmarinska kiselina i salvianolna kiselina te metoksilirani flavoni. Ovi spojevi su jaki *in vitro* antioksidansi, što ukazuje na vezu između antioksidacijske aktivnosti i citotoksičnog učinka. Smatra se da je jedan od mehanizama njihovog djelovanja poticanje apoptoze tumorskih stanica, antiproliferativni učinak, te citotoksični i prooksidacijski učinci na primjerice stanice neuroblastoma. I brojne druge komponente izolirane iz roda *Thymus* pokazale su citotoksičan učinak, na primjer timol, karvakrol, kavena kiselina i apigenin [3].

Citotoksično djelovanje eteričnog ulja *T. vulgaris* L. analizirano je na staničnim linijama MCF7 (adenokarcinom dojke), HCT15 (karcinom debelog crijeva), HeLa (karcinom vrata maternice), HepG2 (hepatocelularni karcinom) i NCI-H460 (rak pluća nemalih stanica). Utvrđena je inhibicija rasta svih testiranih staničnih linija pri koncentraciji od 76,02-180,40  $\mu\text{g/mL}$ . Međutim, nije uočen nikakav učinak na netumorske PLP stanice jetre, čak ni pri visokoj koncentraciji od 400  $\mu\text{g/mL}$  [25]. U slučaju stanične linije THP-1 leukemije, u koncentraciji od 100  $\mu\text{g/mL}$  i  $> 200 \mu\text{g/mL}$ , spriječava proliferaciju [74].

Osim ulja, protiv stanica raka pluća učinkovitima su se pokazali i ekstrakti timijana. Aazza i sur. (2014) utvrdili su da je stanična linija raka pluća H460 osjetljiva na 0,11 % hidroalkoholnog ekstrakta i smanjenje NF- $\kappa$ B p65 i NF- $\kappa$ B p52 proteina zajedno sa

smanjenjem IL-1 $\beta$  i IL-8. Međutim, nije zabilježena citotoksičnost unutar raspona koncentracija od 0,04-0,60 % [75].

U studiji *in vivo*, primjena osušenog praha *T. vulgaris* L. na modelima karcinoma dojke štakora i 4T1 miša dovela je do značajnog smanjenja volumena 4T1 tumora za 85 % pri koncentraciji od 1 %. U modelu štakora, ista koncentracija smanjila je učestalost tumora za 53 % u usporedbi s kontrolnom, osim što je potisnula gene povezane sa svojstvima izazivanja tumora. Ovo se svojstvo pripisuje posljedičnoj regulaciji enzima kaspaze-2 i kaspaze-3, zajedno s bcl-2 i Bax proteinima koji rezultiraju apoptozom stanice. Rezultati su bili u skladu s korištenim kontrolama [75].

Važno otkriće bilo je da eterično ulje i ekstrakti timijana pokazuju značajan citotoksični učinak na tumorske stanice, ali ne i na normalne ljudske stanice. Deb i sur. (2011) pokazali su učinak timola na stanice akutne promijelotičke leukemije HL-60. Timol nije pokazao citotoksični učinak na PBMC u koncentracijama od 5 i 25  $\mu$ M. Međutim, opažena je znatna citotoksičnost pri koncentracijama >50  $\mu$ M, nakon 24 h [76]. Heidari i sur. (2018) primijenili su drugačiji pristup, gdje su i biljni ekstrakt i sintetizirane nanočestice srebra iz biljnog ekstrakta procijenjeni u odnosu na T47D ljudske stanice raka dojke. Stanice T47D pokazale su visoku osjetljivost na nanočestice (90 %) u usporedbi s onom ekstrakta (75 %). T47D stanice tretirane nanočesticama pokazale su 18,40 % ranu i 0,69 % kasnu apoptozu s različitim IC<sub>50</sub>, 12,5-100  $\mu$ g/mL, dok je u slučaju biljnog ekstrakta 15,67 % rana i 1,70 % kasna apoptoza [77].

Potrebno je detaljnije proučiti učinkovitost eteričnog ulja timijana i drugih derivata biljke prema tumorskim stanicama, radi istraživanja novih molekularnih putova koji bi pogodovali antikarcinogenom učinku biljke. Razjašnjenje mehanizama molekularnih putova *T. vulgaris* L. na različitim staničnim linijama s obzirom na biokemijske i fiziološke promjene koje se događaju unutar proliferirajuće stanice značajni su za razvoj lijekova. Aazza i sur. (2014) objašnjavaju antiproliferativno djelovanje za koje su zaslužni monoterpeni, karvakrol i timol kao najznačajniji bioaktivni spojevi eteričnog ulja timijana. Prema Aazza i sur. (2014) karvakrol i timol imaju veći antikarcinogeni potencijal od *p*-cimena i borneola [59, 74].

Iako su Deb i sur. (2011) zaključili mehanizam timola u oštećenju stanica raka induciranjem aktivnosti faktora koji inducira apoptozu (*engl.* Apoptosis-Inducing Factor, AIF) [76], mnogo toga ostaje nepoznato o drugim spojevima. Stoga studije trebaju dešifrirati odgovarajuće doze za konzumaciju, prije potpunog dekodiranja mehanizma djelovanja. Točno određivanje ovih doza pomoću ljudskih staničnih linija i životinjskih modela moglo

bi biti korisno za provođenje kliničkih ispitivanja za razvoj lijekova.

Bitno je usredotočiti se na druge spojeve prisutne u eteričnom ulju s nižom razinom toksičnosti. Mnogo toga ostaje nepoznato o djelovanjima na određene vrste karcinomima poput Hodgkinovih i ne-Hodgkinovih limfoma, Kaposijeva sarkoma i leukemije. Ove vrste raka, zajedno s drugim rijetkim tipovima raka, također je potrebno detaljnije istražiti .

## 5.5. Druge farmakološke aktivnosti

Spojevi i ekstrakti izolirani iz biljaka roda *Thymus* pokazali su još neke učinke. Taksifolin i ružmarinska kiselina inhibiraju pankreaznu lipazu, luteolin je pokazao dobru antispazmodičku aktivnost. *T. serpyllum* smanjuje sistolički i dijastolički krvni tlak, dok *T. vulgaris* L. djeluje antihipertenzivno. Neki spojevi, npr. katehin, klorogena kiselina, rutin i ružmarinska kiselina, pokazuju antidijabetičko djelovanje. Drugi spojevi ublažavaju simptome menopauze, poboljšavaju zdravlje kostiju, bez nuspojava. *Thymus* rod pokazuje i značajno antihelmintičko djelovanje, akaricidno djelovanje i potencijalni su insekticidi [3].

Ipak, potrebno je provesti detaljnija istraživanja kako bi se procijenilo antidijabetičko i antihiperglikemijsko djelovanje biljaka roda *Thymus*. Aljarah i Hameed (2018) istražuju *in vitro* inhibiciju enzima  $\alpha$ -glukozidaze i  $\alpha$ -amilaze za koje se zna da su potencijalne mete antidijabetičkih lijekova. Od vodenih, metanolnih i etanolnih ekstrakata u različitim koncentracijama (4, 8, 15 i 20  $\mu\text{g/ml}$ ), metanolni ekstrakt rezultirao je maksimalnom inhibicijom  $\alpha$ -glukozidaze ( $\text{IC}_{50} = 4,35, 22,04, 30,77, 43,13$ ) i  $\alpha$ -amilaze ( $\text{IC}_{50} = 6,39, 11,47, 17,01, 22,93$ ), ali manjom od standardnog lijeka akarboze [59].

Budući da razine stresa i tjeskobe igraju ključnu ulogu u dijabetesu [76], ekstrakt *T. vulgaris* L. također je procijenjen zbog svog utjecaja na razinu tjeskobe na modelu štakora. Vodeni ekstrakt pokazao je značajno povećanje kretanja štakora u otvorene ruke pri 100 mg/kg i 200 mg/kg ( $p < 0,01$ ) [79].

Ulje i ekstrakti timijana testirani su na sposobnost zaštite od UV-A i UV-B zraka, inhibicijom proliferacije stanica kože koje dovode do raka. Vodeni ekstrakt lista *T. vulgaris* L. (1,82  $\mu\text{g/mL}$ ) i timol (1  $\mu\text{g/mL}$ ) smanjili su oslobađanje dehidrogenaze mliječne kiseline u kultiviranim stanicama kože tretiranim UV zrakama. Značajna proliferacija stanica primijećena je u prethodno tretiranim stanicama kože u skladu s onom u korištenoj kontroli, zajedno sa smanjenjem oštećenja DNA ( $p < 0,01$ ) [80].

Na probleme s kostima uzrokovane starenjem, stanje koje karakterizira smanjena gustoća kostiju, utječe količina vitamina i kalcija. Elbahnasawy i sur. (2019) proveli su

studiju koja opisuje učinak praha *T. vulgaris* L. na štakore s niskim unosom kalcija. Studija je rezultirala značajnim povećanjem koštane mase u usporedbi s kontrolnom skupinom koja je držala dijetu s niskim sadržajem kalcija. Ova je studija dokazala potencijal *T. vulgaris* L. u liječenju osteoporoze i drugih bolesti povezanih s kostima [81].

*T. vulgaris* L. je učinkovit i kod zubnog karijesa zbog svojih antibakterijskih svojstava. Etanolni ekstrakt *T. vulgaris* L. zajedno s cinkovim oksidom korišten je kod pacijenata sa zubnim karijesom. Kliničke i radiografske procjene pokazale su poboljšanje od 94,4 % odnosno 88,2 % [56].

Uz studije koje prikazuju različite farmakološke potencijale *T. vulgaris* L., postaje očito da je potrebno provesti više studija koristeći različite pristupe. Na primjer, antidijabetičkoj studiji koju su proveli Aljarah i Hammed (2019) koristeći *in vitro* studije inhibicije enzima nedostaje uporaba životinjskih modela i ljudskih staničnih linija. Osim toga, procjena biljnih ekstrakata ovisna o dozi ključna je kako bi se razumjela optimalna doza i toksičnost [59].

Potrebno je više razjašnjenja u vezi s moždanom aktivnošću, lučenjem hormona i krvnim tlakom nakon primjene različitih doza ekstrakata *T. vulgaris* L. Nadalje, procjena aktivnosti *T. vulgaris* L. na zubni karijes mora se provesti korištenjem antiinfektivnog ili antibakterijskog testa [56]. Sveukupno, ove studije prikazuju *T. vulgaris* L. kao biljku s opusom različitih farmakoloških svojstava koja se pripisuju prisutnosti raznih bioaktivnih spojeva. Stoga više istraživanja treba usredotočiti na izolaciju, identifikaciju i određivanje farmakoloških svojstava pojedinačnih spojeva.

## 5.6. Farmakokinetika timola

Michiels i sur. (2008) te Anderson i sur. (2012) potvrdili su brzu apsorpciju timola nakon oralnog unosa i njegovu razgradnju u želucu i tankom crijevu [82, 83]. Schroder i Vollmer (1932) dolazali su prisutnost timola u želucu, crijevima i urinu nakon njegovog oralnog unosa sa sezamovim uljem u dozi od 500 mg u štakora i 1-3 g u zečeva [84]. Robbins (1934) je utvrdio da je unos jedne doze timola (1 ili 3 g) u obliku želatinoznih kapsula pokazao prisutnost timolovih konjugata u urinu psa (22 ili 34 %) nakon 3-4 h [85]. Nieddu i sur. (2014) su utvrdili da se oralni unos jedne doze timola (50 mg/kg) brzo apsorbira i sporo eliminira unutar 24 h. Maksimalna koncentracija (Tmax) dosegnuta je nakon 30 minuta, a oko 0,3 h je potrebno da se dosegne vrijeme polu-života apsorpcijske faze ( $t_{1/2}$ ). Manje

koncentracije timola pronađene su u jetri, plućima, bubrezima i mišićima, a veće koncentracije su pronađene u sluznici i crijevima što ukazuje na njegovu djelomičnu apsorpciju [86]. Prema Kohlert i sur. (2002), nakon unosa jedne tablete Bronchipret TP, što odgovara 1,08 mg timola, metaboliti timla bili su detektirani u plazmi nakon 20 min. Brza apsorpcija timola ukazuje da se timol uglavnom apsorbira u gornjim dijelovima probavnog sustava. Uz to, utvrdili su da u zdravih dobrovoljaca, oralni unos jedne Bronchipret TP tablete rezultira pikom koncentracije u plazmi ( $C_{max}$ ) oko 93,11 ng/mL,  $T_{max}$  = 1,97 h,  $t_{1/2}$  od 10,2 h, te srednjim vremenom apsorpcije (MAT) od 0,53 h. Utvrđeno je čišćenje iz organizma od 1,2 L/h, volumen distribucije u ustaljenom stanju od 14,7 L te volumen distribucije tijekom faze eliminacije od 17,7 h [15, 87].

Slobodni timol često nije moguće detektirati u ljudskoj plazmi. U sistemske cirkulaciji je prisutan kao timol sulfat, ne glukuronid, a može se detektirati pomoću separativne analitičke tehnike koja povezuje tekućinsku kromatografiju i masenu spektrometriju (*engl.* liquid chromatography-mass spectrophotometry/mass spectrophotometry, LC-MS/MS). Timol sulfat se može detektirati u plazmi 20 min nakon unosa. Maksimalna koncentracija timola u plazmi ( $93,1 \pm 24,5$  ng/mL) detektirana je 1,97  $\pm$  0,77 h nakon unosa. Biodostupnost timola izmjerena u plazmi kao timol sulfat je bila oko 16 %. Eliminira se putem bubrega i detektira u urinu kao timol konjugati. Volumen distribucije ( $V_{dss/f}$ ) od 14,7 L je pokazao da se timol sulfati uglavnom nalaze u ekstracelularnom prostoru [15, 87].

Raof i sur. (1996) te Shipkova i sur. (2001) utvrdili su da timol prolazi glukuronidaciju djelovanjem enzima 50-difosfoglukuronozil-transferaze (UGT) [88, 89]. Ogata i sur. (1995) utvrdili su da odsutnost timol glukuronida u plazmi može biti rezultat niske aktivnosti jetrene UGT u usporedbi sa sulfotransferazom, a nastank glukuronida uočen je pri visokim dozama [89]. Prema istraživanju Takada i sur. (1979), u zdravih dobrovoljaca, timol (0,6 g/kg) se metabolizira do timol sulfata, timol glukuronida i timol timohidrokinon sulfata, te se eliminira putem urina [15, 91].

Kohlert i sur. (2002) utvrdili su da se eliminacija timolnih konjugata putem urina može detektirati u prvih 24 h, s tim da se većina eliminira nakon 6 h. Kombinirana količina timol sulfata i glukuronida eliminiranih putem urina u prva 24 h iznosio je  $16,2 \pm 4,5$  % od unosa timola. Potpuni bubrežni klirens je  $0,271 \pm 0,7$  L/h [87]. Takada i sur. (1979) su istraživali metabolizam timola u zečeva i ljudi. Utvrdili su da se timol (0,5 g/kg) kojim su zečevi hranjeni metabolizirao do timol glukuronida (glavni metabolit timola) i eliminirao u

obliku metabolita glukuronske kiseline i sumporne kiseline [91]. Austgulen i sur. (1987) utvrdili su brzu ekskreciju timola i njegovih metabolita putem urina u muških albino Wistar štakora [92]. Williams (1959) dao je pregled prijašnjih istraživanja o metabolizmu timola i ukazao na njegovu ekskreciju kao sulfati i glukuronidni konjugati u urinu pasa, štakora i ljudi [93]. Prema Robbins (1934), oko 1 g (jedna trećina) doze je eliminiran u urinu pasa, dok u fecesu timol nije utvrđen [15, 85].



## 5.7. Toksičnost i mjere sigurnosti

Toksikologija je znanost koja se bavi proučavanjem štetnih učinaka tvari na žive organizme. Proučava simptome trovanja, mehanizme djelovanja otrova i postupke liječenja. Još je Paracelsus rekao da je sve otrov samo je pitanje doze. Glavni kriterij, tj. mjera toksičnosti neke tvari je upravo doza, odnosno stupanj izloženosti organizma toj tvari. Biljke kao i njihovi derivati koriste se u narodnoj medicini kao lijekovi odavnina, čemu svjedoče i razni zapisi o upotrebi bilja u ljekovite svrhe, prije kojih su se recepti prenosili usmenom predajom [94].

Zbog nedovoljno istraživanja i kliničkih studija još uvijek nije jasno definirana doza koja uzrokuje toksičan učinak, kao ni ona koja je optimalna kako bi se postigao što bolji učinak, pa se doziranje temelji na prijašnjoj praksi. Kod biljaka je teško postići standardizaciju jer se aktivne komponente mogu razlikovati od biljke do biljke, pa je iz tog razloga teško napraviti istraživanje koje bi vrijedilo u svim uvjetima. Biljke i njihovi derivati generalno se svrstavaju u sigurne tvari, a nuspojave se uglavnom javljaju u vidu dermatoloških ili alergijskih reakcija [94].

Iako se biljke roda *Thymus* naširoko koriste u svakodnevnom životu, toksičnost ovog biljnog roda slabo je istražena. Timijan korišten kao začim procijenjen je kao siguran od strane američke Agencije za hranu i lijekove (*engl.* U.S. Food and Drug Administration, FDA), dok ga se oralno ili lokalno (putem kože) ne preporučuje koristiti dnevno u dozama većim od 10 g suhog lista koji sadrži više od 0,03 % timola [94].

Komponente eteričnog ulja se smatraju sigurnima, recimo timol koji je popularan prirodni, ne-toksični i ekološki prihvatljiv bioaktivni spoj s antimikrobnim, antifungalnim, antioksidacijskim i citiotoksičnim djelovanjem [3]. Eterično ulje timijana nije sigurno koristiti nerazrijeđeno oralnim ili lokalnim putem, jer može uzrokovati nuspojave u rangu od mučnine do zastoja disanja. Letalna doza (LD<sub>50</sub>) eteričnog ulja kod štakora iznosi 2,84 g/kg tjelesne mase [94].

Nedavno su se pojavili dokazi o potencijalno toksičnom učinku visokih doza timola. Utvrđeno je da timol može štetno djelovati na jetru i bubrege. Uz to, visoke doze timola dovode do oštećenja DNA u limfocitima, do poremećaja pamćenja i puknuća krvno-moždane barijere. Stoga bi biljke, ekstrakti i esencijalna ulja trebali biti detaljno ispitani kako bi se utvrdila njihova sigurnost i toksikološke granice. Osim toga, farmakokinetika biljaka roda *Thymus* neophodna je za kliničku primjenu [3].

## 6. Zaključak

Unazad nekoliko desetljeća možemo svjedočiti osvještavanju generacija u pogledu brige o prirodi i svijetu koji nas okružuje, kao i o očuvanju zdravlja i prevenciji bolesti. Unatoč tome što su se biljke u narodnoj medicini koristile od davnina, razvitkom farmaceutske industrije njihova upotreba postupno se smanjivala. Danas se ljudi ponovo okreću alterantivama iz prirode. Biljke sadrže brojne bioaktivne spojeve koji služe, između ostalog, i za zaštitu od patogenih organizama zbog čega su i nama iznimno važni i korisni.

Upravo biljke roda *Thymus* često se koriste kao funkcionalna hrana i u narodnoj medicini u cijelom svijetu. Koriste se kao esencijalno ulje ili ekstrakt za liječenje brojnih bolesti, kao što su bolesti dišnog i probavnog susrava, kardiovaskularne bolesti, bolesti bubrega, upalni procesi. U liječenju ovih stanja znatno pomažu aktivni spojevi izolirani iz ovih biljaka, primjerice fenolni spojevi, timol, karvakrol, ružmarinska kiselina. Zbog toga su ove biljke predmet sve brojnijih istraživanja. Međutim, iako rod broji oko 250 vrsta, samo ih je nekoliko istraženo u kontekstu farmakokemije i farmakologije, a raznolikost bioaktivnih spojeva čini ih značajnima ne samo za medicinu, nego i za kozmetologiju i kulinarsvo. Istraživanja se uglavnom fokusiraju na hlapljive komponente, dok se nehlapljivi sekundarni metaboliti manje istražuju. Većina istraživanja bavi se *in vitro* modelima bioaktivnosti, dok detaljni mehanizmi djelovanja najčešće nisu istraženi. Stoga bi rod *Thymus* trebao biti detaljnije istražen, a dodatne studije bi mogle doprinijeti i kliničkoj primjeni ovih biljaka. Primjena novih tehnologija mogla bi polučiti još više vrijednih studija uz pomoć kojih bismo mogli iskoristiti puni potencijal ovog biljnog roda.

## 7. Literaturna vrela

- [1] G. A. Pirbalouti, Z. E. Bistghani, F. Malekpoor, *J. Herbal Drugs* **6** (2015), 93–100.
- [2] <https://hirc.botanic.hr/fcd/ShowResults.aspx?search=1085579495> (26. 10. 2023.)
- [3] L. Xiao, H. Ting, W. Xiuhuan, S. Meng, Y. Xin, F. Shusheng, W. Le, W. Xiaoping, X. Xiao, S. Hong, S. Gaimei, *Chem. Biodivers.* **16** (2019), e1900254.
- [4] M. Stanković, *Lamiaceae species: Biology, Ecology and Practical Uses*, MDPI, Plants, Book Edition of the Special Issue, 2020.
- [5] D. Hammoudi Halat, M. Krayem, S. Khaled, S. Younes, *Nutritiens* **14** (2022), 2104.
- [6] S. Hosseinzadeh, A. J. Kukhdan, A. Hosseini, *Global J. Pharmacol.* **9** (2015), 260–266.
- [7] B. E. Stahl, R. P. Venskutonis, *Thyme u: Handbook of Herbs and Spices*, Woodhead Publishing, London, UK, 2012.
- [8] <https://www.medicalnewstoday.com/articles/284490#diet> (17. 10. 2023.)
- [9] <https://www.hooksgreenherbs.com/thymus-vulgaris-thyme-common-buy-herb-seeds-online/> (17. 10. 2023.)
- [10] M.S. Nabavi, A. Marchese, M. Izadi, V. Curti, M. Daglia, F. S. Nabavi, *Food Chem.* **173** (2015), 339–347.
- [11] V. Kuete V., *Thymus vulgaris u: Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, Elsevier Inc., 2017.
- [12] E. Basch, C. Ulbricht, P. Hammerness, *J. Herb. Pharmacother.* **4** (2004), 49–68.
- [13] <https://farmerstrend.co.ke/trending/thyme-farming-in-kenya-an-easy-to-grow-profitable-herb/> (26. 10. 2023.)
- [14] S. Jarić, M. Mitrović, P. Pavlović, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2015** (2015), 101978.
- [15] M. F. N. Meeran, H. Javed. H. Al Tae, *Front. Pharmacol.* **8** (2017), 380–389.
- [16] V. Mozaffarian, *A Pictorial Dictionary of Botany Botanical Taxonomy Latin–English–French–Germany–Persian/Complied*, Farahang Moaser, Tehran 2008.
- [17] S. Vimalanathan, J. Hudson, *Am. J. Essent. Oil. Nat. Prod.* **2** (2014), 47–53.
- [18] Preedy V.R., *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, first ed. Acad Press, New York, 2015.
- [19] N. Isakakroudi, A. Talebi, M. Allymehr, *Arch. Razi. Inst.* **73** (2018), 113–120.
- [20] Z. Amirghofran, H. Ahmadi, M. H. Karimi, *J. Immun. Immunochem.* **33** (2012), 388–

402.

- [21] B. E. Stahl, F. Saez, *Thyme: The Genus Thymus*, CRC Press/Taylor and Francis Group, New York, USA, 2002.
- [22] P. Satyal, B. Murray, R. McFeeters, *Foods* **5** (2016), 70–75.
- [23] F. Bartolucci, G. Domina, *Ann. Bot. Fennici* **51** (2014), 54–62.
- [24] Q. Benameur, T. Gervasi, V. Pellizzeri, *Nat. Prod. Res.* **33** (2019), 2647–2654.
- [25] M. Nikolić, J. Glamočlija, I. Ferreira, R. C. Calhelha, Â. Fernandes, T. Marković, D. Marković, A. Giweli, M. Soković, *Ind. Crops Prod.* **52** (2014), 183–190.
- [26] F. Guesmi, H. Beghalem, A. K. Tyagi, M. Ben Ali, R. Ben Mouhoub, H. Bellamine, A. Landoulsi, *Biomed. Environ. Sci.* **29** (2016), 275–285.
- [27] B. Šarić-Kundalić, C. Dobeš, V. Klatte-Asselmeyer, J. Saukel, *J. Ethnopharmacol.* **131** (2010), 33–55.
- [28] O. Nawash, M. Shudiefat, R. Al-Tabini, K. Al-Khalidi, *J. Ethnopharmacol.* **148** (2013), 921–925.
- [29] L. E. Bouzidi, C. A. Jamali, K. Bekkouche, L. Hassani, H. Wohlmuth, D. Leach, A. Abbad, *Ind. Crops Prod.* **43** (2013), 450–456.
- [30] S. Casiglia, M. Bruno, E. Scandolera, F. Senatore, F. Senatore, *Arabian J. Chem.* **5** (2015), 1–9.
- [31] L. M. Bidak, S. A. Kamal, M. W. A. Halmy, S. Z. Heneidy, *J. Global Ecol. Environ.* **3** (2015), 433–447.
- [32] F. Leonor, M. Graça, G. Sónia, C. Ludmila, V. Florencia, T. Adriano, F. A Cristina, J. G. Barroso, L. G. Pedro, *J. Agric. Food Chem.* **53** (2005), 8162–8168.
- [33] B. Gürdal, Ş. Kültür, *J. Ethnopharmacol.* **146** (2013), 113–126.
- [34] V. Rowshan, A. Bahmanzadegan, M. J. Saharkhiz, *Ind. Crops Prod.* **49** (2013), 97–101.
- [35] A. G. Pirbalouti, M. Hashemi, F. T. Ghahfarokhi, *Ind. Crops Prod.* **48** (2013), 43–48.
- [36] M. Rahimmalek, S. A. H. Goli, *Ind. Crops Prod.* **42** (2013), 613–619.
- [37] S. Galasso, S. Pacifico, N. Kretschmer, S. P. Pan, S. Marcianci, S. Piccolella, P. Monaco, R. Bauer, *Phytochemistry* **107** (2014), 80–90.
- [38] A. M. Scherrer, R. Motti, C. S. Weckerle, *J. Ethnopharmacol.* **97** (2005), 129–143.
- [39] B. Menale, O. De Castro, C. Cascone, R. Muoio, *J. Ethnopharmacol.* **192** (2016), 320–349.

- [40] B. K. Zlatković, S. S. Bogosavljević, A. R. Radivojević, M. A. Pavlović, *J. Ethnopharmacol.* **151** (2014), 704–713.
- [41] E. A. Turumtay, F. İslamoğlu, D. Çavuş, H. Şahin, H. Turumtay, B. Vanholme, *Ind. Crops Prod.* **52** (2014), 687–694.
- [42] I. Rasooli, S. A. Mirmostafa, *Fitoterapia* **73** (2002), 244–250.
- [43] L. Cornara, A. La Rocca, S. Marsili, M. G. Mariotti, *J. Ethnopharmacol.* **125** (2009), 16–30.
- [44] A. Pieroni, *J. Ethnopharmacol.* **70** (2000), 235–273.
- [45] M. Gilca, G. S. Tiplica, C. M. Satavastru, *Clin. Dermatol.* **36** (2018), 338–352.
- [46] E. Carrió, J. Vallè, *J. Ethnopharmacol.* **141** (2012), 1021–1040.
- [47] S. A. Sargin, E. Akçice, S. Selvi, *J. Ethnopharmacol.* **150** (2013), 860–874.
- [48] F. A. Al-Bayati, *J. Ethnopharmacol.* **116** (2008), 403–406.
- [49] N. H. Habashy, M. M. Abu Serie, W. E. Attia, S. A. M. Abdelgaleil, *J. Funct. Foods* **40** (2018), 317–328.
- [50] R. Alarcón, M. Pardo-de-Santayana, C. Priestley, R. Morales, M. Heinrich, *J. Ethnopharmacol.* **176** (2015), 207–224.
- [51] M. Parada, E. Carrió, M.À. Bonet, J. Vallè, *J. Ethnopharmacol.* **124** (2009), 609–618.
- [52] <https://www.fda.gov/downloads/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/UCM142644.pdf> (5. 7. 2019.)
- [53] F. Sefidkon, *J. Essent. Oil Res.* **14** (2002), 116–117.
- [54] R. Piccaglia, M. Marotti, *Flavour Fragr. J.* **6** (1991), 241–244.
- [55] A. M. Rizk, *The phyto chemistry of flora of qatar*, King Print of Richmond, VB, 1986.
- [56] S. M. Patil, R. Ramu, P. S. Shirahatti, C. Shivamallu, R. G. Amachawadi, *Heliyon* **7** (2021), e07054.
- [57] A. Kowalczyk, M. Przychodna, S. Sopata, A. Bodalska, I. Fecka, *Molecules* **18** (2020), 4125.
- [58] A. C. Aprotosoie, M. Hăncianu, I. I. Costache, *Flavour. Fragr. J.* **29** (2014), 193–219.
- [59] A. K. Aljarah, I. H. Hameed, *Indian J. P. Health. Res. Dev.* **9** (2018), 388–392.
- [60] P. Banerjee, S. Mukherjee, K. Bera, *Int. J. Biol. Macromol.* **125** (2019), 580–587.
- [61] N. Arshad, A. Mehreen, I. Liaqat, *BMC Complement. Altern. Med.* **17** (2017), 1–7.
- [62] A. Astani, J. Reichling, P. Schnitzler, *Phytother. Res.* **24** (2010), 673–679.
- [63] G. Feriotto, N. Marchetti, V. Costa, *Chem. Biodivers.* **15** (2018), 29282856.

- [64] M. S. Farsani, M. Behbahani, H. Z. Isfahani, *Cell J.* **18** (2016), 255–261.
- [65] F. Diáneez, M. Santos, C. Parra, *Let. Appl. Microbiol.* **67** (2018), 400–410.
- [66] R. V. Prasanth, V. K. Ravi, P. V. Varsha, *Med. Aromat. Plants* **3** (2014), 1–3.
- [67] D. Scalas, N. Mandras, J. Roana, *BMC Complement. Altern. Med.* **18** (2018), 1–13.
- [68] C. Shu, L. Sun, W. Zhang, *Immun. Res.* **64** (2016), 1013–1024.
- [69] M. Abdel-Gabbar, R. R. Ahmed, M. A. Kandeil, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **103** (2019), 1758–1767.
- [70] M. A. Abd El Kader, N. Z. Mohamed, *Aust. J. Basic. Appl. Sci.* **6** (2012), 467–474.
- [71] E. Vigo, A. Cepeda, R. Perez-Fernandez, *J. Pharm. Pharmacol.* **56** (2004), 257–263.
- [72] W. Abdelli, F. Bahri, A. Romane, *Nat. Prod. Commun.* **12** (2017), 611–614.
- [73] F. C. Fachini-Queiroz, R. Kummer, C. F. Estevão-Silva, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2012** (2012), 657026.
- [74] S. Aazza, B. Lyoussi, C. Megías, *Nat. Prod. Commun.* **9** (2014), 587–594.
- [75] P. Kubatka, S. Uramova, M. Kello, *Int. J. Mol. Sci.* **20** (2019) 1749.
- [76] D. D. Deb, G. Parimala, S. Saravana Devi, *Chem-Biol. Int.* **193** (2011), 97–106.
- [77] Z. Heidari, A. Salehzadeh, S. A. Sadat Shandiz, *3 Biotech.* **8** (2018), 177.
- [78] L. J. Weaver, S. V. Madhu, *Am. J. Pub. Health* **105** (2015), 2335–2340.
- [79] A. Komaki, F. Hoseini, S. Shahidi, *J. Trad. Compl. Med.* **6** (2016), 257–261.
- [80] L. Cornaghi, F. Arnaboldi, R. Calò, *Cells. Tiss. Org.* **201** (2016), 180–192.
- [81] A. S. Elbahnasawy, E. R. Valeeva, E. M. El-Sayed, *J. Nutr. Metabol.* **2019** (2019), 1431384.
- [82] J. Michiels, J. Missotten, N. Dierick, D. Fremaut, P. Maene, S. De Smet, *J. Sci. Food Agric.* **88** (2008), 2371–2381.
- [83] R. C. Anderson, N. A. Krueger, K. J. Genovese, T. B. Stanton, K. M. Mackinnon, R. B. Harvey, T. S. Edrington, T. D. Callaway, A. J. Nisbet, *J. Food Prot.* **75** (2012), 758–761.
- [84] V. Schroder, H. Vollmer, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **168** (1932), 331–353.
- [85] B. H. Robbins, *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* **52** (1934), 54–60.
- [86] M. Nieddu, G. Rassu, G. Boatto, P. Bosi, P. Trevisi, P. Giunchedi, A. Carta, E. Gavini., *Carbohydr. Polym.* **102** (2014), 393–399.
- [87] C. Kohlert, G. Schindler, R. W. Marz, G. Abel, B. Brinkhaus, H. Derendorf, E.-U. Grafe, M. Veit, *J. Clin. Pharmacol.* **42** (2002), 731–737.
- [88] A. A. Raoof, L. J. van Obbergh, J. de Ville de Goyet, R. K. Veerbeek, *Eur. J. Clin.*

*Pharmacol.* **50** (1996), 91–96.

[89] M. Shipkova, C. P. Strassburg, F. Braun, F. Streit, H.-J. Grone, V. W. Armstrong, R. H. Tukey, M. Oellerich, E. Weiland, *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **132** (2001), 1027–1034.

[90] N. Ogata, N. Matsushima, T. Shibata, *Pharmacology* **51** (1995), 195–204.

[91] M. Takada, I. Agata, M. Sakamoto, N. Yagi, N. Hayashi, *J. Toxicol. Sci.* **4** (1979), 341–350.

[92] L. T. Austgulen, E. Solheim, R. Scheline, *Pharmacol. Toxicol.* **61** (1987), 98–102.

[93] R. T. Williams, *Detoxication Mechanisms*, Chapman and Hall, London, VB, 1959.

[94] E. Basch, C. Ulbricht, P. Hammerness, A. Belvins, D. Sollars, *J. Herb. Pharmacother.* **4** (2004), 49–67.