

OLEJEK TYMIANKOWY W ZASTOSOWANIACH LECZNICZYCH I KOSMETYCZNYCH (SKŁADNIKI CHEMICZNE I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA)

THYME ESSENTIAL OIL IN MEDICINAL AND COSMETIC APPLICATIONS (CHEMICAL COMPONENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITY)

**Magdalena Walasek-Janusz*, Patrycja Cichosz,
Renata Nurzyńska-Wierdak**

*Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa, Wydział Ogrodnictwa i Architektury
Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
e-mail: magdalena.walasek@up.lublin.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Pochodzenie, morfologia i surowiec tymianku pospolitego

2. Skład chemiczny olejku tymiankowego

3. Aktywność biologiczna olejku tymiankowego

3.1. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

3.2. Aktywność antyoksydacyjna i cytotoksyczna

3.3. Aktywność przeciwzapalna

3.4. Aktywność spazmolityczna

3.5. Działanie repelentne

4. Olejki eteryczne w kosmologii

4.1. Olejek tymiankowy jako środek konserwujący i pielęgnacyjny

4.2. Olejek tymiankowy w pielęgnacji skóry głowy i włosów

4.3. Stabilizacja olejku tymiankowego w produkcji kosmetycznej

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Dr nauk farm. Magdalena Walasek-Janusz jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Obecnie pracuje w Katedrze Warzywnictwa i Zielarstwa Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie na stanowisku adiunkta. W swojej pracy zawodowej zajmuje się analizą zawartości metabolitów wtórnych w materiale roślinnym, ze szczególnym uwzględnieniem składu chemicznego olejków eterycznych oraz oceną ich aktywności biologicznej.



<https://orcid.org/0000-0002-7085-2212>

Patrycja Cichosz jest studentką II roku studiów II^o kierunku zielarstwo i fitoprodukty na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, absolwentką studiów inżynierskich na tym kierunku oraz absolwentką studiów inżynierskich na kierunku biokosmetologia prowadzonych na Wydziale Biologii Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Obecnie finalizuje pracę magisterską dotyczącą plonowania tymianku pospolitego oraz oceny składu chemicznego i aktywności antyoksydacyjnej surowca.

Prof. dr hab. Renata Nurzyńska-Wierdak ukończyła studia magisterskie na Wydziale Ogrodniczym Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie), gdzie pracuje od 1991 roku. Pracę doktorską obroniła na tej uczelni w 1996 roku, habilitowała się w 2006 roku, tytuł profesora nauk rolniczych otrzymała w 2013 roku. W latach 2019-2021 pełniła funkcję Dziekana Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, w latach 2016-2019 była członkiem Senackiej Komisji ds. Nauki i Komercjalizacji Wyników Badań Naukowych oraz przewodniczącą Komisji ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu. Była współorganizatorem trzech nowych kierunków studiów na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu: zielarstwo i terapie roślinne, hortiterapia oraz zielarstwo i fitoprodukty, z którymi związana była lub jest pracą organizacyjną i dydaktyczną. Obecnie pełni funkcję kierownika Katedry Warzywnictwa i Zielarstwa. Jej zainteresowania naukowe obejmują modyfikacje agrotechniczne w uprawach ogrodniczych w odniesieniu do walorów odżywczych i prozdrowotne roślin warzywnych i leczniczych, jak również inne czynniki zmienności składu chemicznego roślin uprawnych, ze szczególnym uwzględnieniem zmian ilościowych i jakościowych oraz aktywności biologicznej olejków eterycznych.



<https://orcid.org/0000-0002-9373-4841>

ABSTRACT

Essential oils - aromatic plant substances with strong biological activity - are increasingly used in pharmaceutical and cosmetic production. An example of an extremely active essential oil is thyme essential oil, obtained by steam distillation of thyme herb. Thyme oil has proven antibacterial, antifungal, and antiviral activity. It is also characterized by strong antioxidant activity, as well as anti-inflammatory, antispasmodic, and repellent properties. The biological activity of thyme oil and its possible applications depend on the origin of the raw material and the extraction method. Thymol and carvacrol are mentioned as the most active compounds of thyme oil, although other ingredients are also mentioned. The intended therapeutic effects can be achieved by using pure, natural oil and proper application. In cosmetic production, thyme oil can act as an active ingredient of the product and/or a natural preservative that extends its shelf life.

Keywords: aromatic plants, active substances, antimicrobial and antioxidant activity, biocosmetics

Słowa kluczowe: rośliny aromatyczne, substancje aktywne, aktywność przeciwdrobnoustrojowa i antyoksydacyjna, biokosmetyki

WYKAZ STOSOWANYCH SYMBOLI I OZNACZEŃ

OE	– olejki eteryczne
OT	– olejek tymiankowy

WPROWADZENIE

Na rynku europejskim istnieje wiele produktów pochodzenia roślinnego, które posiadają cenne właściwości biologiczne: przeciwutleniające, antyseptyczne, moczopędne, stymulujące centralny układ nerwowy, uspokajające, wykrztuśne, trawienne itp. Jednymi z częściej stosowanych są olejki eteryczne (OE), aromatyczne wieloskładnikowe substancje o silnych działaniach biologicznych. Substancje te są używane od tysięcy lat w różnych kulturach do celów leczniczych i aromatycznych. Są to skoncentrowane hydrofobowe ciecze zawierające lotne (łatwo odparowujące w temperaturze pokojowej) związki chemiczne. Źródłem OE są dziko rosnące i uprawiane różne gatunki roślin. Na świecie występuje około 18 tysięcy gatunków roślin olejkowych. Na skalę przemysłową wytwarza się około 300 różnych OE, z których tylko kilkadziesiąt ma większe znaczenie użytkowe. OE wykorzystywane są w celach terapeutycznych, a także jako aromaty i konserwanty [1]. Można je klasyfikować na podstawie różnych metod pozyskiwania, składu chemicznego, aktywności biologicznej, aromatu czy nut zapachowych. Podobnie jak wszystkie związki organiczne, OE składają się z cząsteczek, będących pochodnymi terpenów, alkoholi, estrów, aldehydów, ketonów i fenoli itp. Inne składniki OE obejmują związki mono-, seskwi- i diterpenowe oraz ich tlenowe pochodne, laktony, kumaryny, etery, tlenki [2].

Rodzina Lamiaceae (jasnotowate) obejmuje około 236 rodzajów i 6900 do 7200 gatunków i jest jedną z głównych rodzin roślin aromatycznych i leczniczych, które wytwarzają znaczne ilości OE. Wśród gatunków z tej rodziny powszechnie znane i wysoko cenione w medycynie tradycyjnej na całym świecie są rośliny z rodzaju *Origanum* i *Thymus* [3-5]. Rodzaj *Thymus* L. (Lamiaceae) skupia liczne gatunki i odmiany o odmiennych cechach botanicznych i dużej różnorodności chemicznej. Jest jednym z najbardziej złożonych taksonomicznie rodzajów w rodzinie jasnotowatych. Klasyfikuje się 250-350 dziko rosnących gatunków tymianku, zimozielonych gatunków bylin i półkrzewów zielnych, występujących w Europie Południowej, Afryce Północnej i Azji [6,7].

1. POCHODZENIE, MORFOLOGIA I SUROWIEC TYMIANKU POSPOLITEGO

Tymianek pospolity (*Thymus vulgaris* L.) jest jednym z bardziej popularnych gatunków z rodzaju *Thymus*, szeroko stosowanym w celach przyprawowych i leczniczych. Nazwa tymianku pochodzi od greckiego słowa *thymon* – odkażać. Inni wywodzą tę nazwę od greckiego słowa *thumus*, oznaczającego odwagę [8]. W starożytności tymianek używany był przez Egipcjan jako składnik maści do balsamowania, a następnie przez Greków i Rzymian do celów terapeutycznych [9]. Według Dioscoridesa tymianek był stosowany w leczeniu astmy i rozluźnianiu zatorów w gardle i żołądka [8].

Tymianek to gatunek typowy dla regionu basenu Morza Śródziemnego, ale ze względu na dużą różnorodność zastosowań kulinarnych oraz leczniczych obecnie uprawiany jest w różnych regionach świata [10]. *Thymus vulgaris* L. to niewielka, zimozielona, aromatyczna roślina wieloletnia dorastająca do 20–40 cm, która wytwarza liczne, wzniesione lub częściowo płochące, ulistnione pędy, z wiekiem drewniejące. Liście tymianku są drobne, szarzielone, kształtu owalno-lancetowatego. W okresie letnim w kątach liści rozwijają się drobne kwiaty, zebrane w szczytowe główkowate kwiatostany. Kielich dzwonkowaty, dwuwargowy, pokryty jest sztywnymi włoskami. Dwuwargowa korona ma barwę białą, różową do jasnofioletowej [11,12]. Tymianek po rozraniu ma intensywny i aromatyczny zapach oraz korzenny smak [10].

Surowcem zielarskim tymianku jest ziele (*Thymi herba*), które po zbiorze i wysuszeniu wykorzystuje się jako przyprawę i/lub surowiec leczniczy oraz do produkcji olejku eterycznego, głównie w drodze destylacji z parą wodną [11]. Zawartość olejku eterycznego w suszonym ziele jest istotnym czynnikiem wpływającym na intensywność smaku. Istnieje norma międzynarodowa (ISO 6754:1996) określająca wymagania dotyczące jakości suszonego tymianku, według której całe liście tymianku powinny zawierać minimum 0,5% olejku eterycznego, co odpowiada 5 ml/kg suszonego ziele, a mielony tymianek powinien zawierać minimum 0,2% olejku eterycznego [13].

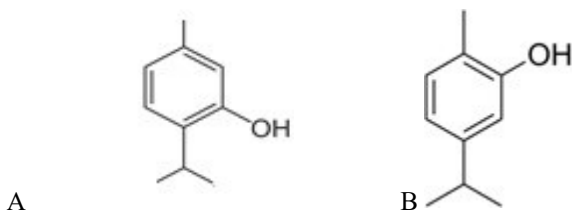
2. SKŁAD CHEMICZNY OLEJKU TYMIANKOWEGO

Olejek tymiankowy (OT) składa się z lotnych związków aromatycznych, z dominacją terpenów i seskwiterpenów [11]. W OT stwierdzono: 56,53% monoterpenu, 28,69% węglowodorów monoterpenu, 5,04% węglowodorów seskwiterpenowych i 1,84% utlenionych seskwiterpenów [12]. Kompozycja OT jest zmienna i zależna m.in. od pochodzenia (Tabela 1) i metody pozyskiwania. Farmakopea Europejska ustanowiła standardy jakości dla olejku eterycznego tymiankowego, które dotyczą głównie zawartości lotnych fenoli, wyrażonych jako tymol (36,0–55,0%) [14].

W celu określenia zawartości olejku eterycznego w ziele tymianku zaleca się standaryzowane i odpowiednie techniki izolowania, z czego najbardziej rozpowszechnione to destylacja z parą wodną, tłoczenie na zimno oraz ekstrakcja rozpuszczalnikiem. Pozyskiwanie a następnie charakterystyka analityczna to główne etapy tworzenia profilu OT. Za pomocą elektrochromatografii kapilarnej połączonej z detekcją matrycy diodowej (CEC-DAD) i chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) oznaczono tymol i karwakrol (ich wzory przedstawiono na Rysunek 1) jako główne składniki tymianku [2,12].

Tabela 1. Składniki dominujące olejku tymiankowego w zależności od pochodzenia surowca
 Table 1. Main compounds of thyme oil depending on the raw material origin

Kraj pochodzenia	Główne składniki	Literatura
Albania	<i>p</i> -cyment (40,1%), tymol (27,41%), γ -terpinen (5,6%), karwakrol (2,5%), borneol (2,35%), β -kariofilen (2,07%)	[15]
Arabia Saudyjska	tymol (54,26%), γ -terpinen (9,5%), <i>p</i> -cyment (7,61%), karwakrol (4,42%), terpinolen (3,27%), α -terpinen (2,36%)	[16]
Bułgaria	tymol (37,9%), γ -terpinen (19,44%), <i>p</i> -cyment (8,84%), δ -2-karen (3,92%), karwakrol (3,6%), β -kariofilen (3,37%)	[3]
Egipt	tymol (41,04%), 1,8-cineol (14,26%), γ -terpinen (12,06%), <i>p</i> -cyment (10,5%), α -terpinen (9,22%), linalol (2,8%)	[17]
Francja	tymol (21.4-72.9%), karwakrol (0.8-26.8%), <i>p</i> -cyment (0-29.0%), γ -terpinen (0-23.5%), linalol (0.1-13.4%), geraniol (0-8.9%)	[8]
Meksyk	borneol (28,4%), tymol (16,6%), karwakrol eter metylowy (9,6%), kamfen (6,9%), α -humulen (6,4%), karwakrol (5,0%)	[18]
Polska	tymol (48,23%), γ -terpinen (11,85%), <i>p</i> -cyment (10,58%), karwakrol (5,62%), linalol (2,76%), α -terpinen (2,52%)	[19]
Rumunia	tymol (47,59%), γ -terpinen (30,9%), <i>p</i> -cyment (8,41%), kariofilen (2,68%)	[20]
Słowacja	tymol (48,1%), <i>p</i> -cyment (11,7%), 1,8-cineol (6,7%), γ -terpinen (6,1%), karwakrol (5,5%), linalol (4,4%)	[21]
Włochy	tymol (43,3%), karwakrol (20,7%), <i>p</i> -cyment (9,4%), γ -terpinen (4,0%), β -kariofilen (3,1%), β -myrcen (2,1%)	[22]



Rysunek 1. Struktura tymolu i karwakrolu
 Figure 1. Structure of thymol and carvacrol

Analiza skupień przeprowadzona na 85 olejkach eterycznych *T. vulgaris* ujawniła 20 chemotypów, a najbardziej powszechnym był chemotyp tymolowy. Ponadto zidentyfikowano chemotyp linalolowy, chemotyp geraniolowy, chemotyp karwakrolowy, chemotyp borneolowy i hydratu sabinenu/terpinen-4-olu [8]. Fidan i in. [3] otrzymali z bułgarskiego surowca OT z wydajnością $0,56\% \pm 0,00$ (w absolutnej suchej masie $3,26\% \pm 0,03$), który okazał się jasnożółtą cieczą o charakterystycznym, korzenno-fenolowym zapachu. Autorzy zidentyfikowali 35 składników, 12 miało stężenia $> 1\%$, a pozostałe 23 składniki $< 1\%$. Głównymi składnikami olejku były: tymol (37,90%), γ -terpinen (19,44%), *p*-cyment (8,84%), δ -2-karen (3,92%), karwakrol (3,60%) i β -kariofilen

(3,37%). Podobne cechy OT stwierdziła Fijałkowska i in. [19], podając następujący skład olejku otrzymanego z ziela tymianku (Kawon, Polska): tymol (48,23%), γ -terpinen (11,85%), *p*-cymen (10,58%) i karwakrol (5,62%) oraz linalol (2,76%), α -terpinen (2,52%) i β -kariofilen (1,86%). Olejek tymiankowy z Arabii Saudyjskiej otrzymany z wydajnością 1,77% był barwy fioletowo-żółtej i zawierał 42 składniki stanowiące 97,6% składu, w tym: tymol (54,26%), γ -terpinen (9,50%), *p*-cymen (7,61%), karwakrol (4,42%), terpinolen (3,27%), α -terpinen (2,36%), α -terpineol (1,63%) i α -tujon (1,52%) [16].

3. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA OLEJKU TYMIANKOWEGO

Aktywność biologiczna OT wiązana jest głównie z obecnością związków dominujących: tymolu i karwakrolu. Wymienione izomeryczne monoterpény fenolowe są biosyntetyzowane przez aromatyzację γ -terpinenu do *p*-cymenu, a następnie jego hydroksylację. Alizadeh i in. [23] podają następującą kolejność w tym procesie: δ -terpinen, *p*-cymen, tymol/karwakrol. Wspomina się też, że biosynteza tymolu i karwakrolu przebiega poprzez cyklizację difosforanu geranylu do γ -terpinenu, po której następuje seria utleniania przez *p*-cymen. Aromatyczny szkielet tymolu i karwakrolu jest tworzony przez monooksygenazę P450 w połączeniu z dehydrogenazą poprzez niestabilny związek pośredni. Dodatkowo P450 hydroksylują tymol i karwakrol, tworząc tymohydrochinon, po czym następuje konwersja tymohydrochinonu do tymochinonu [24].

Wykazano, że tymol ma działanie antyseptyczne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwrobacze, przeciwwirusowe, przeciwutleniające, wykrztuśne, przeciwskurczowe, wiatropędne, napotne, uspokajające, przeciwreumatyczne, przeciwnowotworowe, przeciwhiperlipidemiczne i przeciwhiperlipidemiczne [25]. Dla karwakrolu udowodniono działanie przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, zapobiegające cukrzycy, kardioprotekcyjne, przeciwotyłości, hepatoprotekcyjne, przeciwstarzeniowe, przeciwdrobnoustrojowe i immunomodulujące [26]. Ponadto Skalicka-Woźniak i in. [2018] wykazali, iż OT oraz izolowane z olejku związki wykazują częściowe działanie w kierunku ochrony przed napadami drgawkowymi w padaczkę [27].

3.1. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

OT wykazuje silne działanie przeciwbakteryjne przeciwko wielu bakteriom chorobotwórczym i może być wykorzystany jako alternatywne źródło naturalnych środków przeciwbakteryjnych i przeciwutleniających [17,20,28]. Fidan i in. [3] ocenili aktywność przeciwdrobnoustrojową olejków eterycznych pozyskiwanych z przedstawicieli rodziny Lamiaceae: (*Thymus vulgaris* L.), (*Rosmarinus officinalis* L.), (*Mentha spicata* L.), (*Ocimum basilicum* L.) pod kątem ich zastosowania w technologii żywności. OT, dzięki obecności tymolu i karwakrolu, wykazywał najbardziej skuteczne

działanie przeciwko *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*, a także *Escherichia coli*. Monoterpeny te mają zdolność do przełamywania błony zewnętrznej oraz zwiększając przepuszczalność błony cytoplazmatycznej bakterii Gram-ujemnych. Trojanowska i in. [29] określili *in vitro* działania przeciwbakteryjnego OT na wielolekooporne szczepy *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa*, izolowane od pacjentów hospitalizowanych w latach 2013-2014. Stwierdzono niski poziom aktywności olejku tymiankowego wobec szczepów *P. aeruginosa* oraz wysoką aktywność wobec izolatów *A. baumannii*, wyrażoną jako wartości MIC w zakresie od 0,25 do 2 $\mu\text{L}/\text{ml}$. Kryvtsova i in. [14] stwierdzili, że OT zawierający tymol, γ -terpinen, *p*-cymen, 3-karen i karwakrol wykazuje wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową przeciwko szczepom mikroorganizmów opornych na antybiotyki. Uzyskane wyniki dowodzą szerokiego spektrum działania antybiotycznego OT. Najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową stwierdzono wobec typowych i klinicznych szczepów *S. aureus* oraz grzybów z rodzaju *Candida*. Stwierdzono ponadto, że OT wykazuje silną aktywność przeciwbiofilmową w stosunku do *S. aureus*. Aldosary i in. [30] podają, że OT zawierający 48,75% karwakrolu i 32,42% tymolu wykazywał właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec bakterii Gram-dodatnich (z wyjątkiem *Streptococcus pyogenes*), Gram-ujemnych oraz drożdży zapobiegając ich wzrostowi.

Arrais i in. [31] ocenili aktywność przeciwdrobnoustrojową OT w postaci klasycznej i w formie tabletek. Wykazano, że posiada silną aktywność zarówno jako środek przeciwgrzybiczy, jak i przeciwbakteryjny. Forma tabletek pozwala na efektywne zastosowanie olejku, ponieważ uzyskuje się wydłużenie czasu ekspozycji na związki aktywne, a zatem bardziej wyraźną skuteczność, zwłaszcza przeciwko mikroorganizmom wytwarzającym biofilm, takim jak *P. aeruginosa* i *S. aureus*. Skuteczność tabletek przeciwko grzybom z rodzaju *Candida* otwiera możliwość ich zastosowania przeciwko kandydozie. Badania Micucci i in. [22] wskazują, że formuła stała OT oraz płynny OT wykazują działanie antibakteryjne wobec różnych szczepów (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella* Thyphimurium, *C. albicans*), wykazując działanie przeciwko patogenom, a nie szczepom komensalnym (*Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus fermentum*).

Badania *in vitro* i *in vivo* wskazują, że OT oraz tymol i karwakrol to silne środki przeciwwirusowe i wirusobójcze, które hamują namnażanie się wirusa poprzez blokowanie różnych etapów infekcji wirusowej/cyklad replikacji wirusów DNA i RNA w różnych liniach komórkowych gospodarza [32]. Vimalanathan i Hudson [33] analizując OE pod kątem możliwych właściwości przeciw wirusowi grypy stwierdzili 100% aktywność hamującą OT w fazie ciekłej przy stężeniu 3,1 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Ostatnio, wraz z chorobą COVID-19 wzmogły się intensywne wysiłki w celu opracowania skutecznych preparatów przeciwko koronawirusowi-2 ciężkiego ostrego zespołu oddechowego (SARS-CoV-2). OT wykazuje skuteczność przeciwko kilku wirusom RNA, w tym koronawirusom. Olejek ten w stężeniu 27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ był w stanie zahamować replikację CoV (FIPV) ze znaczącą redukcją o 2 log₁₀ TCID₅₀/50 μL [32]. Čavar Zeljković i in. [35]

dowodli, że składniki monoterpenowe OE: karwon, karwakrol, pulegon, mentofuran i 1,8-cyneol wykazują zauważalną aktywność przeciwwirusową przeciwko SARS-CoV-2. Stwierdzono jednak wyraźne różnice w działaniu przeciwwirusowym monoterpenów i olejków eterycznych, karwon i karwakrol wykazały znaczną aktywność ($IC_{50} < 100 \mu M$). Warto wspomnieć, że Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (EPA) umieściła tymol na liście środków dezynfekcyjnych posiadających dowody na stosowanie przeciwko COVID-19 do dezynfekcji zewnętrznych powierzchni twardych i rąk w zastosowaniach związanych z opieką zdrowotną, instytucjami lub w gospodarstwach domowych [12].

3.2. Aktywność antyoksydacyjna i cytotoksyczna

Utlenianie lipidów jest jednym z głównych problemów napotykanym podczas przetwarzania, przechowywania i konsumpcji żywności. W wyniku takich reakcji powstają reaktywne formy tlenu (ROS) i wolne rodniki, które rozpoczynają reakcje łańcuchowe. Cząsteczki, które powstrzymują inicjację lub propagację utleniających reakcji łańcuchowych, przez co opóźniają lub hamują utlenianie lipidów czy innych cząsteczek, określane są mianem przeciwutleniaczy (antyoksydantów) [12]. OT wykazuje obiecujące działanie antyoksydacyjne i cytotoksyczne [16,17,30]. Ocena aktywności przeciwutleniającej OT z użyciem odczynnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu) [16] dowiodła, że olejek posiada zdolność do usuwania rodników, a jego aktywność zwiększa się w sposób zależny od stężenia. Stężenia, które doprowadziły do 50% hamowania (IC_{50}) wynosiły odpowiednio 210, 150, 96 i 53 $\mu g/ml$ po 10, 30, 60 i 90 minutach inkubacji. Zaobserwowany potencjał antyoksydacyjny należy odnieść do składników fenolowych olejku.

Tymianek zawiera liczne związki, zwłaszcza monoterpenoidowe fenole, karwakrol i tymol, które ze względu na swoje właściwości farmakologiczne mają ogromny potencjał do wykorzystania w leczeniu raka. Ich główne mechanizmy działania przeciwnowotworowego obejmują hamowanie wzrostu komórek (efekt antyproliferacyjny), wzmoczenie wytwarzania RFT, depolaryzację błony mitochondrialnej, aktywację proapoptotycznych białek mitochondrialnych Bax, hamowanie angiogenezy, interakcję z kaspazą lub polimerazą poli-ADP-rybozy oraz zmniejszenie powstawania nowotworów poprzez modulowanie aktywności enzymów metabolizujących substancje rakotwórcze [12].

OT okazał się skuteczny wobec linii komórkowych ludzkiego nabłonka podstawnego pęcherzyków płucnych (A-549), gruczolakoraka piersi (MCF-7) i raka wątrobowokomórkowego (HepG2), wykazując wartości IC_{50} odpowiednio 75, 60 i 41 $\mu g/mL$ (Tabela 2). Jednocześnie nie wykazano skuteczności wobec nienowotworowej linii komórkowej PLP2 w stężeniach wyższych niż 450 $\mu g/mL$ [16]. Niksic i in. [36] przeprowadzili badania przesiewowego zakresu stężeń cytotoksycznych i aktywności antyproliferacyjnej OT, o składzie: tymol (36,7%), *p*-cymen (30,0%), γ -terpinen (9,0%)

i karwakrol (3,6%). Test biologiczny *in vivo* przeprowadzono przy użyciu testu śmiertelności kreketek solankowych (BSLT), natomiast ocenę *in vitro* działania antyproliferacyjnego przeprowadzono na trzech ludzkich liniach komórkowych nowotworów: gruczolakoraku piersi MCF-7, raku płuc H460 i ostrej białaczki limfoblastycznej MOLT-4. Analizowany olejek uznano za toksyczny/wysoko toksyczny z LC_{50} 60,38 $\mu\text{g/mL}$ w BSLT oraz umiarkowanie/słabo cytotoksyczny z zakresem IC_{50} 52,65–228,78 $\mu\text{g/mL}$ *in vitro*. OT indukował (zależne od dawki) hamowanie proliferacji komórek we wszystkich testowanych liniach komórek nowotworowych, wykazując różną czułość. W przypadku badań z zastosowaniem linii komórkowych MCF-7 wykazano, iż OT działa proapoptotycznie i antyproliferacyjnie wobec badanych komórek [10,37]. Ponadto w badaniach przeprowadzonych przez Davkova i in. [38] w teście śmiertelności kreketek solankowych (BSLT) olejek tymiankowy już w czwartej godzinie wykazał silną cytotoksyczność przy wartości LC_{50} 0,75 $\mu\text{g/mL}$. Badany olejek cechował się najwyższą zawartością *o*-cymenu (38,60%), tymolu (35,06%), i α -pinenu (6,03%). Tym samym potwierdzono, że BSLT jest odpowiednią metodą wstępnego badania toksyczności OT w liniach komórek nowotworowych.

Tabela 2. Aktywność antynowotworowa olejku tymiankowego

Table 2. Anticancer activity of thyme oil

Linie komórkowe/ zwierzęcy model	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Skład olejku	Literatura
ludzkiego nabłonka podstawnego pęcherzyków płucnych (A-549)	75	tymol (54,26%), terpinen (9,50%), <i>p</i> -cymen (7,61%), karwakrol (4,42%), terpinolen (3,27%), terpinen (2,36%), terpineol (1,63%) tujene (1,52%)	[16]
	60		
Gruczolakoraka piersi (MCF-7)	52,65	tymol (36,7%), <i>p</i> -cymen (30,0%), γ -terpinen (9,0%) karwakrol (3,6%)	[36]
	41	tymol (36,7%), <i>p</i> -cymen (30,0%), γ -terpinen (9,0%) karwakrol (3,6%)	
raka wątrobowokomórkowego (HepG2)	68,59	<i>p</i> -cymen (30,0%), γ -terpinen (9,0%) karwakrol (3,6%)	[36]
ostrej białaczki limfoblastycznej MOLT-4	228,78	tymol (36,7%), <i>p</i> -cymen (30,0%), γ -terpinen (9,0%) karwakrol (3,6%)	[36]
test śmiertelności kreketek solankowych	60,38	<i>o</i> -cymen (38,60%), tymol (35,06%), α -pinen (6,03%)	[38]
	0,75		

3.3. Aktywność przeciwzapalna

Zapalenie to złożona, naturalna reakcja ochronna tkanek organizmu jako mechanizm obronny przed szkodliwymi bodźcami, w tym patogenami i uszkodzeniem komórek. Jednakże utrzymujące się bodźce zapalne lub rozregulowanie mechanizmów fazy ustępowania mogą prowadzić do przewlekłego stanu zapalnego. Zapalenie przewlekłe jest stanem patologicznym, który rozwija się, gdy patogen nie zostanie wyeliminowany; towarzyszy także chorobom nowotworowym [39,40]. W poszukiwaniu nowych, skutecznych środków przeciwzapalnych zwraca się uwagę na substancje pochodzenia roślinnego. Stosowanie tymianku i jego ekstraktów jest tradycyjnie praktykowane na całym świecie w leczeniu chorób zapalnych. Badania wskazują, że OT oraz jego główne składniki tymol i karwakrol wykazują działanie przeciwzapalne i przeciwwysiękowe [12]. Abdelli i in. [41] informują, że OT wykazuje znaczne działanie przeciwzapalne *in vivo* w nietoksycznych dawkach. Vassiliou i in. [42] zauważają, że przyszłe kierunki badań dotyczące OT i jego składników powinny obejmować działania synergiczne z innymi lekami. Na przykład przeciwzapalne właściwości tymolu, karwakrolu, *p*-cymenu, γ -terpinenu i linalolu można stosować w połączeniu z powszechnie stosowanymi kortykosteroidami. Wyniki badania przeprowadzone przez Butt i in. [43] wykazały, także że OT jest najlepszym źródłem tymochinonu, związku wykazującego dobre działanie przeciwutleniające i antyproliferacyjne.

3.4. Aktywność spazmolityczna

Micucci i in. [22] przeanalizowali chemicznie i ocenili pod kątem działania spazmolitycznego i przeciwspastycznego preparat składający się z płynnego OT połączonego ze stałymi substancjami pomocniczymi oraz porównali z płynnym OT i substancjami pomocniczymi. Głównymi składnikami bioaktywnymi preparatu okazał się tymol i karwakrol. Płynny OT był najskuteczniejszy w zmniejszaniu podstawowej kurczliwości jelita krętego i okrężnicy. Stały preparat wywierał działanie rozkurczające podobnie jak płynny OT. Z powyższych badań wynika, że preparat OT w postaci stałej można zaproponować jako potencjalny środek leczniczy stosowany w medycynie spazmolitycznej i przeciwspastycznej.

3.5. Działanie repelentne

OT oraz jego główne składniki (tymol, karwakrol, *p*-cymen, linalol i α -terpinen) wykazują silne działanie odstrasżające w stosunku do komarów [43]. Badania Paudel i in. [44] dowiodły, że karwakrol i tymol oraz olejki eteryczne mające wysoką ich zawartość są potencjalnie przydatne w zwalczaniu inwazyjnych mrówek ognistych (*Solenopsis invicta* Buren). Chung i in. [45] informują, że mikrokapsułki zawierające OT przygotowane metodą polimeryzacji *in situ* mogą być wykorzystane jako skuteczne

środki odstrasżające owady. Szybkość uwalniania OT z mikro kapsułek zależała nie tylko od temperatury przechowywania, ale także od rodzaju emulgatora, a mikro kapsułki wykazywały właściwości przedłużonego uwalniania przez długi czas. Kapsułkowany OT wykazał wysoką, ponad 90% skuteczność odstrasżania owadów przez 4 tygodnie. Gupta i in. [46] zaprezentowali nowatorską metodę przygotowania nanoemulsji OT i jego kapsułkowania chitozanem przy użyciu metody ultradźwiękowej o wysokiej energii do zwalczania trzech głównych gatunków komarów: *Anopheles stephensi* (Liston), *Aedes aegypti* (Linn.) i *Culex tritaeniorhynchus* (Giles). Preparaty olejkowe scharakteryzowano pod kątem stabilności termodynamicznej i profilu uwalniania. Stwierdzono, że nanoemulsje były stabilne w temperaturze pokojowej. Badanie *in vitro* uwalniania OT z kapsułki nanoemulsyjnej i chitozanu wykazało, że odpowiednio 91,68% i 73,41% całkowitego stężenia olejku w wodzie zostało uwolnionych do środowiska po 48 godzinach. Ocena potencjału owadobójczego wobec wybranych gatunków komarów dowiodła, że zarówno nanoemulsja, jak i otoczka chitozanu były skuteczne w przypadku głównych gatunków komarów. Maksymalną aktywność nanoemulsji OT zaobserwowano wobec *C. tritaeniorhynchus* (LC_{50} — 22,58 ppm) po 24 godzinach ekspozycji, natomiast kapsułkowanie chitozanu było najskuteczniejsze w stosunku do *A. stephensi* (LC_{50} — 18,88 ppm) po 24 godzinach ekspozycji. W larwach komarów można było zauważyć spójne zmiany morfologiczne. Autorzy wnioskujeją, że nanoemulsje i kapsułki OT można dalej testować pod kątem ich zastosowania przeciwko innym szkodliwym owadom. Aktywność owadobójcza zarówno olejku tymiankowego, jak i tymolu i karwakrołu potwierdzono również wobec różnych stadiów larwalnych mącznika drobnego. Zastosowanie 1% roztworów OT, tymolu i karwakrołu wobec młodych larw spowodowało odpowiednio śmiertelność w 50%, 86% i 85% [47].

4. OLEJKI ETERYCZNE W KOSMETOLOGII

OE wykorzystywane są w produkcji kosmetycznej ze względu na lotność i jako naturalne repelenty. Substancje te odpowiednio dobrane mogą uzupełniać receptury wielu produktów kosmetycznych. OE lub związki z nich wyizolowane, mogą być alternatywą dla syntetycznych substancji konserwujących, ze względu na silne działanie bakterio-bójcze, grzybobójcze a także antyoksydacyjne. Właściwości przeciwutleniające polegają na spowalnianiu lub uniemożliwianiu powstawania niepożądanych zmian, w innych substancjach, na skutek utleniania. Niektóre OE mogą być wykorzystane w preparatach kosmetycznych jako substancje chroniące pozostałe składniki kosmetyku (takie jak oleje i tłuszcze) przed utlenieniem. Z punktu widzenia potrzeb konserwacji różnych grup kosmetyków najważniejsza wydaje się aktywność w stosunku do: *S. aureus*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* i *Aspergillus niger* [49].

4.1. Olejek tymiankowy jako środek konserwujący leczniczy i pielęgnacyjny

W produkcji kosmetycznej coraz większą uwagę zwraca się na skuteczność i bezpieczeństwo stosowanego produktu. Potencjalne ryzyko wystąpienia reakcji uczuleniowych oraz innych problemów zdrowotnych spowodowało rosnące zapotrzebowanie na kosmetyki naturalne, pozbawione syntetycznych barwników, aromatów i konserwantów. Alternatywą dla syntetycznych konserwantów wydają się być olejki eteryczne o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, takie jak OT. Działanie przeciwdrobnoustrojowe OT wynika głównie z obecności: tymolu, karwakrolu, γ -terpinenu czy *p*-cymenu, ale także z interakcji pomiędzy różnymi składnikami. Zaobserwowano synergizm tymolu i karwakrolu lub obu składników z eugenolem przeciwko szczepom *E. coli*. Odnotowano także działanie addytywne i antagonistyczne. Synergizm i działanie addytywne przypisuje się związkom fenolowym i alkoholowym, natomiast antagonizm wyjaśnia się jako oddziaływanie pomiędzy nieutlenionymi i utlenionymi węglowodorami monoterpenowymi [450].

Efektywność zastosowania OT w celach konserwujących jest zależna od formulacji. Badania skuteczności OT w dwóch preparatach kremowych w teście prowokacyjnym wykazały niezadowalający efekt konserwacji [51]. Wymagane kryteria skuteczności konserwacji zostały spełnione w stosunku do szczepów bakteryjnych i drożdży w jednym z preparatów, ale nie w stosunku do *Aspergillus niger*, pomimo wysokiego stężenia olejku (3%). Analizowane próbki olejku zawierały dużo tymolu (38,6% i 43%), ale stosunkowo mało karwakrolu (9,8% i 2,2%). Autorzy przyjęli, że taki stosunek obu składników fenolowych w olejku może okazać się skuteczniejszy w działaniu przeciwgrzybiczym. Ponadto, zdaniem Autorów interakcje pomiędzy składnikami OT i innymi czynnikami obecnymi w końcowej recepturze mogły mieć wpływ na aktywność olejku, prowadząc do niepełnego spełnienia kryteriów.

W produkcji kosmetycznej OE używane są także z uwagi na swoje działania przeciwutleniające. Makarova i in. [52] porównali właściwości wychwywania wolnych rodników czterech olejków eterycznych (rozmarynowego, miętoowego, lawendowego i tymiankowego) powszechnie stosowanych w produktach do pielęgnacji skóry, takich jak kremy i sole do kąpieli. Stwierdzono, że obecność wszystkich olejków eterycznych zmniejsza ilość powstających rodników, ale nie zmienia ich rodzaju.

OE stosowane są w celach pielęgnacyjnych jako naturalne dermokosmetyki. W badaniach przeprowadzonym przez Feriotto i in. [53] stwierdzono, że ekstrakt otrzymany z *T. vulgaris*, bogaty w kwas rozmarynowy, znacznie zmniejszał fosforylację indukowaną przez promieniowanie UVB i tym samym wykazywał działanie fotoprotekcyjne poprzez hamowanie białka aktywatora 1 (AP1) i MAPK. Odpowiedni dobór i formułacja pozwalają na otrzymanie wartościowych produktów o działaniu nie tylko pielęgnacyjnym. Olejki otrzymywane z roślin takich jak lawenda, tymianek, mięta pieprzowa, cynamonowiec, goździkowiec, eukaliptus, szalwia i drzewo herbaciane wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe. Efekt ten wynika z obecności pierścieni

aromatycznych, ugrupowań fenolowych lub pierścieni fenolowych oraz grup hydroksylowych, co w naturalny sposób zapobiega rozwojowi mikroorganizmów chorobotwórczych, ze szczególnym uwzględnieniem bakterii Gram-dodatnich [54]. Tadele i in. [55] wykazali działanie antybakteryjne *in vitro* półstałych preparatów OT w stosunku do głównych mikroorganizmów chorobotwórczych powodujących choroby skóry. Stwierdzono, że działanie przeciwdrobnoustrojowe *in vitro* 1% preparatu olejku tymiankowego do stosowania miejscowego na bazie hydrofilowej jest porównywalne z działaniem dostępnych na rynku produktów przeciwdrobnoustrojowych.

Ze względu na silne działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne oraz ściągające OT coraz częściej wchodzi w skład naturalnych produktów do higieny jamy ustnej takich jak, pasty do zębów czy płukanki do ust. Pełni rolę profilaktyczną zapobiegając powstawaniu płytki nazębnej oraz leczniczą w stanach zapalnych jamy ustnej i dziąseł. Tymol znalazł również zastosowanie jako składnik czasowego wypełnienia stomatologicznego - dentyny [56-58].

4.2. Olejek tymiankowy kosmologii

OE tymianku, lawendy i szalwii muszkatolowej wskazane są w walce z łupieżem i łysieniem. OT w postaci toniku i/czy szamponu stymuluje wzrost włosów, krążenie krwi w skórze głowy, wzmacnia cebulki włosów, łagodzi łupież i przeciwdziała wypadaniu włosów. Jest silnie działającym olejkiem, może podrażniać skórę głowy. Właściwe użycie znacznie zmniejsza potencjalne ryzyko działań niepożądanych. W przypadku stosowania bezpośrednio na skórę lub skórę głowy, prawidłową procedurą jest rozcieńczenie niewielkiej ilości olejku w oleju bazowym (np. z kiełków pszenicy) lub glinkach (białej, zielonej i czarnej) [54]. Zauważono skuteczność mieszaniny olejków: tymianku (dwie krople, 88 mg), rozmarynu (trzy krople, 114 mg), lawendy (trzy krople, 108 mg) i drzewa cedrowego (dwie krople, 94 mg) w mieszaninie nośnikowych olejów roślinnych w leczeniu łysienia plackowatego skóry głowy. Wyniki te sugerują, że takie połączenie jest bezpieczne i skuteczne, oraz może być stosowane jako alternatywa terapeutyczna.

Zastosowanie OE często ogranicza ich duża lotność i tendencja do degradacji. Skuteczną strategią pozwalającą przewyciężyć te wady jest mikrokapsułkowanie. Melo i in. [59] przeprowadzili mikrokapsułkowanie OT, który we wcześniejszych badaniach wykazywał silne działanie przeciwbakteryjne na szczepy zaangażowane w rozwój trądziku. Otrzymany produkt wykazał zdolność do zatrzymywania ponad 90% OE w warunkach parowania, unikając utleniania i zmiany profilu chemicznego. Mikrokapsułki OT w kontakcie z bakteriami trądzikowymi zachowały swoje działanie bakteriobójcze. Wyniki tego badania mogą być podstawą do opracowania stabilnych i funkcjonalnych preparatów farmaceutycznych, kosmetycznych i spożywczych na bazie OE, chroniących te substancje przed degradacją i parowaniem. Olejek eteryczny otrzymywany z ziela tymianku wykazuje liczne właściwości prozdrowotne, przeciwbakteryjne oraz

pielęgnacyjne jednak przy stosowaniu na powierzchnię skóry należy pamiętać, iż może wykazywać potencjał działania uczulającego [60].

UWAGI KOŃCOWE

OT charakteryzuje się szeroką aktywnością biologiczną. Wykazano silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe (w tym na szczepy wielolekooporne) i przeciwutleniające, a także przeciwzapalne, przeciwskurczowe, przeciwspastyczne i repelentne. Pod względem działania przeciwbakteryjnego OT odznacza się znaczną skutecznością, przewyższając niekiedy niektóre antybiotyki, głównie ze względu na wysoką zawartość karwakuolu i tymolu. Wymienione działania umożliwiają zastosowanie OT w medycynie, farmacji, produkcji spożywczej i kosmetycznej. Współczesne dermokosmetyki spełniają wygórowane wymagania medyczne, skutecznie pielęgnując skórę z różnego rodzaju problemami. OT może poprawić właściwości dermokosmetyczne produktu końcowego, nie tylko chroniąc konsumenta przed infekcjami bakteryjnymi lub grzybiczymi, ale także przyczyniając się do utrwalenia receptury.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] R. Nurzyńska-Wierdak, *Ann. UMCS*, 2015, **25**, 1
- [2] R. A. Herman, E. Ayepa, S. Shittu, S. S. Fometu, J. Wang, *Adv. Nutr. Food Sci.*, 2019, **4**, 1
- [3] H. Fidan, S. Stankov, T. Ivanova, A. Stoyanova, S. Damyanova, S. Ercisli, *Ukr. J. Food Sci.*, 2019, **8**, 227
- [4] A. Moshari-Nasirkandi, A. Alirezalu, H. Alipour, J. Amato, *Sci. Rep.*, 2023, **13**, 16987
- [5] M. Chroho, Y. Rouphael, S. A. Petropoulos, L. Bouissane, *Antibiotics*, 2024, **13**, 139
- [6] R. Morales, Taylor & Francis, London, 2002, pp. 1-43
- [7] B. M. Lawrence, A. O. Tucker, CRC Press, 2002, pp. 266-276
- [8] S. Battaglia, www.salvatorebattaglia.com.au, 2020
- [9] L. Barros, S. A. Heleno, A. M. Carvalho, I. C. Ferreira, *LWT-Food Sci. Technol.*, 2010, **43**, 544
- [10] A. S. Silva, D. Tewari, A. Sureda, I. Suntar, T. Belwal, M. Battino, ... & S. F. Nabavi, *Trends Food Sci. Technol.*, 2021, **117**, 218
- [11] E. M. Dauqan, A. Abdullah, *J. App. Biol. Biotech.*, 2017, **5**, 17
- [12] D. Hammoudi Halat, M. Krayem, S. Khaled, S. Younes, *Nutrients*, 2022, **14**, 2104
- [13] V. Prasanth Reddy, K. Ravi Vital, P. V. Varsha, S. Satyam, *Med. Aromat. Plant.*, 2014, **3**, 2167
- [14] M. V. Kryvtsova, I. Salamon, J. Koscova, D. Bucko, M. Spivak, *Biosyst. Divers.*, 2019, **27**, 270
- [15] A. Nuro, J. Salihila, D. Shengjergji, D. Peci, A. Dervishi, *Zastita Materijala*, 2020, **6**, 5
- [16] F. A. Agili, *Middle East J. Sci. Res.*, 2014, **21**, 1670
- [17] H. S. Aljabeili, H. Barakat, H. A. Abdel-Rahman, *FNESC.*, 2018, **9**, 433
- [18] E. A. Soto-Mendivil, J. F. Moreno-Rodríguez, M. Estarrón-Espinosa, J. A. García-Fajardo, E. N. Obledo-Vázquez, *e-Gnosis*, 2006, **4**, 1
- [19] A. Fijałkowska, A. Wesołowska, R. Rakoczy, M. Jedrzejczak-Silicka, *Chem. Process Eng.*, 2024, **45**, 1
- [20] O. Borugă, C. Jianu, C. Mișcă, I. Golet, A. T. Gruia, F. G. Horhat, *J. Med. Life*, 2014, **7**, 56

- [21] L. Galovičová, P. Borotová, V. Valková, N. L. Vukovic, M. Vukic, J. Štefániková, H. Dúranová, P.Ł Kowalczewsk, N. Cmiková, M. Kačániová, *Plants*, 2021, **10**, 1959
- [22] M. Micucci, M. Protti, R. Aldini, M. Frosini, I. Corazza, C. Marzetti, ... & R. Budriesi, *Biomolecules*, 2020, **10**, 860
- [23] A. Alizadeh, O. Alizadeh, G. Amari, M. Zare, *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 2013, **16**, 59
- [24] S. T. Krause, P. Liao, C. Crocoll, B. Boachon, C. Förster, F. Leidecker, ... & J. Degenhardt, *PNAS.*, 2021, **118**, 1
- [25] A. Kowalczyk, M. Przychodna, S. Sopata, A. Bodalska, I. Fecka, *Molecules*, 2020, **25**, 4125
- [26] M. Imran, M. Aslam, S. A. Alsagaby, F. Saeed, I. Ahmad, M. Afzaal *et al.* S. Islam, *J. Food Sci. Nutr.*, 2022, **10**, 354
- [27] K. Skalicka-Woźniak, M. Walasek, T.M. Aljarba, P. Stapleton, S. Gibbons, J. Xiao, J.J. Łuszczki, *Chem. Toxicol.*, 2018, **120**, 472
- [28] G. Horváth, K. Ács. *Flavour Fragr. J.*, 2015, **30**, 331
- [29] D. Trojanowska, P. Paluchowska, Ł. Soja, A. Budak, *Acta Pol. Pharm.* 2016, **73**, 975
- [30] S. K. Aldosary, S. N. A. El-Rahman, S. S. Al-Jameel, N. M. Alromihi, *Braz. J. Biol.*, 2021, **83**, 1
- [31] A. Arrais, E. Bona, V. Todeschini, A. Caramaschi, N. Massa, M. Roncoli, ... & V. Gianotti, *Pharmaceutics*, 2023, **15**, 914
- [32] J. Reichling, *Planta Med.*, 2022, **88**, 587
- [33] S. Vimalanathan, J. Hudson, *Am. J. Essent. Oil Nat. Prod.*, 2014, **2**, 47
- [34] C. Catella, M. Camero, M. S. Lucente, G. Fracchiolla, S. Sblano, M. Tempesta, ... & G. Lanave, *Res. Vet. Sci.*, 2021, **137**, 44
- [35] S. Čavar Zeljković, E. Schadich, P. Džubák, M. Hajdúch, P. Tarkowski, *Front. Pharmacol.*, 2022, **13**, 893634
- [36] H. Niksic, F. Becic, E. Koric, I. Gusic, E. Omeragic, S. Muratovic, i in. K. Duric, *Sci. Rep.*, 2021, **11**, 13178
- [37] Z. Heidari, A. Salehzadeh, S.A. Sadat Shandiz, *S. Biotech*, 2018, **8**, 177.
- [38] I. Davkova, Z. Zhivikj, I. C. Karanfilova, A. Trajkovska, V. Stoilkovska, G. S. Gjorgievska, i in. Karapandzova, M. *World*, 2024, **3**.
- [39] E. Kołaczowska, *Kosmos* 2007, **56**, 27
- [40] F. Maione, R. Russo, H. Khan, N. Mascolo, *Nat. Prod. Res.*, 2016, **30**, 1343
- [41] W. Abdelli, F. Bahri, A. Romane, M. Höferl, J. Wanner, E. Schmidt, L. Jirovetz, *Nat. Prod. Comm.*, 2017, **12**, 611
- [42] E. Vassiliou, O. Awoleye, A. Davis, S. Mishra, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, **24**, 6936
- [43] A.S. Butt, N. Nisar, T.A. Mughal, N. Ghani, I. Altaf, *J. Pak. Med. Assoc.*, 2019, **69**, 1479
- [44] W.-S. Choi, B.-S. Park, S.-K. Ku, S.-E. Lee, *Journal of the American Mosquito Control Association* 2002, **18**, 348
- [45] P. Paudel, F.M. Shah, D.K. Guddeti, A. Ali, J. Chen, L.A. Khan, X.-C. Li, *Insects* 2023, **14**, 1
- [46] S.K. Chung, J.Y. Seo, J.H. Lim, H.H. Park, M.J. Yea, H.J. Park, *J. Food Sci.* 2013, **78**, 709
- [47] M. Szczepanik, B. Zawitowska, A. Szumny. *Allelopathy J.* 2012, **30**, 129
- [48] P. Gupta, S. Preet, Ananya, N. Singh, *Sci. Rep.*, 2022, **12**, 4335
- [49] M. Adaszyńska, M. Swarczewicz, *Wiad. Chem.*, 2012, **66**, 139
- [50] M. Dreger, K. Wielgus, *Herba Pol.*, 2013, **59**, 142
- [51] I. Manou, L. Bouillard, M. J. Devleeschouwer, A. O. Barel, *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **84**, 368
- [52] K. Makarova, K. Drazikowska, B. Suska, K. Zawada, I. Wawer, *Nukleonika*, 2015, **60**, 461
- [53] G. Feriotto, N. Marchetti, V. Costa, S. Beninati, F. Tagliati, C. Mischiati, *Chem. Biodiversity*, 2018, **15**.
- [54] U. S. Abelan, A. C. de Oliveira, É. S. P. Cacoci, T. E. A. Martins, V. M. Giacon, M. V. R. Velasco, C. R. R. D. C. Lima, *J. Cosmet. Dermatol.*, 2022, **21**, 1407

- [55] A. Tadele, K. Urga, N. Gameda, H. Lemma, D. Melaku, K. Mudie., *Ethiop. Pharm. J.*, 2008, **26**, 103
- [56] D. Jałozza, M. Kamińska-Jałozza, *Herbalism*, 2015, **1**, 76
- [57] J. Pytko - Polończyk, B. Muszyńska, *Med. Int. Rev.*, 2016, **27**, 68
- [58] A. Kwiatkowska, A. Mielczarek, T. Gajewski, *Nowa Stomatologia*, 2017, **22**, 148
- [59] G.E.M. Melo, K.F. López, G.L. Méndez, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 2015, **44**, 189
- [60] E. Omeragic, M. Dedic, A. Elezovic, *et al.* Application of direct peptide reactivity assay for assessing the skin sensitization potential of essential oils. *Sci Rep* 2022, **12**, 7470.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 kwietnia 2024 r.