

LEK. SIROV.	God. XXXIII	Broj 33	Str. 3 – 17	Beograd 2013.
LEK. SIROV.	Vol. XXXIII	No. 33	PP. 3 – 17	Belgrade 2013.

Pregledni rad – Review paper
UDC: 615.32:582.929.4

Rukopis primljen: 18.11.2013.
Prihvaćen za publikovanje: 29.11.2013.

BIOLOŠKA AKTIVNOST VRSTA *Thymus vulgaris* I *Thymus serpyllum* I NJIHOVO KORIŠĆENJE U ETNOMEDICINI

Aleksandra Čančarević¹, Branko Bugarski², Katarina Šavikin³, Gordana Zdunić³

¹ Inovacioni centar Tehnološko-metalurškog fakulteta, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, Srbija

² Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, Srbija

³ Institut za proučavanje lekovitog bilja „dr Josif Pančić“, Tadeuša Košćuška 1, 11000 Beograd, Srbija.

IZVOD

Familija *Lamiaceae* (Usnatice) obuhvata veliki broj kosmopolitskih vrsta, među kojima i vrste *T. vulgaris* (timijan) i *T. serpyllum* (majčina dušica), koje karakteriše prisustvo etarskih ulja i fenolnih jedinjenja. Timijan predstavlja višegodišnju polužbunastu biljku. Čašicu i kronicu gusto pokrivaju trihomi u kojima se sintetišu i skladište etarska ulja. Koristi se list ili zeljasti nadzemni deo biljke u cvetu i etarsko ulje. Majčina dušica je višegodišnja zeljasta biljka. Cvetne grane su ravnomerno prekrivene žlezdanim trihomama. Koristi se nadzemni deo biljke u cvetu. Herbal Medicinal Product Committee (HMPC) klasifikuje herbu i etarsko ulje timijana kao tradicionalni biljni lek koji se koristi kao ekspektorans kod kašlja udruženog sa prehladom. Potvrđena primena majčine dušice je u tretmanu kašlja, bronhitisa i upalnih procesa gornjih disajnih puteva. Snažnu antioksidativnu aktivnost timijan duguje visokoj koncentraciji polifenolnih kiselina i flavonoidima. Timol i karvakrol prisutni u etarskom ulju majčine dušice inhibiraju lipidnu peroksidaciju i ispoljavaju antimikrobno dejstvo na različite vrste mikroorganizama. Dugogodišnja tradicionalna primena aromatičnih i lekovitih biljaka, pritisak potrošača da se toksični i kancerogeni sintetski aditivi zamene prirodnim supstancama i pojava multirezistentnih sojeva mikroorganizama povećavaju interes za istraživanjem datih biljnih vrsta, što bi omogućilo njihovu širu primenu u medicini, prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

Ključne reči: *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, antioksidansi, antimikrobna aktivnost.

UVOD

Familija *Lamiaceae* (Usnatice) koja obuhvata 200 rodova i 3000 vrsta, predstavlja kosmopolite i familiju biljaka bogatih etarskim uljima i fenolnim jedinjenjima. U flori Srbije zastupljeno je 30 rodova usnatice sa 147 vrsta. Usnatice su aromatične zeljaste biljke ili grmovi sa četvrtastim stablom i cvetovima skupljenim u dihazijume. Listovi su najčešće naspramni i prosti, a plod je merikarpijum koji se raspada na četiri orašice. Etarska ulja, od kojih potiče aroma ovih biljaka, nalaze se u žlezdanim trihomama. Ekonomski značaj se ogleda kroz upotrebu ovih vrsta kao lekovitih, začinskih i ukrasnih biljaka, kao i kroz primenu njihovih etarskih ulja i ekstrakata u različitim granama industrije. Najpoznatiji predstavnici ove familije su vrste *Rosmarinus officinalis* (ruzmarin), *Lavandula angustifolia* (lavanda), *Salvia officinalis* (žalfija), *Melissa officinalis* (matičnjak), *Origanum vulgare* (vranilova trava), *Thymus vulgaris* (timijan), *Thymus serpyllum* (majčina dušica), *Ocimum basilicum* (bosiljak), *Menta x piperita* (pitoma nana), *Menta spicata* (divlja nana) i *Menta pulegium* (barska nana). Navedene vrste su uglavnom rasprostranjene na Mediteranu, ali se i gaje radi upotrebe lista i cveta, kao i dobijanja etarskog ulja destilacijom svežeg lista ili vrhova grančica u cvetu. [1] Rod *Thymus* obuhvata oko 350 vrsta: *Thymus adamovicii*, *T. bracteosus*, *T. broussonetii*, *T. caespititius*, *T. camphoratus*, *T. capitatus*, *T. capitellatus*, *T. carnosus*, *T. cephalotus*, *T. cherlerioides*, *T. ciliatus*, *T. cilicicus*, *T. cimicinus*, *T. citriodorus*, *T. comosus*, *T. comptus*, *T. doerfleri*, *T. glabrescens*, *T. herba-barona*, *T. hirsutus*, *T. hyemalis*, *T. integer*, *T. lanuginosus*, *T. leucotrichus*, *T. longicaulis*, *T. longiflorus*, *T. mastichina*, *T. membranaceus*, *T. montanus*, *T. nummularis*, *T. odoratissimus*, *T. pallasianus*, *T. pannonicus*, *T. praecox*, *T. pseudolanuginosus*, *T. pulegioides*, *T. quinquecostatus*, *T. richardii*, *T. serpyllum*, *T. striatus*, *T. thracicus*, *T. villosus*, *T. vulgaris*, *T. zygis*, itd. [2]

Botaničke karakteristike vrsta *T. vulgaris* i *T. serpyllum*

T. vulgaris (timijan) predstavlja višegodišnju polužbunastu biljku iz familije Usnatice. Odlikuje se razgranatim i jakim korenovim sistemom sa mnoštvom žilica koje mu omogućavaju da uspeva na siromašnom i skeletnom zemljištu. Brojne žilice koje prorastaju zemljište u stanju su da maksimalno iskoriste raspoložive hranljive materije i vodu. Iz korena se razvijaju uglavnom uspravne stabljike visine 25-50 cm. Prošlogodišnje grane, u donjem delu biljke su odrvenele, a cvetne grane su prekrivene maljama. Listovi su sitni i naspramno raspoređeni. Donji listovi na cvetnim granama su unazad povijeni, dok su gornji i srednji sa kratkom drškom na licu goli, a na naličju maljav. Cvetovi su beli do

beloružičasti, sitni i razvijaju se u pazuhu listova, čineći rastresitu cvast. Cvasti su izdužene, a čašicu i krunicu gusto pokrivaju svetlucave žlezde koje luče etarsko ulje. Seme je vrlo sitno, od 0,5 do 1,0 mm. [3,4] Timijan je poreklom sa Sredozemlja (Španija, Portugal, Grčka i Francuska), gde raste u spontanoj flori na suvom, sunčanom, malo plodnom i kamenitom zemljištu. Izvan ovog područja gaji se plantažno kao dekorativna biljka i za dobijanje droge u mnogim zemljama u Evropi, Aziji, Africi i Severnoj Americi. U našoj zemlji timijan se uspešno gaji u Vojvodini. Počinje da cveta u toku maja pa sve do kraja septembra. Cela biljka vrlo dobro podnosi visoke letnje temperature, a relativno je otporna i na mrazeve u toku zime pa obično prezimljava bez oštećenja. Timijan je biljka toplog podneblja. Najviše mu odgovaraju osunčani i od vetra zaklonjeni tereni. U fazi cvetanja prema toploti i svetlosti ima velike zahteve. Ukoliko je u periodu cvetanja kišno i oblačno, dobija se droga slabog kvaliteta, pošto biljka ne podnosi suvišnu vlagu. Dobro prezimljava u većini kontinentalnih krajeva naše zemlje. Timijan nema velike zahteve prema zemljištu i može se uspešno gajiti na većini naših zemljišta. Ipak najbolji rezultati se postižu na plodnim, rastresitim i propusnim zemljištima sa pH reakcijom iznad 6 (neutralna ili blago alkalna, krečna zemljišta). Nakon sakupljanja, droga se odnosi na sušenje koje se može obaviti prirodnim putem ili u sušarama. Prirodno sušenje je u zaštićenom, promajnom i zasenjenom prostoru. Pri većoj proizvodnji nije moguće obezbediti dovoljno prostora pa se za sušenje moraju koristiti sušare. Kao i sve druge biljke koje sadrže etarska ulja, tako i timijan treba sušiti pri temperaturi oko 40° C. Izuzetno, za vreme prva dva sata sušenja temperatura može biti do 50° C. Za 1 kg suve herbe potrebno je 3,0-4,0 kg sveže mase. Timijan se posle sušenja pregleda i čisti od eventualnih primesa i pakuje. Koristi se list ili zeljasti nadzemni deo biljke u cvetu i etarsko ulje. Timijan, pitoma majčina dušica ili vrtni timijan u prometu dolazi kao nadzemni deo biljke (*Thymi herba*) i list (*Thymi folium*). Danas se timijan kao lekovita sirovina dobija isključivo iz plantažne proizvodnje [4].

T. serpyllum (majčina dušica) je višegodišnja zeljasta biljka čije se zbijeno i gusto busenje sastoji od poleglih, vrlo tankih, mestimično za zemlju priraslih, crveno-mrkih izdanaka i vreža iz kojih se dižu mnogobrojni uspravni ogranci. Visoka je 20-30 cm. Stabljika je pri osnovi odrvenela, polegla i sa nje se razvijaju adventivni koreni, dok se na vrhu završava rozetom listova. Cvetne grane se razvijaju duž stabla i ravnomerno su prekrivene žlezdanim dlakama. Listovi su mali, čvrsti, kruti, jajasti i goli, sa izraženim srednjim nervom. Cvasti su loptaste, čašica je dlakava i dvousnata, dok je krunica dvousnata i uglavnom ružičasta. Cela biljka je prijatnog i vrlo aromatičnog mirisa i ukusa. Cveta od juna do oktobra, uglavnom na peskovitim mestima. Raste u spontanoj flori Severne Afrike i većine evropskih zemalja kao što su Srbija, Velika Britanija, Španija, Bugarska i zemlje skandinavskog regiona. U Srbiji je rasprostranjena u Vojvodini i na Fruškoj gori. Koristi se nadzemni deo biljke u cvetu [1]. Raste na sunčanim brežuljcima i

padinama, na posnim rubovima šuma i često na malim livadskim mravinjacima. Potrebno joj je dosta toplote i sunca, pa se zato dobro drži na kamenitim površinama, gde se iz zemlje oslobađa velika količina toplote. Sveža majčina dušica se čuva u kesicama, a osušena u kartonskim kutijama, plastičnim ili staklenim kontejnerima. Etarska ulja su lako isparljiva i njima se mora pažljivo rukovati. Čuvaju se u tamnim, staklenim bočicama zaštićena od vlage, svetlosti, visoke temperature, kiseonika i teških metala. U adekvatnim uslovima rok upotrebe je od šest meseci do dve godine [4].



Slika 1. *T. vulgaris*, timijan i *T. serpyllum*, majčina dušica
Picture 1. *T. vulgaris*, Thyme i *T. serpyllum*, Wild Thyme

Primena vrsta *T. vulgaris* i *T. serpyllum*

Lekovito bilje je važan izvor biološki aktivnih jedinjenja i koristi se za izradu velikog broja lekovitih sredstava. Uglavnom se dešava da sintetskim putem dobijene biljne komponente ne postignu iste farmakološke i fiziološke efekte na ljudski organizam kao sama lekovita biljka. Takođe, mogu se pojaviti sporedni i neželjeni efekti nakon određenog vremena. Biljke iz roda *Thymus*, *T. vulgaris* i *T. serpyllum* su poznate kako u narodnoj tako i u zvaničnoj medicini, kao lekovite biljne vrste koje se koriste za olakšavanje tegoba kod kašlja i prehlada. Njihovi tečni ekstrakti su sastavni delovi galenskih preparata sa antitusičnim efektima. Sekretolitična i antiseptična svojstva se pripisuju isparljivim fenolnim komponentama, timolu i karvakrolu. Međutim, ispitivani su i različiti hemotipovi vrste *T. vulgaris*, sa niskim sadržajem isparljivih fenola (0,0-0,1%), pa se pretpostavlja da aktivne komponente timijana mogu biti i neisparljive nepoznate supstance. Spazmolitični efekat ekstrakta timijana se može ispitivati na modelu glatkih mišića izolovanog svinjskog ileuma ili traheje. S obzirom da u ovom testu isparljivi fenoli nisu bili odgovorni za relaksaciju traheje i inhibiciju kontrakcije ileuma, postignuti efekti se pripisuju takođe prisutnim flavonoidima apigeninu, luteolinu, luteolin-7-glukozidu i luteolin-7-diglukozidu [5].

Herbal Medicinal Product Committee (HMPC) klasifikuje herbu i etarsko ulje timijana kao tradicionalni biljni lek koji se koristi kao ekspektorans kod kašlja udruženog sa prehladom. U prometu se nalazi u obliku suve droge (listovi i cvetovi), tečnih preparata (glicerolni, etanolni i vodeni ekstrakti i tinkture) i mekih i suvih ekstrakata. Farmaceutski oblici podrazumevaju tečne i čvrste dozirane oblike za oralnu upotrebu. Ne preporučuje se primena kod dece mlađe od 4 godine. Takođe, nije dokazana bezbednost primene kod trudnica i u periodu laktacije. Neželjene reakcije uključuju reakcije preosetljivosti i stomachne tegobe [6].

Timijan se koristio u narodnoj medicini u tretmanu mnogih bolesti, uključujući respiratorna oboljena (veliki kašalj, astma i bronhitis). Pripisuju mu se analgetična, antiseptična i kardiotonična svojstva, stimulacija kardiovaskularnog sistema, podsticanje sekrecije, eliminacija infekcija urinarnog trakta, prevencija ateroskleroze i redukcija holesterola. [7] Takođe, timijan poboljšava pamćenje, koristi se u tretmanu bolesti desni i zuba i inflamatornih procesa usne duplje, laringsa i traheje. Sastavni je deo pasti za zube i vodica za ispiranje usta, zbog antiseptičnog i osvežavajućeg efekta. Koristi se kao karminativ, jer ima sposobnost da sprečava fermentaciju i oslobađanje gasa, pomaže varenje i povećava apsorpciju hranljivih materija i eliminaciju bakterija, parazita i gljiva iz intestinuma. Iskustvo pokazuje da upotreba etarskog ulja timijana povećava telesnu masu zbog njegove uloge u varenju i apsorpciji masnih kiselina. Zbog antimikrobnih efekata, pre modernih antibiotika je korišćen protiv gljivica na nogama i noktima i u terapiji kašlja i bronhitisa. Kod respiratornih infekcija se koristio u obliku čajeva, masti, sirupa i pare za inhalaciju. Timijan skuvan u vodi i prohladen je vrlo efikasan kod upale grla i koristi se za grgljanje tri puta dnevno. Nakon porođaja, majkama se daje čaj timijana da bi se relasirala glatka muskulatura i poboljšalo varenje. Sposobnost smanjenja kontrakcija mišića izazvanih prostaglandinima otvara mogućnost upotrebe timijana kod sportista. Snažnu antioksidativnu aktivnost timijan duguje visokoj koncentraciji polifenolnih kiselina (kafena i rozmarinska kiselina) i flavonoidima (eridiktiole, luteolin i apigenin). [8,9] Vrsta *T. vulgaris* je čest sastojak preparata za topikalnu primenu (losioni, kremovi i masti) zbog svojih antibakterijskih i antifungalnih svojstava.

Ispitivan je efekat ekstrakata timijana na rast kancerskih ćelijskih linija miša (L₂₀B). Ekstrakti timijana su pokazali inhibitorni efekat na rast transformisanih ćelija [9].

Incidenca kardiovaskularnih oboljenja i endotelne disfunkcije je niža u oblasti Mediterana, gde je ishrana bazirana na aromatičnim biljkama, bogatim antioksidativnim polifenolima. Ekstrakti timijana povećavaju produkciju endotelnog faktora relaksacije, NO i prostaciklina, što sprečava pojavu ateroskleroze i endotelne disfunkcije [10].

Vrsta *T. serpyllum* je dugo korišćena kao tradicionalni lek zbog svojih aromatičnih, antiseptičnih, dijaforetičnih, analgetičnih, antihelmintičnih,

ekspektorantnih, spazmolitičnih, karminativnih, stimulantnih i diuretičnih svojstava. Etarsko ulje majčine dušice sadrži važne komponente, koje su moćni i dokazani antibiotici i dezinficijensi, koji podstiču imunski odgovor i borbu protiv infekcija. Može da ublaži bolove kod reumatizma, gihta i išijasa. Dekokti se koriste za podsticanje rasta kose. Biljka je dokazano efikasna kod bolesti respiratornog, digestivnog i urogenitalnog trakta. Koncentrovani dekokt u kombinaciji sa medom se koristio za ublažavanje spazama kod velikog kašlja. Ekstrakti majčine dušice pokazuju antioksidativnu, antimikrobnu, antiseptičnu, antibakterijsku i antifungalnu aktivnost [11]. Majčina dušica ima raznovrsnu primenu u medicini, farmaciji, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji, industriji alkoholnih i bezalkoholnih pića, boja i lakova. Etarsko ulje iz herbe se koristi u izradi parfema, sapuna i pasti za zube. Sadržaj etarskog ulja varira u velikoj meri od 0,1% do 1% [12]. Glavne komponente etarskog ulja *T. serpyllum* su karvakrol, borneol, izobutil acetat, kariofilen, 1,8-cineol, citral, *p*-cimen, geraniol, linalool i timol [13].

Potvrđena je primena majčine dušice u tretmanu kašlja, bronhitisa i upalnih procesa gornjih disajnih puteva. Primena koja nije potvrđena, ali se oslanja na dugogodišnju upotrebu ove biljke je upotreba kod dismenoreje, kolika, oboljenja bubrega i bešike. Može se koristiti kao stomahik, karminativ i ekspektorans. Kupke i alkoholni ekstrakti se eksterno primenjuju kod reumatskih bolova i iščašenja. U kineskoj medicini upotrebljava se kod povraćanja, dijarea, flatulencije, kašlja, zubobolja, svraba i bolova. Može se pripremati kao infuz, čaj i drugi preparati za internu primenu. Ova droga je komponenta različitih standardizovanih preparata sa antituzičnim efektom, dok su alkoholni ekstrakti sastavni delovi kapi koje se koriste kod kašlja i prehlade. Dnevna doza iznosi od 4 do 6 g droge [13].

Studija koja je obuhvatila ispitivanje sadržaja ukupnih fenola i flavonoida, antioksidativnog kapaciteta i potencijalnog antihipertenzivnog efekta vodenih ekstrakata vrste *T. serpyllum*, kod spontano hipertenzivnih i normotenzivnih pacova, pokazala je da bolus injekcija ovog ekstrakta (100 mg/kg telesne mase) smanjuje sistolni i dijastolni krvni pritisak i ukupni periferni otpor, bez uticaja na ove parametre kod normotenzivnih pacova. Dominantne fenolne komponente su bile rozmarinska i kafena kiselina, dok je FRAP metodom dokazana snažna antioksidativna aktivnost ekstrakta majčine dušice [14].

Antioksidativna i antimikrobna aktivnost vrsta *T. vulgaris* i *T. serpyllum*

Danas raste interesovanje za ekstrakte i etarska ulja lekovitih i aromatičnih biljaka, u cilju pronalaženja alternative za sintetske aditive, koji će sprečiti rast patogenih mikroorganizama u hrani i hemijske reakcije koje narušavaju kvalitet hrane. Različiti ekstrakti vrste *T. vulgaris* (heksanski, etilacetatni, hloroformski, butanolni i metanolni), nakon analize GC-MS, pokazuju visoku koncentraciju timola, *o*-timola i timol acetata. Većina komponenti iz ovih ekstrakata su biološki

aktivni molekuli i pripadaju velikoj grupi protektivnih molekula, pronađenih u biljkama, zbog čega nose naziv "fitoprotektanti" [15].

Antioksidansi su komponente koje mogu da odlažu ili sprečavaju oksidaciju lipida i drugih molekula, inhibirajući inicijaciju ili propagaciju lančanih reakcija oksidacije. Antioksidativni potencijal fenolne komponente dužuju svojim redukujućim svojstvima, što im omogućava važnu ulogu u adsorpciji i neutralizaciji slobodnih radikala. Postoje dve osnovne kategorije antioksidanasa, prirodni i sintetski. Pritisak potrošača i težnja proizvođača da se kancerogeni sintetski aditivi hrane zamene prirodnim, otvaraju put biljnim ekstraktima i etarskim uljima u prehrambenu industriju. Tipični fenoli koji poseduju antioksidativnu aktivnost su dobro poznate fenolne kiseline i flavonoidi. Fenolne kiseline su priznate kao prirodni antioksidansi u voću, povrću i drugim biljkama. Kafena, ferulinska i vanilinska kiselina su široko rasprostranjene u carstvu biljaka. Kafena kiselina ima visoku aktivnost uporedivu sa flavonoidom kvercetinom. Najrasprostranjeniji i najrazličitiji fenoli jesu flavonoidi koji imaju isti C_{15} ($C_6-C_3-C_6$) skelet i poseduju antioksidativni kapacitet prema oksidujućim supstancama. U mnogim biljkama, glavne flavonoidne komponente su flavonoidni aglikoni poput kvercetina, miricetina, kemferola i njihovi glikozidi. Generalno, flavonoidi koji sadrže više hidroksilnih grupa poseduju višu antioksidativnu aktivnost prema peroksidnim radikalima nego fenolne kiseline. Antioksidativna aktivnost flavonoida raste sa povećanjem broja hidroksilnih grupa supstituisanih u prstenu B, posebno na C-3'. Studija u kojoj je korišćena ORAC metoda (Oxygen Radical Absorbance Capacity) je pokazala da herba timijana poseduje visok antioksidativni kapacitet. Takođe, neki metilovani flavonoidi su izolovani iz timijana kao antioksidansi. Etarsko ulje timijana sadrži kao glavne komponente timol i karvakrol, koji su priznati kao jedinjenja sa snažnom antioksidativnom i antimikrobnom aktivnošću. Takođe, bifenilna komponenta, 3,4,3',4'-tetrahidroksi-5,5'-diizopropil-2,2'-dimetilbifenil i flavonoid eridiktiol su takođe izolovani iz timijana i potencijalni su inhibitori superoksidnog anjona, produkovanog u ksantin/ksantin oksidaza sistemu i mitohondrijalnoj i mikrozomalnoj lipidnoj peroksidaciji. Bifenili, dimeri timola i flavonoidi izolovani iz timijana pokazuju antioksidativnu aktivnost snažnu poput aktivnosti BHT (butilhidroksitoluen) [16]. Fenolni hemotipovi vrste *T. vulgaris* imaju snažniji antioksidativni potencijal nego nefenolni. Oksidativni procesi u biološkim sistemima su kompleksni i uključuju različite supstance i reakcije, pa je za potpunu sliku antioksidativnog kapaciteta neophodno koristiti više testova za ispitivanje antioksidativne aktivnosti (DPPH, ABTS, FRAP, TBARS, itd) [17].

Studija koja se bavila ispitivanjem antioksidativne aktivnosti vrsta *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris* i *Urtica dioica* upotrebom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazila (DPPH), 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)-a (ABTS) i inhibicijom nitrovanja tirozina je pokazala da timijan ima najsnažniji efekat neutralizacije

slobodnih radikala. Alkoholni ekstrakti timijana su značajan izvor prirodnih antioksidanasa. Studija u kojoj se ispitivao uticaj ovih ekstrakata na stabilnost masti i ulja, bez dodataka industrijskih aditiva, pokazala je da nije došlo do fizičkih i senzornih promena u boji, mirisu i ukusu ni u toku godinu dana. S druge strane, ovi ekstrakti sadrže flavonoide, isparljiva fenolna jedinjenja i etarska ulja što im omogućava jednako dobru funkciju u poboljšanju arome. Koristi se najniža koncentracija od 100 mg/kg (dozvoljena stopa na globalnom nivou), u pređenju sa sintetskim antioksidansima, čija je koncentracija porasla na 200 mg/kg. Pored toga ne intereaguju sa komponentama hrane i ambalaže, netoksični su, prirodni, lako se uvode i homogenizuju u namirnicama. Takođe i zbog antibakterijske, antitumorske i antioksidativne aktivnosti idealna su alternativa sintetskim aditivima [18].

Glavne komponente etarskog ulja i ekstrakata vrste *T. vulgaris*, posebno eugenol, timol i karvakrol imaju jaču antioksidativnu aktivnost od sintetskih antioksidanasa, poput BHT i α -tokoferola [19]. Etarsko ulje timijana pokazuje bolju antioksidativnu aktivnost u usporavanju lipidne peroksidacije ulja žutog noćurka od askorbilpalmitata i sličnu aktivnost kao α -tokoferol [20].

Fenolni monoterpenoidi, timol i karvakrol prisutni u etarskom ulju vrste *T. serpyllum* najviše doprinose prijatnom mirisu, inhibiraju lipidnu peroksidaciju i ispoljavaju snažno antimikrobno dejstvo na različite vrste mikroorganizama. Antioksidativna aktivnost etarskog ulja majčine dušice može se odrediti primenom DPPH metode i njegovom sposobnošću da neutrališe slobodan radikal DPPH. Nakon dobijenih IC_{50} vrednosti (koncentracija koja neutrališe 50% slobodnog DPPH radikala) zaključeno je da etarsko ulje majčine dušice ispoljava značajno bolju aktivnost u odnosu na sintetske antioksidanse BHA (butilhidroksianizol) i BHT. Antioksidativna aktivnost se ne može pripisati samo dominantnim komponentama timolu i karvakrolu, već sinergizmu većeg broja komponenti prisutnih u etarskom ulju *T. serpyllum*, u manjim količinama (*trans*-nerolidol, germakren D, δ -kadinen i β -bisabolen). Ovo etarsko ulje bi tako moglo biti sastavni deo dijetetskih preparata koji se koriste za sprečavanje ili usporavanje oksidativnog stresa uzrokovanog slobodnim radikalima ili kao prirodni antioksidans u prehrambenoj industriji umesto BHA i BHT. Sastav i antioksidativna aktivnost etarskih ulja roda *Thymus* zavisi od različitih faktora poput načina gajenja ili sakupljanja, kvaliteta obrađene biljne sirovine, geografskog porekla, klimatskih uslova, postupaka obrade i optimizacije tehnoloških postupaka dobijanja (destilacija, ekstrakcija) [12, 21].

Vodeni ekstrakti origana, timijana i majčine dušice, nakon analize antioksidativne aktivnosti pomoću metoda DPPH, TBARS i β -karoten neutralizacije, pokazali su se kao dobar izvor komponenti sa značajnim antioksidativnim kapacitetom [22].

Timol, flavonoidi, tanini i neke fenolne komponente biološki utiču na rast bakterijskih vrsta ostvaruju preko hidroksilnih grupa. Hidroksilne grupe ovih

komponenti ostvaruju veze sa molekulima vode bakterijskih ćelija i na taj način onemogućavaju dinamičke procese u bakterijskim ćelijama. Takođe, fenolne komponente koagulišu proteine bakterijske ćelije i inaktiviraju enzime uključene u sintezu aminokiselina neophodnih za rast bakterija [9,23].

Pojavom visoke prevalencije rezistencije bakterija na antibiotike raste interes za etarskim uljima. U mnogim studijama su etarska ulja timijana pokazala dobra antimikrobna svojstva, ali i kombinacije sa drugim etarskim uljima imaju svoje prednosti: sinergistični ili aditivni efekat i smanjenje toksičnosti i neželjenih reakcija. Visoku antimikrobnu aktivnost ispitivanu agar-difuzionom metodom prema bakterijama *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* pokazuje etarsko ulje timijana i njegove kombinacije sa etarskim uljima omorike, kleke i cimeta. Najbolji sinergistični efekat je pokazala kombinacija etarskih ulja timijana i cimeta, dok je kod druge dve kombinacije bio aditivni efekat. Komponente fenolne strukture poput timola, karvakrola i eugenola poseduju visoku antimikrobnu aktivnost, dokazanu u mnogim studijama. Hidroksilne grupe eugenola intereaguju sa proteinima i inhibiraju enzime, dok hidrofobni timol i karvakrol oštećuju membranu Gram-negativnih bakterijskih ćelija, bogatu lipopolisaharidima. Cimetaldehid ima sposobnost da ometa energetski metabolizam, razara ćelijsku membranu i ometa rad protonskih pumpi bakterijske ćelije [24,25]. Karvakrol etarskog ulja timijana i eugenol etarskog ulja cimeta pokazuju sinergistični efekat protiv Gram-pozitivne bakterije *Listeria monocytogenes* [26]. Timol i cimen, prisutni u različitim etarskim uljima sinergistično deluju na *Bacillus cereus*, zahvaljujući sličnoj strukturi. Kao hidrofobne komponente ugrađuju se u citoplazmatsku membranu i ometaju njeno funkcionisanje [27].

Gram-pozitivne bakterije su više osetljive na biljne ekstrakte nego Gram-negativne bakterije. Ekstrakt vrste *T. vulgaris* pokazuje blagu antimikrobnu aktivnost prema vrstama bakterija *E. coli* i *L. monocytogenes*, dok su *Salmonella enteridis*, *S. aureus* i *B. cereus* rezistentne. Studije pokazuju da većina biljnih ekstrakata nije sposobna da inhibira rast *S. enteridis*. Relativno nizak stepen inhibicije rasta mikroorganizama može se pripisati neuniformnoj difuziji antimikrobnih agenasa kroz agar, što se može ispitati primenom alternativnih metoda. Ispitivan je uticaj etarskog ulja timijana na Gram-negativne bakterije (*E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Salmonella choleraesuis*), Gram-pozitivne bakterije (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* i *Enterococcus faecalis*), plesni (*Penicillium islandicum* i *Aspergillus flavus*) i gljivicu (*Candida albicans*). Od testiranih komponenti timol i karvakrol pokazuju najjaču antimikrobnu aktivnost. Postignut je sledeći procenat inhibicije rasta mikroorganizama izazvan timolom: *S. choleraesuis* 56%, *L. monocytogenes* 80%, *A. flavus* 67% i *C. albicans* 100%, dok je procenat inhibicije izazvan karvakrolom bio kod *S. choleraesuis* 46%, *L. monocytogenes* 58%, *A. flavus* 89% i *C. albicans* 100%. Timol i karvakrol daju slične rezultate, ali pozicija hidroksilne grupe

pokazuje uticaj na aktivnost ovih komponenti protiv Gram-negativnih bakterija. Monoterpeni ciklični ugljovodonik *p*-cimen, koji je prekursor timola i karvakrola, ne pokazuje antimikrobnu aktivnost, što ukazuje na to da je prisustvo fenolnog prstena neophodno za ispoljavanje ove aktivnosti. Pokazana slaba aktivnost etarskog ulja timijana leži u niskom sadržaju timola, jer je on najodgovorniji za antimikrobnu aktivnost ovog etarskog ulja. Radi provjere mogućih interakcija etarsko ulje timijana je obogaćeno timolom. Sinergistični efekat je primećen kod bakterija *L. monocytogenes*, *S. choleraesuis* i *A. flavus*. U svim ostalim slučajevima ova kombinacija je imala aditivni efekat. To je pravi pokazatelj da antimikrobna aktivnost etarskog ulja timijana snažno zavisi od koncentracije timola. Etarsko ulje origana u poređenju sa etarskim uljima cimeta i timijana ispoljava antimikrobnu aktivnost pri nižim MIC (minimalna inhibitorna koncentracija), pogotovo prema vrlo rezistentnim sojevima Gram-negativnih bakterija (*E. coli* MIC za origano 17,5 µL/L, a MIC za timijan 52,4 µL/L). Nema statistički značajne razlike između vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracija timola, karvakrola i cimetaldihida za bakterije *L. monocytogenes* (MIC 21,8 µL/L) i *S. choleraesuis* (MIC 4-10,9 µL/L), dok za bakteriju *A. flavus* karvakrol i cimetaldihid pokazuju veću inhibiciju (MIC 21,8 µL/L) u odnosu na timol (MIC 43,6 µL/L) [28].

Leishmania predstavlja parazitaru bolest koju karakterišu kutane, mukokutane i viscerarne manifestacije. Različite komponente poput terpena, kvinona, iridoida i analoga indola pokazuju aktivnost protiv parazita u *in vitro* uslovima. Navedene komponente se mogu naći u vrstama *T. vulgaris* i *Achillea millefolium* (hajdučka trava). Ove komponente inteziraju sa molekulom DNK i uključuju se u metabolizam aromatičnih aminokiselina u parazitima. Kombinacija ovih ekstrakata može da bude visoko efikasna u borbi protiv parazita koji izazivaju kutanu lajšmaniju [29].

Etarsko ulje vrste *T. serpyllum* i njegove fenolne komponente inhibiraju rast i produkciju mikotoksina *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* i *A. niger* za 60%. Inhibitorna aktivnost zavisi od uslova i dužine inkubacije. Etarsko ulje je pokazalo snažniji inhibitorni uticaj, zahvaljujući sinergističnim i kumulativnim efektima komponenta etarskog ulja [30].

U studiji koja je ispitala uticaj etarskih ulja origana, timijana i majčine dušice na rast bakterija *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. aureus* i *E. faecalis*, etarsko ulje origana je pokazalo najveću antimikrobnu aktivnost, dok je etarsko ulje majčine dušice najmanje inhibiralo rast ovih mikroorganizama [31]. Etarsko ulje majčine dušice pokazuje baktericidni, a ne bakteriostatični efekat na bakterije *E. coli*, *Salmonella typhae*, *Shigella flexneri*, *Bacillus magisterium*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus albus*, *S. aureus* i *Vibrio cholera* [32].

ZAKLJUČAK

T. vulgaris predstavlja višegodišnju polužbunastu biljku, prekrivenu žlezdanim trihomama u kojima se sintetiše i skladišti etarsko ulje. Cvetovi su beli do beloružičasti i čine izduženu cvast. Listovi su sitni, naspramno raspoređeni i na naličju dlakavi. Poreklom je iz Sredozemlja, ali se danas, radi dobijanja lekovite sirovine, uglavnom plantažno gaji. *T. serpyllum* je višegodišnja zeljasta biljka, vrlo aromatičnog mirisa i ukusa. Cvetovi su ružičasti i formiraju loptastu cvast. Listovi su mali, jajasti, goli i sa izraženim srednjim nervom. Raste u spontanoj flori Severne Afrike i većine evropskih zemalja. Herbal Medicinal Product Committee (HMPC) klasifikuje herbu i etarsko ulje timijana kao tradicionalni biljni lek koji se koristi kao ekspektorans kod kašlja udruženog sa prehladom. Pripisuju mu se antimikrobna, antioksidativna, analgetična, spazmolitična, ekspektorantna i kardiotonična svojstva. Snažnu antioksidativnu aktivnost timijan duguje visokoj koncentraciji polifenolnih kiselina (kafena i rozmarinska kiselina) i flavonoidima (eridiktol, luteolin i apigenin). Vrsta *T. serpyllum* je dugo korišćena kao tradicionalni lek zbog svojih aromatičnih, antiseptičnih, dijaforetičnih, analgetičnih, antihelmintičnih, ekspektorantnih, spazmolitičnih, karminativnih, stimulantnih i diuretičnih svojstava. Potvrđena primena majčine dušice je u tretmanu kašlja, bronhitisa i upalnih procesa gornjih disajnih puteva. Različitost i kompleksnost prirodnih kombinacija polifenola u različitim biljkama otežava karakterizaciju svake komponente i procenu ili upoređivanje njihovih antioksidativnih, antimikrobnih i drugih aktivnosti. Svaka biljka poseduje različite fenolne komponente i svaka od tih komponenti poseduje različit antioksidativni i antimikrobni kapacitet. Studije najčešće pokazuju pozitivnu korelaciju između sadržaja fenola i antioksidativne aktivnosti. Kombinacije etarskih ulja omogućavaju efikasan i ekonomski opravdan pristup u borbi protiv bakterija rezistentnih na postojeće antibiotike. Međutim, kombinacije različitih etarskih ulja nisu dovoljno istražene, za razliku od kombinacija antibiotika. Buduće studije bi mogle biti usmerene na ispitivanje efekata kombinacija etarskih ulja protiv multirezistentnih bakterija, kao i na ispitivanje efekata komponenti etarskih ulja prisutnih u nižim koncentracijama. Dugogodišnja tradicionalna primena aromatičnih i lekovitih biljaka, pritisak potrošača da se toksični i kancerogeni sintetski aditivi u hrani, piću, lekovitim i kozmetičkim proizvodima zamene prirodnim supstancama, kao i pojava multirezistentnih sojeva mikroorganizama povećavaju interes za istraživanjem datih biljnih vrsta, što će omogućiti njihovu širu primenu u medicini, prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

ZAHVALNICA

Ovaj rad predstavlja rezultat projekata III46013 i III46010 finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

1. R. Jančić (2005): Botanika farmaceutika, Službeni list SRJ, Beograd.
2. B. L. X. Shu (1994): Thymus Linnaeus, Flora of China, Vol. 17, 233-236.
3. M. Gorunović, P. Lukić (2001): Farmakognozija, Zavod za grafičku tehniku TMF-a, Beograd.
4. B. Stepanović, D. Radanović (2011): Tehnologija gajenja lekovitog i aromatičnog bilja u Srbiji, Ton Plus, Beograd.
5. N. Margaris, A. Koedam, D. Vokou (1982): Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects, Martinus Nihoff Publishers, The Hague/Boston/London, 13: 271.
6. Community herbal monograph on *Thymus vulgaris* L. and *Thymus zygis* L., herba, European Medicines Agency *Evaluation of Medicines for Human Use* London (2007), Doc. Ref. EMEA/HMPC/234113/2006
7. S. Hashim and M. Gamil (1988): Plants and herbs between the Iraqi folk medicine and scientific research, Dar revolution of Press and Publication, Baghdad.
8. A. M. Rizk (1986): The Phyto Chemistry of Flora of Qatar, King Print Of Richmond , Great Britian.
9. N. K. Fayad, O. H. Obaidi, T. H. Noor, M. O. Ezzat (2013): Water and alcohol extraction of Thyme plant (*Thymus vulgaris*) and activity study against bacteria, tumors and used as anti-oxidant in margarine manufacture, *Innovative Systems Design and Engineering*, vol.4, No.1, 41-51.
10. S. Grande, P. Bogani, A. Saizieu, G. Schueler, C. Galli, F. Visioli (2004): Vasomodulating potential of Nediterranean wild plant extracts, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52: 5021-5026.
11. S. Aziz, H. Rehman (2008): Studies on the chemical constituents of *Thymus serpyllum*, *Turk. J. Chem*, 32: 605-614.
12. S. Petrović, M. Ristić, N. Babović, M. Lazić, M. Francišković, S. Petrović (2013): Hemijski sastav i antioksidativna aktivnost etarskog ulja *Thymus serpyllum* L., *Hemijska industrija*, Beograd.
13. PDR for Herbal Medicines/Wild Thyme (2004), Thompson PDR 3th Edition, Montvale, NJ, 882.
14. N. Mihailović-Stanojević, A. Belščak-Cvitanović, J. Grujić-Milanović, M. Ivanov, D. Jovović, D. Bugarski, Z. Miloradović (2013): Antioxidant and antihypertensive activity of extract from *Thymus serpyllum* L. in experimental hypertension, *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 68(3): 235-240.
15. L. S. Al Hashmi, M. A. Hossain, A. M. Weli, Q. Al-Riyami, J. N. Al-Sabahi (2013): Gas chromatography-mass spectrometry analysis of different organic crude extracts from the local medicinal plant of *Thymus vulgaris*, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 3(1): 69-73.

16. W. Zheng, S. Y. Wang (2001): Antioxidant activity and phenolic compounds in select herbs, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49: 5165-5170.
17. R. Chizzola, H. Michitsch, C. Franz (2008): Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: Comparison of different extracts and essential oils chemotypes, *J. Agric. Food Chem.* vol.56(16): 6897-6904.
18. K. Miura, H. Kikuzaki, N. Nakatani (2002): Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method, *J. Agric. Food Chem.* vol.50: 1845-1851.
19. S. J. Lee, K. Umamo, T. Shibamoto, K. G. Lee (2005): Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties, *Food Chem.*, vol. 91: 131-137.
20. K. A. Youdim, H. J. D. Dormanand, S. G. Deans (1999): The antioxidant effectiveness of thyme oil, α -tocopherol and ascorbyl palmitate on evening primrose oil oxidation. *J. Essent. Oil Res.*, vol.11: 643-648.
21. T. Kulisić, A. Radonić, M. Miloš (2005): Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils, *Ital. J. Food Sci.* vol. 3: 315-324.
22. T. Kulisić, V. Uzelac, M. Miloš (2006): Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme, *Food Technol. Biotechnol.* vol. 44 (4): 485-492.
23. G. Allan (1999): An illustrated colour text clinical biochemistry, UK, 106-114.
24. M. Soković, J. Glamočlija, P. D. Marin, D. Brkić, L.J.L.D. van Griensven (2010): Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs an in vitro model, *Molecules*, vol. 15(11): 7532-7546.
25. J. Gomez, A. Lopez, M. Lopez, M. Gomez, P. Montero (2010): Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation, *Food Microbiol.* vol. 27 (7): 889-896.
26. I. Bassole, A. Lamien-Meda, B. Bayala, S. Tirogo, C. Franz, J. Novak, R. Nebie, M. Dicko (2010): Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimumbasilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination, *Molecules*, vol. 15(11): 7825-7839.
27. B. Delgado, P. Fernandez, A. Palop, P. Periago (2004): Effect of thymol and cimen on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions, *Food Microbiol.* vol. 21 (3): 327-334.
28. P. Lopez, C. Sanchez, R. Battle, C. Neri (2007): Vapor-phase activities of cinnamon, t, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms, *J. Agric. Food Chem.* vol. 55: 4348-4356.
29. M. A. Nilforoushzadeh, L. Shirani, A. Zolfaghari, S. Saberi, A. H. Siadat, M. Mahmoudi (2008): Comparison of *Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium* and

- propolis hydroalcoholic extracts versus systemic glucantime in the treatment of cutaneous leishmaniasis in balb/c mice, *J. Vector Borne Dis.*, vol. 45, 301-306.
30. D. Mihalak, J. Frece, A. Slavica, F. Delaš, H. Pavlović, K. Markov (2013): The effects of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oil components against ochratoxin-producing *Aspergilli*, *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, vol. 63(4), 457–462.
 31. J. Lević, I. Čabarkapa, G. Todorović, S. Pavkov, S. Sredanović, T. Galonja, Lj. Kostadinović (2011): *In vitro* antibacterial activity of essential oils from plant family *Lamiaceae*, *Romanian Biotechnological Letters*, vol. 16(1), 6034-6041.
 32. A. M. Ahmad, I. Khokhar, I. Ahmad, M. A. Kashmiri, A. Adnan, M. Ahmad (2006): Study of antimicrobial activity and composition by GC/MS spectroscopic analysis of the essential oil of *Thymus serpyllum*, *Internet Journal of Food Safety*, vol. 5, 56-60.

**BIOLOGICAL ACTIVITY AND ETHNOMEDICINAL USE OF
Thymus vulgaris AND *Thymus serpyllum***

Aleksandra Čančarević¹, Branko Bugarski², Katarina Šavikin³, Gordana Zdunić³

¹ Innovation center, Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, 11000 Belgrade, Republic of Serbia

² Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, 11000 Belgrade, Republic of Serbia

³ Institute for Medicinal Plants Research „Dr Josif Pančić”, Tadeuša Koščuška 1, 11000 Belgrade, Republic of Serbia

SUMMARY

The *Lamiaceae* family, which contains about 200 genus and 3000 species, has a cosmopolitan distribution. Plants of this family are rich in essential oils and phenol compounds. *Thymus vulgaris* (Thyme) is perennial, subshrub plant which belongs to family of Labiales. Calyx and corolla are covered by dense gleaming glands that radiate essential oil. Leaves or herba, and essential oils are used. *Thymus serpyllum* (Wild Thyme) is perennial, herbaceous plant. Leaves are evergreen, small and oval. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) classifies thyme herba and essential oil as a traditional herbal medicine used as expectorant in cough associated with cold. It is used in folk medicine to treat many diseases, including respiratory disease (cough pertussis, bronchitis and asthma), and has analgesic properties. Wild Thyme is approved for use in treatment of cough and bronchitis. It is unproven to treat kidney and bladder disorders. It is also used internally for dysmenorrhea, colic-like pain, and whooping cough. Thymol and carvacrol from essential oils of Thyme and Wild Thyme inhibit lipid peroxidation and manifest strong antimicrobial activity against different kinds of microorganisms. All the aromatic and medicinal plants available worldwide have been used for their preservative and medicinal values. Polyphenolic phytochemicals in traditionally used medicinal plants act as powerful antioxidants, which aroused an increasing interest in their application in functional food development. Recently, there has been growing considerable interest in extracts and essential oils of aromatic plants for the development of alternative food additives, in order to prevent the growth of food-borne pathogens or to delay the onset of food spoilage.

Key words: *Lamiaceae*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, antioxidants, antimicrobial activity, polyphenols, flavonoids.